



Búsqueda de Mutaciones/Targets en la vía de MAPK implicada en varios tipos de cáncer

Sara Cayón Cruz

Máster Bioinformática y Bioestadística
Biología Molecular y Estructural

Ivette Olivares Castiñeira
Carles Ventura Royo

Junio 2017



Esta obra está sujeta a una licencia de Reconocimiento-NoComercial-SinObraDerivada [3.0 España de Creative Commons](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/3.0/es/)

Título del trabajo:	<i>Búsqueda de Mutaciones/Targets en la vía de MAPK implicada en varios tipos de cáncer</i>
Nombre del autor:	<i>Sara Cayón Cruz</i>
Nombre del consultor/a:	<i>Ivette Olivares Castiñeira</i>
Nombre del PRA:	<i>Carles Ventura Royo</i>
Fecha de entrega (mm/aaaa):	06/2017
Titulación:	<i>Máster Bioinformática y Bioestadística</i>
Área del Trabajo Final:	<i>Biología Molecular y Estructural</i>
Idioma del trabajo:	<i>Español</i>
Palabras clave	<i>Targets, MAPK, Cáncer, Dianas terapéuticas, Terapias dirigidas, Angiogénesis</i>

Resumen

El proyecto *Búsqueda de Mutaciones/Targets en la vía de MAPK implicada en varios tipos de cáncer* se enmarca dentro del campo de la investigación biológica.

El cáncer es una enfermedad causada por la acumulación de alteraciones en genes que son esenciales para el control del crecimiento y la división celular.

La lucha contra esta enfermedad es uno de los principales problemas a los que se enfrenta la sociedad actual y el desarrollo de nuevas modalidades de tratamiento, así como la mejora de los ya existentes, es uno de los retos de la comunidad científica.

Este trabajo se centra en la búsqueda de dianas terapéuticas para poder diseñar terapias dirigidas para combatir tipos específicos de células cancerígenas, causando menor daño en las células sanas.

El descubrimiento de este tipo de terapias ha supuesto grandes avances, aunque todavía queda mucho camino por recorrer.

Las terapias dirigidas tienen todavía limitaciones, pero aun así son más sus ventajas que sus inconvenientes.

En concreto nos centraremos en un tipo de cáncer, el cáncer de colon, y estudiaremos cuáles son los factores de riesgos y los tratamientos actuales para esta enfermedad.

Abstract

The Project "*Seeking (o In search of) mutations and targets in MAPK pathway involved in several types of cancer*" is only a part of the wide field in biological cancer research.

Cancer is a group of diseases caused for the accumulation of gene alterations which are essential for controlling growth and cell division.

Nowadays, the fight against cancer is one of the main problems that society has to deal with it. The development of new treatment modalities and the improvement of the current ones, are the major challenges of the scientific community.

The present work focuses on the search for therapeutic targets, which are able to design targeted therapies to combat only the cancer cells and being less harmful to the healthy ones.

The discovery of these types of therapies has made great advances, although there is still a long way to go.

Targeted therapies still have limitations, but there are more advantages than drawbacks.

Finally, in this work, we will focus our study on colon cancer, studying which are the risk factors and the current treatments for this disease.

Índice

I. Introducción.....	1
I.1 Contexto y justificación del Trabajo.....	1
I.2 Objetivos del Trabajo	2
I.3 Enfoque y método seguido	3
I.4 Planificación del Trabajo	4
I.5 Introducción y resumen de los capítulos	5
1. Estudio de la vía afectada de MAPK y su implicación biológica	6
1.1 Cascadas y redes de señalización celular	6
1.1.1 La vía MAPK.....	8
1.1.2 Las proteínas RAS	10
1.1.3 Implicación de la ruta RAS/ERK en la carcinogénesis	11
1.2. Inhibidores de la ruta RAS-MAPK.....	12
1.2.1 Inhibidores de RAS	12
1.2.2 Inhibidores de RAF	14
1.2.3 Inhibidores de MEK	15
1.2.4 Inhibidores de ERK	18
2. Búsqueda de dianas terapéuticas para los diferentes tipos de cáncer.....	19
2.1 Tratamientos contra el cáncer:	20
2.1.1 Terapias dirigidas contra el cáncer	20
2.1.1.1 Acciones de las terapias dirigidas contra el cáncer.....	21
2.1.1.2 La quimioterapia convencional frente a las terapias dirigidas	21
2.1.1.3 Tratamientos citotóxicos y tratamientos citostáticos.....	22
2.1.1.4 Efectos secundarios de las terapias dirigidas.....	23
2.1.1.5 Las limitaciones de las terapias dirigidas contra el cáncer	23
2.2 Dianas terapéuticas.....	24
2.2.1 Identificar dianas terapéuticas.....	24
2.2.2 Producción de dianas para el desarrollo de fármacos.....	26

2.2.3 Tipos de dianas terapéuticas	26
3. Caso particular: Dianas terapéuticas para el cáncer de colon	28
3.1 Factores de riesgo del cáncer de colorrectal	29
3.2 Dianas terapéuticas	30
3.2.1 Receptores del factor de crecimiento epidérmico (EGFR).....	30
3.2.1.1 Anticuerpos anti-EGFR	32
3.2.1.2 Inhibidores de la actividad tirosín quinasa.....	34
3.2.2 Receptores del factor de crecimiento endotelial vascular	34
3.2.2.1 Proceso de angiogénesis	34
3.2.2.2 Inhibidores de la angiogénesis en el tratamiento del cáncer	35
3.2.2.3 Otros fármacos antiangiogénicos.....	36
3.2.3 COX-2.....	37
3.2.4 Quinasa.....	38
3.3 Nuevas dianas terapéuticas para el cáncer colorrectal	38
4. Estudios de cohortes: Cáncer colorrectal	40
4.1 Hábitos de vida y cáncer colorrectal	40
4.1.1 Objetivos	41
4.1.2 Métodos	41
4.1.3 Resultados	41
4.2 Estudio de cohortes.....	42
4.2.1 Definición y selección de casos	42
4.2.2 Definición y selección de controles.....	42
4.2.3 Variables del estudio	42
4.2.1 El análisis estadístico	44
4.2.2 Resultados y discusión	44
4.2.2.1 Modelo teórico de causalidad	48
4.2.2.2 Conclusiones.....	48
5. Conclusiones	53
6. Glosario.....	55
7. Bibliografía.....	57

Lista de figuras

Figura 1 - Transducción de señales	7
Figura 2 - Cascada RAF-MEK-ERK	9
Figura 3 - Quimioterapia clásica y nueva quimioterapia	23
Figura 4 – Dominios del EFGR.....	31
Figura 5 - Anticuerpos monoclonales: Cetuximab y panitumumab	33
Figura 6 - Modelo de causalidad para el desarrollo de cáncer colorrectal	43

I. Introducción

I.1 Contexto y justificación del Trabajo

En los últimos años la salud la medicina y la sanidad han avanzado de manera extraordinaria de la mano de la ciencia y la tecnología.

Gracias a estos avances la mortalidad de la población ha sufrido un descenso considerable. Tomando como referencia 1950, se ha pasado de una media de esperanza de vida en los hombres de 60 años a casi 80 en 2011 y de 65 a 85 en las mujeres.

Esto también es debido a la revolución tecnológica que con sus nuevas herramientas diagnosticadas ha posibilitado la detección temprana, prevención y curación de muchas enfermedades.

El cáncer es una de las primeras causas de muerte a nivel mundial, principalmente en el Primer Mundo.

Solo en España en 2015 hubo 303.809 nuevos casos de cáncer y 110.491 muertes en total, de las cuales 44.877 se debieron a los tres con más tasa de mortalidad en nuestro país: pulmón, colorrectal y mama.

Gracias a los avances científicos se han obtenido tratamientos con los cuales se ha conseguido que cada vez sea mayor el número de personas que superan el cáncer o viven con la enfermedad controlada.

Debemos de incidir en el papel importante que juega la investigación para poder prevenir, detectar a tiempo y encontrar tratamientos más eficaces para esta enfermedad

El proyecto *Búsqueda de Mutaciones/Targets en la vía de MAPK implicada en varios tipos de cáncer* se enmarca dentro del campo de la investigación biológica

En general, el tratamiento que se aplica hoy en día a la mayoría de los tipos de cáncer incluye el uso de la cirugía y en ciertas ocasiones de la radioterapia, quimioterapia y hormonoterapia.

El estudio de las causas de cáncer ayuda a los investigadores a entender el proceso de la carcinogénesis y puede conducir a métodos nuevos de prevenir y curar la enfermedad.

Actualmente se están investigando unas 200 posibles terapias dirigidas.

Las terapias dirigidas contra el cáncer son fármacos u otras sustancias que bloquean el crecimiento y la diseminación del cáncer

I.2 Objetivos del Trabajo

Objetivos Generales

- 1- Estudio de la vía afectada de MAPK y su implicación biológica
- 2- Búsqueda de dianas terapéuticas para los diferentes tipos de cáncer

Objetivos específicos

- 1- Estudio de la vía afectada de MAPK y su implicación biológica
 - Las proteínas RAS y ruta ERK
 - Implicación de la ruta RAS/ERK en la carcinogénesis
 - Desarrollo de inhibidores contra la ruta de señalización MAPK
- 2- Búsqueda de dianas terapéuticas para los diferentes tipos de cáncer
 - Identificar componentes susceptibles de ser utilizados como dianas terapéuticas
 - Caso particular: dianas terapéuticas contra el cáncer de colon

I.3 Enfoque y método seguido

El objetivo principal de este proyecto es el estudio de dianas terapéuticas para la enfermedad del cáncer.

Una diana terapéutica es una molécula o proteína con una forma específica sobre la que el fármaco actúa.

Se trata de un proyecto enfocado a la investigación médica y al desarrollo de nuevas herramientas y tecnologías sanitarias para la búsqueda de dianas terapéuticas.

La investigación en la cura y prevención del cáncer se está orientando cada vez más a personalizar los tratamientos.

Cada cáncer es diferente, puesto que las alteraciones genéticas que lo caracterizan son propias de cada tipo de tumor.

La identificación de estas alteraciones permite evaluar mejor el pronóstico de la enfermedad y ayuda a predecir la respuesta a determinados fármacos.

El desarrollo en los últimos años de fármacos dirigidos contra alteraciones genéticas o moleculares está convirtiendo a estas alteraciones en dianas terapéuticas o marcadores predictivos de respuesta.

El estudio de dianas terapéuticas se hace imprescindible para decidir el tratamiento de los pacientes con cáncer, ya que permite el diseño de terapias personalizadas es decir tratamientos dirigidos contra las alteraciones genéticas o moleculares específicas del tumor.

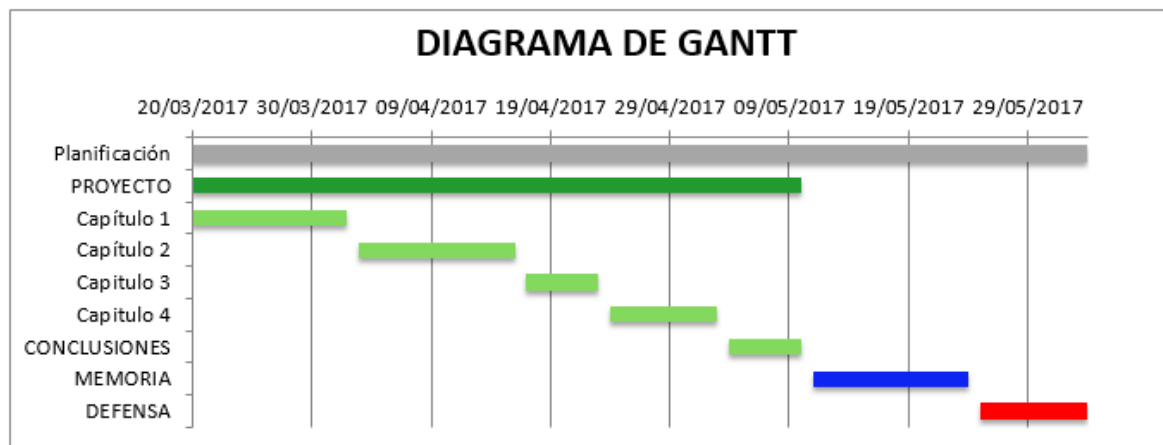
La ventaja de este tratamiento frente a la quimioterapia es que las células sanas no se ven afectadas por este bloqueo y pueden seguir cumpliendo su función, por lo que se reducen considerablemente los efectos tóxicos.

Gracias al cada vez mayor conocimiento de los receptores celulares podemos tratar un mayor abanico de tumores con terapias dirigidas.

I.4 Planificación del Trabajo

Se realizó la siguiente planificación para la realización del TFM

	Fecha inicio	Fecha final	Duración
PLANIFICACION TOTAL	20/03/2017	03/06/2017	75
REALIZACION DEL TFM	20/03/2017	11/05/2017	52
Capítulo 1	20/03/2017	03/04/2017	14
Capítulo 2	03/04/2017	17/04/2017	14
Capítulo 3	17/04/2017	24/04/2017	7
Capítulo 4	24/04/2017	04/05/2017	10
CONCLUSIONES	04/05/2017	11/05/2017	7
REALIZACIÓN DE LA MEMORIA	11/05/2017	25/05/2017	14
PREPARACIÓN DE LA DEFENSA	25/05/2017	03/06/2017	9



I.5 Introducción y resumen de los capítulos

Este proyecto se ha estructurado en 4 capítulos, los cuales se detallan a continuación.

El primer capítulo hace referencia a la vía de señalización MAPK y las proteínas RAS. Se estudiarán las cascadas y redes de señalización celular, en concreto la ruta RAS/ERK y como ésta afecta a la carcinogénesis.

Se buscarán inhibidores contra la ruta de señalización MAPK (inhibidores RAS, inhibidores RAF, inhibidores MEK y los inhibidores ERK).

En el segundo capítulo se introduce el concepto de diana terapéutica, cómo identificarlas, cómo son las nuevas terapias dirigidas contra el cáncer, y sus ventajas e inconvenientes frente a los tratamientos convencionales.

En el tercer capítulo se estudiarán las dianas terapéuticas para un tipo de cáncer en concreto (cáncer colorrectal).

Y por último el cuarto capítulo se centra en un estudio de cohortes de la universidad de Nariño (Colombia), en el que se analizan los hábitos de vida que predisponen al desarrollo de cáncer colorrectal en la población de Pasto para contribuir a la toma de decisiones dirigidas a la prevención y el control de esta enfermedad.

CAPÍTULO 1

1. Estudio de la vía afectada de MAPK y su implicación biológica

La vía de señalización MAPK (Mitogen-Activated Protein Kinases, o proteínas quinasas activadas por mitógenos) es una ruta de transducción de señales presente en los seres eucariotas que se sitúa corriente abajo de los receptores tirosín quinasas.

Las proteínas quinasas activadas por mitógenos están involucradas en diversas vías de transducción de señales desde el exterior hacia el interior celular ¹.

Participan en cascadas de señalización que regulan el crecimiento, diferenciación, proliferación y muerte celular. Los genes involucrados en la vía RAS- MAPK han sido ampliamente estudiados debido a su potencial oncogénico.

1.1 Cascadas y redes de señalización celular

Las células de organismos pluricelulares están en permanente intercomunicación a través de señales de todo tipo (hormonas, citosinas, factores de crecimiento, pequeños péptidos, etc) que regulan la proliferación, diferenciación, metabolismo, comportamiento celular e incluso la muerte celular programada (apoptosis).

Cuando estas señales llegan a las células diana, interaccionan con sus respectivos receptores y se produce la activación de rutas específicas de transducción de señales.

Seguidamente las señales son transmitidas hacia el interior de la célula hasta los puntos en que se regula el metabolismo, la transcripción y traducción de genes para generar la respuesta adecuada.

Cada señal extracelular es transducida a través de múltiples rutas o cascadas de señalización, en las que intervienen numerosas proteínas que ganan y/o pierden su actividad biológica mediante diversas modificaciones tales como fosforilación, desfosforilación y translocación intracelular ².

En la Figura 1 se muestra el esquema básico de transducción de señales ³.

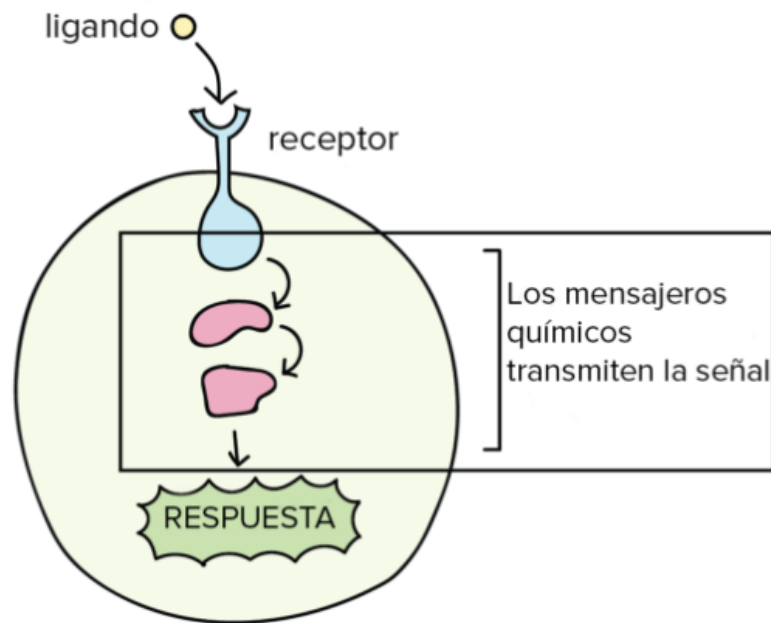


Figura 1 - Transducción de señales

Los estudios del Proyecto del Genoma Humano han revelado que de los aproximadamente 32.000 genes identificados, un 20% codifican proteínas involucradas en los procesos de transducción de señales, incluyendo receptores tirosín quinasa, subunidades de proteínas G y enzimas generadores de señales.

Tal magnitud nos indica que las células han diseñado un complejo entramado de vías de señalización en el que diversas rutas pueden ser activadas por distintas hormonas en un mismo contexto celular.

Por tanto las distintas respuestas celulares dependerán en gran medida del conjunto de rutas (iguales o distintas) presentes en las células diana, que cada señal extracelular sea capaz de estimular.

Entre las distintas cascadas de señalización celular, la más estudiada es la ruta RAS-MAPK que implica comúnmente, una serie de quinazas citosólicas activadas por agentes mitogénicos y sus receptores específicos de superficie.

El estudio reciente de multitud de otras rutas de señalización ha permitido ir conociendo más detalles sobre los mecanismos de señalización intracelular y comprobar que las distintas rutas no actúan de modo independiente, sino que están a su vez interrelacionadas entre sí formando redes complejas de señalización intracelular.

Desde el punto de vista global de la célula se tiende actualmente a hablar más de redes que de rutas de señalización.

En estas redes están integradas numerosas proteínas señalizadoras distintas, responsables de la regulación de los diversos procesos celulares, siendo precisamente el balance entre las señales positivas y negativas de la red de señales lo que va a determinar la naturaleza de las respuestas celulares (que pueden variar desde división a diferenciación o apoptosis).

La regulación de los procesos de señalización se puede dar a distintos niveles. La existencia de redes de señalización intracelular ofrece por tanto grandes posibilidades de modulación de las respuestas celulares en base a la regulación cualitativa, cuantitativa o temporal de los diversos componentes de la red en cada tipo celular.

Por ejemplo, en una célula quiescente pequeñas variaciones en los niveles locales de un factor de crecimiento puede hacer que la balanza de señales resultantes incline a la célula hacia la división en vez de hacia otro tipo de respuestas.

1.1.1 La vía MAPK

De todas las proteínas implicadas en la señalización mitogénica, la familia de las MAPKs (Mitogen-Activated Protein Kinases) es una de las más estudiadas

Esta familia de serina-treonina quinasas cuenta actualmente con cuatro subfamilias

- ERKs (Extracellular signal-Regulated Kinases)
- SAPK/JNKs (Stress-Activated Protein Kinases / Jun N-terminus Kinases)
- MAPK p38/RK/CSBP (p38)
- ERK5/BMK (big MAP kinase-1)

La vía MAPK se inicia cuando un factor de crecimiento se une a un receptor de tirosín quinasa localizado en la membrana plasmática ⁴.

Induce su dimerización, fosforilación y la unión a proteínas adaptadoras que tienen dominios SH2 como GRB2, SHC y SHP2.

Estas proteínas atraen a SOS1 hacia la membrana plasmática.

SOS1 es el mayor GEF conocido y se une a RAS GDP para promover el intercambio a su forma activa como RAS GTP.

En su forma activa RAS actúa sobre diversas vías de señalización celular, siendo la más importante RAS/MAPK (cascada RAF-MEK-ERK).

La principal efectora es RAF, una serina-treonina quinasa que tiene 3 isoformas (ARAF, BRAF, RAF1), de las cuales BRAF es la más efectiva.

RAF inicia la cascada de quinasas MEK-ERK y ERK es el último efector de la vía y actúa sobre moléculas citosólicas y nucleares como factores de transcripción, proteínas de membrana y quinasas proteicas ⁵.

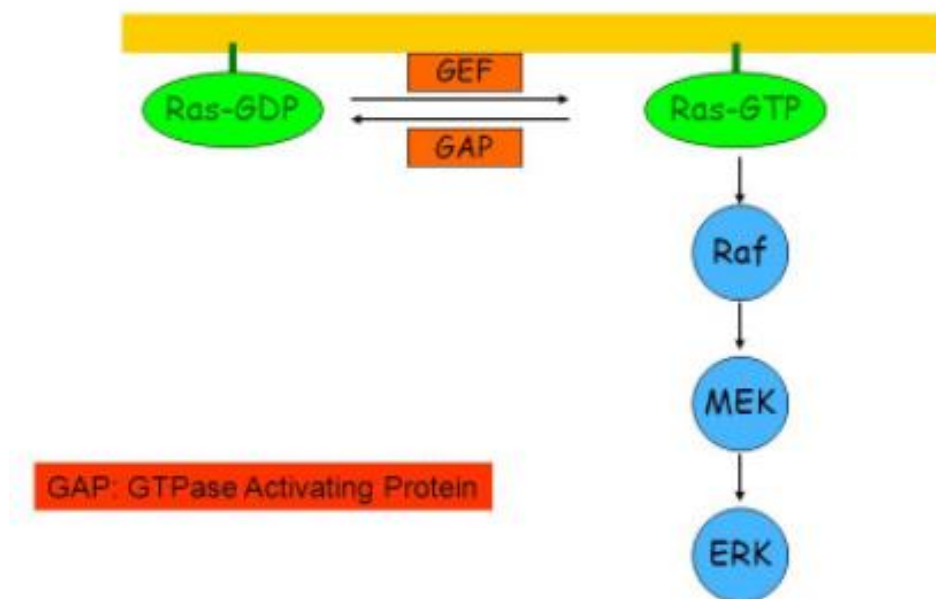


Figura 2 - Cascada RAF-MEK-ERK

El resultado final es un cambio en el patrón de expresión génica que estimula la proliferación, supervivencia y diferenciación celular.

Esta interacción finaliza cuando se produce la hidrólisis de GTP a GDP por medio de la actividad GTPasa intrínseca de Ras, que se incrementa notablemente por medio de GAPs

1.1.2 Las proteínas RAS

Las proteínas RAS son pequeñas GTPasas unidas a nucleótidos de guanosina, codificadas por los genes H-Ras, K-Ras y N-Ras.

Actúan como moléculas de señalización, integrando señales extracelulares con efectores citoplasmáticos y activando vías de señalización que intervienen en procesos de proliferación, diferenciación y muerte celular

Estas proteínas junto con el gen Ras son un conjunto de interruptores-reguladores moleculares muy importantes en una gran variedad de rutas de transmisión de señales celulares que controlan diferentes fenómenos: integridad del citoesqueleto, proliferación, diferenciación, adhesión y migración celular y apoptosis.

A menudo las proteínas y el gen Ras están alterados en los tumores malignos, provocando un aumento en la capacidad de invasión y metástasis y una disminución de la apoptosis.

Las proteínas Ras están unidas a la lámina interna de la membrana plasmática. Dicha unión se realiza mediante adiciones lipídicas post-traduccionales en el extremo carboxilo terminal, en el motivo denominado CAAX box. En esta región, todas las proteínas Ras sufren una farnesilación ⁶.

Además, es necesario un segundo anclaje para localizarlas eficazmente en membranas. Dicha señal la proporciona la palmitilación en el caso de H-Ras y N-Ras, o una secuencia polibásica, en el caso de K-Ras.

Una vez que la molécula señalizadora de una célula se une al receptor de otra, comienza el proceso de señalización.

Las cadenas de moléculas que transmiten las señales dentro de una célula se conocen como vías de transducción intracelular de señales.

Cuando un ligando se une a un receptor de superficie celular, el dominio intracelular del receptor (la región que se encuentra al interior de la célula) cambia, adopta una nueva forma que puede activarlo como un enzima o que le permite unirse a otras moléculas.

1.1.3 Implicación de la ruta RAS/ERK en la carcinogénesis

Las MAPKs son activadas por estímulos de muy diversa naturaleza y son un paso crítico en la traducción de estímulos extracelulares en respuestas intracelulares mediante la fosforilación y consiguiente activación de múltiples substratos.

Los elementos implicados en la vía activan de algún modo al elemento situado corriente abajo, el cual posibilita la actividad del siguiente y así sucesivamente.

La naturaleza de proteína quinasa de estas enzimas implica que el mecanismo de activación sea la adición o eliminación de grupos fosfato (la actividad quinasa y la fosfatasa), lo cual interviene en la estructura proteica y actúa de interruptor.

La implicación de Ras en la carcinogénesis está constatada desde hace décadas.

Ras se encuentra activado mutacionalmente en el 30% de los tumores humanos. Destacando los de páncreas (90%), colon (50%), tiroides (50%), pulmón (30%) y melanoma (25%).

Estos genes mutados codifican proteínas que portan substituciones en un solo aminoácido principalmente en G12 o Q61, lo que hace que dichas proteínas estén en estado GTP constitutivamente y por tanto constantemente activas ⁷.

Además de Ras, también se ha constatado la implicación directa en procesos tumorales de otros componentes de la ruta Ras-ERK. Este es el caso de la serina/treonina quinasa Raf.

La importancia de este componente en la oncogénesis, ya se atisbaba al ser identificado Raf como un potente oncogén retroviral. Posteriormente la generación de mutantes constitutivamente activos de Raf, y también de MEK, demostró su potencial transformante en fibroblastos murinos y otros tipos de células.

En estudios recientes, se ha encontrado B-Raf activado mutacionalmente en V600 en diversos tumores humanos y se ha observado que la activación mutacional de Ras y de B-Raf aparece de una manera no solapada en melanomas, carcinomas colorrectales, de ovario, pulmón y tiroides.

A tenor de estos datos, se estima que hasta un 50% de los tumores humanos podrían albergar mutaciones en alguno de los componentes de la ruta Ras-ERK.

En los últimos años, también han sido descritas activaciones mutacionales de H-Ras, K-Ras, B-Raf y MEK 1 y 2, en línea germinal, en pacientes de una serie de desórdenes del

desarrollo, que comprenden los síndromes de Noonan, Costello y el cardio-cutáneo-facial.

Estos síndromes se asocian con una mayor incidencia de tumores de distinto tipo. En conjunto estos datos ponen en evidencia el potencial terapéutico que el bloqueo de la señalización a través de la ruta Ras-ERK puede suponer en el tratamiento del cáncer.

Al margen de los principales componentes de la ruta, entre los distintos tipos de proteínas reguladoras no se han descrito alteraciones presentes en tumores humanos. No obstante, en algunos casos se ha demostrado que sus funciones son esenciales para la activación de la ruta.

Por ejemplo, el caso de KSR cuya función es crítica para la activación de Raf por Ras. Las células deficientes para KSR son resistentes a la transformación por Ras.

Además, la supresión de KSR mediante RNA de interferencia impide el crecimiento de células tumorales humanas portadoras de mutaciones en Ras, lo que apunta a KSR, en particular, y a las proteínas de andamiaje en general, como potenciales dianas antitumorales.

1.2. Inhibidores de la ruta RAS-MAPK

1.2.1 Inhibidores de RAS

Debido a su condición de oncogén más frecuente en los tumores humanos, Ras ha sido el “Santo Grial” en la búsqueda de agentes antitumorales.

El defecto presente en las oncoproteínas Ras (las mutaciones en los codones 12,13 y 61) conlleva la pérdida de su sensibilidad hacia las proteínas GAPs y en consecuencia su bloqueo en la forma unida a GTP⁸.

Los esfuerzos iniciales fueron encaminados, bien a restituir la actividad GTPasa intrínseca de Ras mediante la simulación de los efectos de las GAPs, o bien a antagonizar la unión a GTP. Sin embargo ambas estrategias han sido absolutamente infructuosas.

No obstante, Ras ha seguido siendo la diana de intentos de bloqueo alternativos, esta vez dirigidos contra los mecanismos mediante los cuales Ras se inserta en las membranas, requisito indispensable para que Ras pueda ser activa.

Ras se sintetiza en polisomas libres en el citoplasma. Rápidamente es isoprenilado por la acción de farnesil-transferasas (FTasas), lo que resulta en la adición covalente de un grupo farnesilo isoprenoide a la cisteína de su caja CAAX.

Mediante esta modificación, Ras se inserta en la superficie del retículo endoplásmico. A continuación, sufre la proteólisis de los residuos AAX, llevada a cabo por endoproteasas de la familia Rce1.

Finalmente, la isoprenilcisteína-O-carboxi metiltransferasa (ICMT) lleva a cabo la mutilación de la cisteína terminal. Todos y cada uno de estos procesos son importantes para incrementar la afinidad de Ras hacia las membranas.

La inhibición del primer paso, la farnesilación, es suficiente para impedir todos los procesos subsiguientes.

Conforme estos datos, muchos esfuerzos se han dedicado a generar inhibidores de FTasas (FTIs), con la esperanza de que incapacitasen el acceso de Ras a la membrana y por lo tanto lo inactivasen.

Aunque el uso de FTIs ha tenido cierto éxito en el tratamiento de algunas neoplasias, su utilización se ha complicado por el hecho de que K-Ras y N-Ras, las isoformas que aparecen más habitualmente en tumores, pueden ser geranil-geraniladas cuando la maquinaria de farnesilación es deficiente.

Lo que hace que en realidad, los FTIs no sean eficientes inhibidores de Ras y existen evidencias que indican que su efecto antitumoral no es debido a su acción sobre Ras, sino sobre otros substratos.

No obstante, aunque no sea a través de Ras, algunos FTIs han logrado progresar como antitumorales a través de las fases preclínicas y clínicas.

En estos momentos SHC-66336 (lonafarnib; Sarasar) y R115777 (tipifarnib; Zarnesta) están en ensayos clínicos de fase II/III para neoplasias hematopoyéticas.

Siguiendo la misma estrategia, otros tipos de inhibidores se han dirigido hacia otras de las modificaciones post-traduccionales que sufre Ras, como son la inhibición de su proteólisis AAX y la de su carboximetilación.

En esta línea recientemente se ha identificado una pequeña molécula, la acetamida (cysmetynil), inhibidora de la ICMT, capaz de inhibir la localización de Ras en membranas y en consecuencia, la proliferación de distintos tipos celulares.

Hay que tener en cuenta, que tanto los FTIs, como los inhibidores de proteasas CAAX-específicas y los de ICMTs, no solo afectan a Ras sino a cientos de proteínas que contienen dicha secuencia.

El hecho de que muchas de estas proteínas por ejemplo las de las familias Rheb, Ral y Rho, también estén implicadas en la regulación de procesos íntimamente relacionados con la carcinogénesis, hace pensar que la promiscuidad de dichos inhibidores pueda, de alguna manera resultar beneficiosa en la terapia antitumoral. De forma que los esfuerzos en esta vía siguen vigentes.

1.2.2 Inhibidores de RAF

Distintas clases de compuestos han sido desarrollados como potenciales inhibidores de esta familia de quinasas. Algunos intentos han perseguido el inhibir la expresión de c-Raf, como el inhibidor “antisentido” ISIS-5132.

Este fosfotiorato oligonucleótido de DNA mostró su eficacia antitumoral en ensayos preclínicos de xenotransplantes en ratones, pero fracasó en ensayos clínicos de fase II, al no inducir una buena respuesta antitumoral en pacientes.

Otro abordaje parecido ha sido realizado con LErafAON, un oligonucleótido antisentido encapsulado en liposomas. Este tratamiento ha superado la fase I y actualmente se encuentra en fase II, tanto como monoterapia, como combinado con radioterapia y otras quimioterapias.

Paralelamente también se han realizado grandes esfuerzos en la búsqueda de pequeñas moléculas inhibitoras de Raf y ya hay en el mercado un número considerable de las mismas.

MCP1 es un inhibidor de la interacción Ras / Raf aunque los mecanismos mediante los que ejerce dicho efecto no están claros.

La dilucidación de dichos mecanismos será importante para el futuro diseño de inhibidores de este tipo. Actualmente se encuentra en fase preclínica.

Aunque no es un inhibidor directo de Raf, la actividad antitumoral de la benzoquinona geldamicina está directamente relacionada con el mismo, ya que promueve la degradación de Hsp90, una chaperona esencial para la estabilidad y funcionamiento de c-Raf.

De manera que indirectamente potencia la degradación de c-Raf, aunque también de otras proteínas que requieren de este cofactor.

Un derivado (17-AAG) ha demostrado su eficacia en la fase preclínica en el tratamiento del melanoma y actualmente está en ensayos clínicos (fase II) aunque asaltado por problemas de solubilidad, estabilidad y hepatotoxicidad.

Sin lugar a dudas el inhibidor de Raf más exitoso es el sorafenib. Un compuesto administrable por vía oral que recibió la aprobación de la FDA (Food and Drug Administration) en 2005 para su uso en carcinoma renal avanzado ⁹.

Sorafenib fue inicialmente desarrollado como un inhibidor de c-Raf, aunque posteriormente se ha demostrado que también inhibe potentemente a B-Raf.

No obstante, también muestra efecto inhibidor sobre otras quinasas, en particular las pro-angiogénicas VEGF-r 1 y 2, PDGF-b, Flt-3, c-Kit y FGFr-1, pero no sobre otras como MEK, ERK, p38, EGFr, etc.

Es posible que en cierto grado, sus efectos antitumorales sean independientes de Raf y más bien asociados a su efecto antiangiogénico.

El tratamiento con sorafenib es seguro y bien tolerado y en los estudios de fase III dobló el periodo libre de enfermedad de 12 a 24 meses, en comparación con el grupo placebo, en 900 pacientes con carcinoma renal avanzado.

En estos momentos se están realizando estudios clínicos de su efecto en cánceres de pulmón, próstata, hepatocelular, ovario, páncreas y neoplasias hematológicas.

RAF265 y PLX4032 son otros compuestos inhibidores de c-Raf B-Raf y A-Raf, de administración oral y actualmente en ensayos clínicos fase I. Al igual que sorafenib, estos compuestos también muestran potencial anti-angiogénico.

1.2.3 Inhibidores de MEK

Las quinasas duales MEK1 y MEK2, son los únicos substratos conocidos de la familia Raf y son las únicas activadoras de las MAP quinasas ERKs.

Debido a esto han atraído gran atención como objetivos terapéuticos para inhibir la activación de la ruta. Al contrario que la mayoría de los inhibidores de quinasas, los inhibidores de MEK no son competidores de ATP.

Su mecanismo de acción reside en su capacidad de unirse a MEK y bloquearla en estado catalíticamente inactivo, por lo que son altamente específicos ya que las secuencias a las que se unen son únicas para esta familia de quinasas. Esto ha quedado demostrado por los dos primeros inhibidores desarrollados, PD98059 y UO126.

Estos dos inhibidores han sido de incalculable valor para la ciencia básica y han tenido enorme importancia en la adquisición de muchos de los conocimientos que hoy tenemos sobre la ruta Ras-ERK y su relevancia en el cáncer¹⁰.

Estos compuestos no han podido ser trasladados a la clínica ya que carecen de las propiedades farmacológicas necesarias. No obstante, han marcado la base química para el desarrollo de nuevas generaciones de inhibidores de MEK con propiedades farmacológicas muy mejoradas.

El primer inhibidor de MEK que ha entrado en ensayos clínicos ha sido el CI-1040 (PD184352). De administración oral y altamente específico.

Este compuesto inhibió el desarrollo de tumores colorrectales y de melanomas en xenotransplantes en ratones. En posteriores ensayos clínicos de fase I, logró una respuesta de remisión parcial en el 25% de los casos ensayados sobre una serie de distintos tipos de tumores.

Este resultado alentador impulsó el paso a estudios de fase II, donde desafortunadamente los resultados fueron negativos, debido fundamentalmente a las pobres propiedades farmacocinéticas del compuesto.

A pesar de esto, los prometedores resultados obtenidos en fase I, han respaldado en gran medida el uso de MEK como diana terapéutica antitumoral, lo que ha impulsado la aparición de una segunda generación de inhibidores de estas quinasas.

El PD0325901, es un derivado del CI-1040 con modificaciones en su estructura química, que han supuesto un incremento de 50 veces en su potencial inhibitorio sobre MEK, mejor farmacocinética, mayor estabilidad y una prolongación en la supresión de la diana terapéutica.

Su actividad antitumoral se ha demostrado sobre distintos tipos de tumores en xenotransplantes de ratón y actualmente está siendo evaluado en ensayos clínicos de fase I y II. El AZD6244 (ARRY-142886) es un benzimidazol de administración oral.

Evaluaciones preclínicas han demostrado su actividad antitumoral en modelos de xenotransplantes de tumores de colon, páncreas, pulmón y melanoma, por lo que ha pasado a estudios clínicos de fase I.

Los resultados iniciales en pacientes con tumores sólidos avanzados han demostrado una buena tolerancia y casi una total ausencia de efectos adversos. Estudios de farmacocinética y farmacodinámica han ratificado una exposición sistémica satisfactoria y unos niveles significativos de inhibición de ERK.

La mejor respuesta clínica observada ha sido un 57 % de estabilización de la enfermedad, de los cuales el 19% se prolongó más de cinco meses.

Recientemente se ha observado que los tumores que portan mutaciones en B-Raf son mucho más sensibles a la inhibición de MEK que esos que contienen B-Raf salvaje o mutaciones en Ras.

Lo que probablemente refleja que Ras utilice rutas independientes de Raf para ejercer su efecto oncogénico. A este respecto la tipificación de los tumores en función de la presencia de mutaciones en B-Raf y Ras, podría servir para identificar esos pacientes potencialmente sensibles a la terapia anti-MEK.

Además de los inhibidores sintéticos, una serie de toxinas bacterianas han demostrado su potencial como inhibidores de MEK.

El Factor Letal del Antrax (LeTX) es un componente de la exotoxina de *Bacillus anthracis*, que tiene la capacidad de inactivar múltiples MAPKKs, incluidas MEK1 y 2, mediante proteólisis.

LeTX ha demostrado su eficiencia como antitumoral en modelos animales, preferentemente sobre esos tumores que portan mutaciones en B-Raf, en particular melanomas. La proteína externa J (YopJ) de *Yersinia pestis*, es otra toxina con actividad inhibitoria sobre MEK.

YopJ tiene actividad acetil-transferasa, mediante la cual modifica residuos de serina y treonina presentes en el lazo de activación de MEK, esenciales para su función, bloqueando así su actividad. YopJ se está probando actualmente en ensayos preclínicos.

1.2.4 Inhibidores de ERK

A pesar de ser el punto final de la ruta, hasta la fecha no se han encontrado mutaciones activadoras de ERK1 y 2, ni en tumores ni en ningún otro tipo de patologías.

Tal vez esto sea debido al complejo mecanismo de activación de las ERKs, que requiere dos fosforilaciones secuenciales y en estricto orden.

Probablemente la conformación activa resultante no pueda ser simulada por cambios aminoacídicos puntuales.

El único cambio relevante que se ha podido observar en algunos tipos de tumores es una deslocalización, encontrándose las ERKs constitutivamente en el núcleo. Hoy en día no existen inhibidores dirigidos hacia la inactivación directa de las ERKs.

Sin embargo se ha demostrado que la inhibición de la dimerización de ERKs es suficiente para impedir la transformación de fibroblastos murinos por distintos tipos de oncogenes. También ralentiza la proliferación de líneas tumorales humanas procedentes de tumores de vejiga, colon y pulmón ¹¹.

Además la inhibición de la dimerización de ERKs impide el crecimiento y la progresión de los mismos tipos de células tumorales en un modelo de xenotransplantes en ratones.

Dichos resultados sumamente prometedores, apuntan hacia la dimerización de ERKs como una potencial diana antitumoral.

Es importante resaltar que la inmensa mayoría de los inhibidores para quinasas descritos hasta la fecha, son competidores de ATP.

Se da la particularidad de que la interfaz de dimerización de las ERKs es una secuencia única, lo que puede resultar en la generación de inhibidores altamente específicos para estas quinasas.

CAPÍTULO 2

2. Búsqueda de dianas terapéuticas para los diferentes tipos de cáncer

Hoy en día y a pesar de los avances que se han producido durante las últimas décadas, el cáncer sigue siendo uno de los mayores retos para los sistemas de salud.

Aunque sin ningún género de dudas, se han logrado grandes progresos en el entendimiento de las bases genéticas, bioquímicas y celulares que subyacen en la patogénesis de estas enfermedades. El gran reto que hoy tienen por delante los investigadores, es cómo traducir todos estos conocimientos en terapias efectivas, para el tratamiento de la enfermedad

Hoy se entiende el cáncer como un conjunto de enfermedades con capacidad ilimitada de proliferación y con profundos errores en los mecanismos de división, y específicamente en la entrada y salida en el ciclo celular.

Es decir que los fenómenos de señalización (factores de crecimiento, receptores, proteínas citoplasmáticas), división celular (ciclinas, genes supresores), control de apoptosis, etc; están íntimamente implicados en el desarrollo del cáncer¹².

Aún más los tumores una vez establecidos necesitan de una formación de vasos nuevos (neo-angiogénesis) que les asegurarán su supervivencia.

En base a todo ello el tratamiento médico del cáncer del futuro debe asentarse sobre unas bases racionales del conocimiento de la proliferación, diferenciación, y apoptosis, y los fármacos deben ser diseñados de entrada de acuerdo a su mecanismo de acción y conociendo al detalle las funciones que pueden llegar a controlar

2.1 Tratamientos contra el cáncer:

Hay muchos tipos de tratamientos contra el cáncer

Estos tratamientos dependerán del tipo de cáncer y del estadio en el que se encuentre:

- Cirugía: orientada a extirpar un tumor, reducir el volumen o aliviar los síntomas.
- Radioterapia: se emplean altas dosis de radiación para curar el cáncer, evitar recidivas, o para detener o retardar su crecimiento.
- Quimioterapia: utiliza medicamentos para combatir el cáncer y otros problemas asociados.
- Trasplantes de células madre: procedimientos que restauran las células madre destruidas por dosis muy elevadas de quimioterapia o de radioterapia.
- Terapias dirigidas: utilizan fármacos u otras sustancias que bloquean el crecimiento y la propagación del cáncer al interferir con moléculas específicas (dianas moleculares) que están implicadas en el crecimiento, la progresión y propagación de la patología.

2.1.1 Terapias dirigidas contra el cáncer

El cáncer es una enfermedad causada por la acumulación de alteraciones en genes que son esenciales para el control del crecimiento y la división de la célula. Estas alteraciones provocan la desregulación de estos procesos, dotando a las células de una capacidad de proliferación sin control.

En oncología, la práctica clínica se está orientando a personalizar los tratamientos.

Cada cáncer es diferente, puesto que las alteraciones genéticas que lo caracterizan son propias de cada tipo de tumor. La identificación de estas alteraciones permite evaluar mejor el pronóstico de la enfermedad y ayuda a predecir la respuesta a determinados fármacos.

El desarrollo en los últimos años de fármacos dirigidos contra alteraciones genéticas o moleculares está convirtiendo a estas alteraciones en dianas terapéuticas o marcadores predictivos de respuesta.

Las terapias dirigidas contra el cáncer son fármacos u otras sustancias que bloquean el crecimiento y la diseminación del cáncer al interferir en moléculas específicas

("blancos moleculares") que participan en el crecimiento, el avance y la diseminación del cáncer ¹³.

Las terapias dirigidas contra el cáncer se llaman algunas veces "fármacos dirigidos molecularmente", "terapias dirigidas molecularmente", "medicinas de precisión", o términos semejantes.

El estudio de dianas terapéuticas se hace, por tanto, imprescindible para decidir el tratamiento de los pacientes con cáncer, ya que permite el diseño de terapias personalizadas con "fármacos a la carta", es decir, tratamientos dirigidos contra las alteraciones genéticas o moleculares específicas del tumor.

2.1.1.1 Acciones de las terapias dirigidas contra el cáncer

- Ayudar al sistema inmunitario a destruir las células cancerígenas, bien marcándolas para facilitar su detección o bien fortaleciendo al propio sistema inmunitario.
- Detener el crecimiento de las células cancerígenas.
- Inhibir las señales que ayudan a la formación de vasos sanguíneos, necesarios para el crecimiento y desarrollo tumoral.
- Transportar sustancias destructoras a las células cancerígenas
- Inducir la muerte de las células cancerígenas.
- Evitar que el tejido tumoral reciba hormonas necesarias para su crecimiento.

2.1.1.2 La quimioterapia convencional frente a las terapias dirigidas

Las terapias dirigidas difieren de la quimioterapia en varias formas:

- Las terapias dirigidas actúan en blancos moleculares específicos que están asociados con el cáncer, mientras que la mayoría de las quimioterapias regulares actúan en todas las células que se dividen con rapidez, normales y cancerosas.

- Las terapias dirigidas se eligen o diseñan deliberadamente para que actúen en sus blancos, mientras que muchas quimioterapias regulares se identificaron porque destruyen células.
- Las terapias dirigidas son con frecuencia citostáticas (es decir, bloquean la proliferación de las células tumorales), mientras que las sustancias ordinarias de quimioterapia son citotóxicas (es decir, destruyen células tumorales).

Las terapias dirigidas son, en la actualidad, en donde se centra la mayor creación de fármacos contra el cáncer. Son la piedra angular de la medicina de precisión, una forma de medicina que usa información de los genes y proteínas de una persona para prevenir, diagnosticar y tratar enfermedades ¹⁴.

2.1.1.3 Tratamientos citotóxicos y tratamientos citostáticos

Tratamientos citotóxicos (Quimioterapia clásica)

Estos medicamentos actúan en las células bloqueando o reduciendo la velocidad de división de las células tumorales y, en consecuencia, disminuyendo el crecimiento del tumor.

En algunos casos, el tratamiento conlleva la curación de la enfermedad; en otros, se traduce en un aumento de la esperanza de vida y en la mejora de la calidad

Estos tratamientos tienen como finalidad evitar la recaída en la enfermedad o bien mejorar el pronóstico. Asimismo, quieren mejorar la calidad de vida de pacientes que han sido diagnosticados de algún tipo de cáncer.

Cada vez son más los pacientes que se pueden beneficiar de este tipo de tratamiento; entre otros, aquellos que han sido diagnosticados de cáncer de mama, cáncer de colon, cáncer de pulmón, cáncer de riñón, cáncer de hígado, de mieloma múltiple o de leucemias.

Son los fármacos anticancerosos que se utilizan para el tratamiento del cáncer, el empleo terapéutico exitoso de estos al igual que para las patologías infecciosas, se fundamenta en las diferencias metabólicas existentes entre las células normales y las cancerosas, así como en la velocidad vertiginosa de la multiplicación celular de estas últimas.

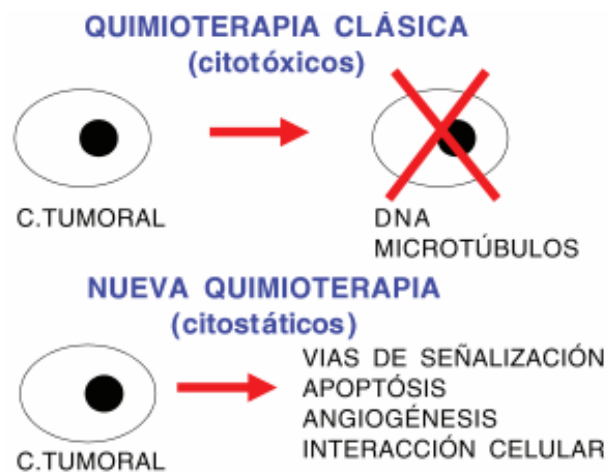


Figura 3 - Quimioterapia clásica y nueva quimioterapia

2.1.1.4 Efectos secundarios de las terapias dirigidas

Los efectos secundarios más comunes son diarrea y problemas relacionados con el hígado como la hepatitis o el aumento de las enzimas hepáticas.

También pueden aparecer problemas en la piel, problemas en la coagulación de la sangre y en la cicatrización de heridas o un incremento de la presión sanguínea.

Las pocas terapias dirigidas que están aprobadas para su uso en niños pueden tener diferentes efectos secundarios respecto a los adultos, entre los que se incluyen la inmunosupresión y la producción de esperma deteriorada.

2.1.1.5 Las limitaciones de las terapias dirigidas contra el cáncer

Una limitación de la terapia dirigida es la dificultad de desarrollar los medicamentos para algunas dianas identificadas debido a la estructura de la diana y/o a la forma en la que su función es regulada en la célula.

Un ejemplo es Ras, una proteína de señalización, mutada en aproximadamente una cuarta parte de todos los cánceres.

Hasta la fecha, no ha sido posible desarrollar inhibidores de Ras con las tecnologías de desarrollo de fármacos existentes. Sin embargo, los nuevos enfoques están ofreciendo esperanza de que esta limitación pueda ser superada brevemente.

2.2 Dianas terapéuticas

Una diana terapéutica es una molécula o proteína con una forma específica sobre la que el fármaco actúa.

Por ejemplo, los antibióticos “atacan” proteínas concretas que son vitales para las bacterias y no existen en los humanos. La identificación de una diana terapéutica es el primer paso para el desarrollo de un fármaco.

Se calcula que hay unas 8.000 dianas que podrían ser base para nuevos fármacos. Algunas se encuentran en exceso (con lo que habría que bloquear su actividad) y otras en defecto (con lo que habría que incrementarla o reemplazarla).

En las dianas terapéuticas se tiene identificado un receptor que regula el funcionamiento específico de una célula

Las dianas terapéuticas o células target son aquellas en las que se tiene identificado un receptor que regula el funcionamiento específico de una célula.

En el caso de células cancerígenas, cuando estos receptores encuentran el factor de crecimiento adecuado para él, se acopla e impulsa a la célula a mantener sus funciones vitales y el crecimiento descontrolado propio de las células tumorales.

Cada receptor tiene un factor de crecimiento apto para él, que encaja como una llave lo hace únicamente en la cerradura para la que ha sido fabricada.

Actualmente, existen fármacos que simulan estos factores de crecimiento y bloquean a distintos niveles estos receptores, impidiendo el crecimiento celular.

Es lo que se conoce como tratamientos sobre dianas terapéuticas o terapias dirigidas porque al bloquear el receptor, la célula no puede desarrollar sus funciones vitales y se produce la muerte celular.

La ventaja de este tratamiento frente a la quimioterapia es que las células sanas no se ven afectadas por este bloqueo y pueden seguir cumpliendo su función, por lo que se reduce considerablemente los efectos tóxicos.

2.2.1 Identificar dianas terapéuticas

El proceso de identificación de una diana pudiera parecer relativamente sencillo, sin embargo, es una tarea muy complicada debido a la complejidad de las células y sus interacciones.

Por otro lado, puede haber varios mecanismos que sean los que afecten a una determinada patología.

Adicionalmente, en ocasiones puede ser muy difícil distinguir entre las células sanas y afectadas, a lo que habría que añadir, las diferentes formas de manifestación que pueden surgir entre dos organismos similares.

Una vez identificada la diana, se debe comprobar que influye en la enfermedad como se espera y, también, que existen fármacos o técnicas para poder contrarrestarla. De poco serviría identificar una diana sobre la que no se puede actuar (salvo para futuros estudios cuando exista la tecnología necesaria).

Mediante este proceso, lo que se pretende es utilizar la diana terapéutica para provocar la enfermedad y, posteriormente, bloquearla para restaurar la condición sana.

Este proceso se realiza mediante estudios en cultivos celulares fuera de un organismo vivo (in vitro) y en animales (in vivo). Existen varios métodos para realizar la validación anterior.

- Terapia antisentido: Ya que las proteínas son imprescindibles en muchas de las funciones celulares, esta técnica lo que pretende es bloquear la síntesis de la proteína diana.
- Método Knockout (o bloqueo de genes): Lo que se pretende es silenciar o inactivar que un gen se exprese. Es decir, se pretende “evitar que el gen pueda ordenar” la función para la que “está programado” y que se supone que no es la deseada.

En muchas ocasiones, para este último método, es necesario crear modelos animales (por ejemplo, ratón knockout) afectados por la patología.

Desgraciadamente, este proceso, también adolece de dificultades ya que conseguir un animal que manifieste la enfermedad (de forma completa) es complicado y, en ocasiones, puede darse el caso de que la patología sea exclusivamente del ser humano o que el fármaco no reconozca la diana fuera del organismo humano por ser demasiado específico.

2.2.2 Producción de dianas para el desarrollo de fármacos

Para la creación de dianas terapéuticas el proceso que se sigue es el siguiente:

1. Identificación de la diana y de su “mecanismo”.
2. Búsqueda de un plásmido para crear la diana. Un plásmido es una molécula de ADN (no cromosómico) presente en bacterias. Cuando se utilizan en ingeniería genética se les llama vectores.
3. Se corta un segmento de ADN del plásmido mediante una enzima especial (enzima de restricción) y se le une un trozo de ADN (previamente cortado) de la bacteria que produce la diana mediante otra enzima específica (ADN ligasa).
4. El nuevo plásmido se introduce en la bacteria que produce la diana y se realiza un cultivo para que se reproduzca.
5. Puesto que el plásmido no entra en todas las bacterias, hay que averiguar en cuál lo ha conseguido. Para ello, se harán cultivos de las bacterias en medios con un antibiótico que no afecta al plásmido. De este modo, la única bacteria que crezca será la que se anda buscando.

2.2.3 Tipos de dianas terapéuticas

Gracias al cada vez mayor conocimiento de los receptores celulares se pueden tratar un mayor abanico de tumores con terapias dirigidas ¹⁵. Algunas de las principales dianas terapéuticas con las que se cuentan actualmente son

- Inhibidores del factor de crecimiento epidérmico (EGFR)
- Inmunoterapia: Este conjunto de terapias impulsan al sistema inmune para que destruya las células cancerosas. Actúan de dos formas:

Anticuerpos monoclonales que reconocen moléculas específicas en la superficie de las células cancerosas y al unirse al receptor destruye su sistema inmune haciéndola vulnerable a las defensas naturales de nuestro organismo

Anticuerpos monoclonales que fortalecen las células inmunitarias para que éstas puedan destruir por sí mismas a las células tumorales.
- Hormonoterapia: Hace tiempo que tenemos evidencia de que el crecimiento de algunos tumores depende del estímulo de determinadas hormonas.

El descubrimiento de los receptores hormonales han convertido a la hormonoterapia en un tratamiento clave en tumores como el de mama o el de próstata, sobre los que actúa bloqueando el crecimiento o haciéndolo más lento al reducir la producción de esa hormona.

Extracelular: con anticuerpos monoclonales

Intracelulares: con pequeñas moléculas inhibidoras

- Inhibidores de la angiogénesis: Actúan impidiendo la formación de vasos sanguíneos, de modo que frenamos el crecimiento tumoral y el desarrollo de metástasis. La angiogénesis está regulada por una serie de sustancias, entre el que destaca el factor de crecimiento del endotelio vascular (VEGF).
- Inductores de la apoptosis: Provocan en las células cancerosas un proceso de muerte celular controlado llamado apoptosis. De hecho, nuestro organismo utiliza este método para eliminar las células dañinas, pero las tumorales consiguen burlar esta defensa natural y los inhibidores refuerzan la capacidad de generar este proceso natural.

CAPÍTULO 3

3. Caso particular: Dianas terapéuticas para el cáncer de colon

El cáncer de colon o colorrectal (CCR) es el cáncer que comienza en el colon o en el recto, que es la parte final del colon.

El colon o intestino grueso tiene una longitud aproximada de 1,5 metros y su función es la de absorber agua y electrolitos del contenido intestinal y en su parte final almacenar las materias fecales hasta su expulsión

El colon tiene forma de tubo y su mucosa interior está recubierta por glándulas productoras de moco, y en un 90% de los casos, es en ellas donde se producen los tumores, también llamados adenocarcinomas.

Es el tipo de cáncer más frecuente en España, pero como normalmente es de desarrollo lento y no es complicado de detectar precozmente, tiene un alto grado de curación en estadios iniciales.

Sin embargo, si se ha diseminado (ha hecho metástasis) en otros órganos como el hígado, pulmón, hueso o el cerebro, el pronóstico empeora bastante.

3.1 Factores de riesgo del cáncer de colorrectal

En el desarrollo de cáncer de colon pueden estar involucrados tanto factores de riesgo genéticos como factores ambientales

1. Alimentación:

Una dieta rica en grasas saturadas favorece la aparición del cáncer de colon. También existe un incremento del riesgo de desarrollar la enfermedad cuando el individuo es obeso o mantiene una alta ingesta calórica. Por el contrario, los suplementos de calcio y la aspirina podrían disminuir este riesgo. Sin embargo, se han realizado estudios en los que no se ha podido demostrar que la ingesta de fibra disminuya el riesgo.

2. Edad:

Habitualmente el cáncer de colon aparece por encima de los 50 años, aunque existe un aumento del riesgo a desarrollarlo a partir de los 40 años, y la mayoría de los pacientes tienen en torno a 75 años

3. Pólipos

Un pólipo es una protuberancia que aparece sobre la superficie de la mucosa intestinal. Los pólipos de tipo adenomatoso son los que se convierten en cáncer (estos suponen un 1%)

4. Enfermedades asociadas

Padecer enfermedades como por ejemplo la enfermedad de Crohn o la colitis ulcerosa suponen un riesgo aumentado para desarrollar cáncer de colon. También haber sufrido un cáncer de mama y del aparato genital o haber tenido adenomas en el colon son factores de riesgo

5. Factores genéticos

Se han tipificado diversas alteraciones genéticas relacionadas con el desarrollo de cáncer de colon, en concreto los genes alterados en la poliposis familiar y en el cáncer de colon hereditario.

El 90% de los cánceres de colon surgen de forma esporádica, mientras que el 5-10% corresponden a cáncer hereditario no asociado a poliposis, es decir, que el enfermo tiene más familiares con cáncer.

En torno al 1% de los cánceres de colon se originan a partir de un síndrome de poliposis adenomatosa (presencia de múltiples pólipos en el colon), que también afecta a más de un familiar.

3.2 Dianas terapéuticas

Los avances que se han producido en la biología molecular durante los últimos años han permitido profundizar en el conocimiento de la génesis del cáncer, su progresión, invasión y metastatización. Estos avances han llevado a detectar numerosas alteraciones moleculares específicas de la célula neoplásica y por tanto, susceptibles de constituir unas nuevas dianas terapéuticas.

Recientemente se ha desarrollado una amplia variedad de fármacos dirigidos a inhibir o bloquear específicamente aquellos mecanismos que son esenciales para el crecimiento y la progresión tumoral. Estas nuevas terapias dirigidas difieren de los tratamientos antineoplásicos tradicionales en que actúan más como antiproliferativas que como citocidas, son más selectivas y poseen un mayor índice terapéutico.

Algunas veces, estos medicamentos funcionan cuando los medicamentos convencionales de quimioterapia no son eficaces y a menudo presentan efectos secundarios diferentes y menos graves. Se pueden usar junto con quimioterapia o por sí solos si la quimioterapia ya no es eficaz ¹⁶.

Actualmente se están investigando unas 200 posibles terapias dirigidas contra el cáncer.

Si nos centramos en el cáncer colorrectal, las que se encuentran en una fase más avanzada de su desarrollo son aquellas relacionadas con los receptores de la membrana y la transducción de las señales, los inhibidores de la angiogénesis y los inhibidores de COX-2.

Otras que todavía se encuentran en una fase más precoz son las que actúan sobre la apoptosis, los moduladores de las interacciones de la célula con la matriz celular o los agentes que inhiben el ciclo célula

3.2.1 Receptores del factor de crecimiento epidérmico (EGFR)

El receptor para el factor de crecimiento epidérmico (EGFR) es una glicoproteína que pertenece a la familia de receptores tirosín quinasa, y está representado por 4 miembros: HER1 o EGFR, HER2, HER3 y HER4 cuyos ligandos son un grupo de factores de crecimiento en especial el EGF y TGF alfa.

La señalización a través de EGFR es de gran importancia en el desarrollo embrionario, desarrollo epitelial, la proliferación y la organogénesis.

Sin embargo, su importancia no se limita solo a esto, el EGFR tiene una función fundamental en la transformación y progresión tumoral.

En consecuencia, constituye una diana en la terapia de cáncer, mediante anticuerpos monoclonales e inhibidores de la actividad tirosina quinasa.

El factor de crecimiento fue identificado en 1962 por Stanley Cohen y el receptor fue purificado y caracterizado en 1980. Fue el primer receptor tirosina quinasa en descubrirse¹⁷.

El EGFR está dividido en tres dominios con distintas funciones, como se observa en la Figura 4¹⁸

- Dominio extracelular, de unión al ligando
- Dominio de transmembrana, anclado a la membrana
- Dominio citoplásmico tirosín quinasa (transducción de señales)

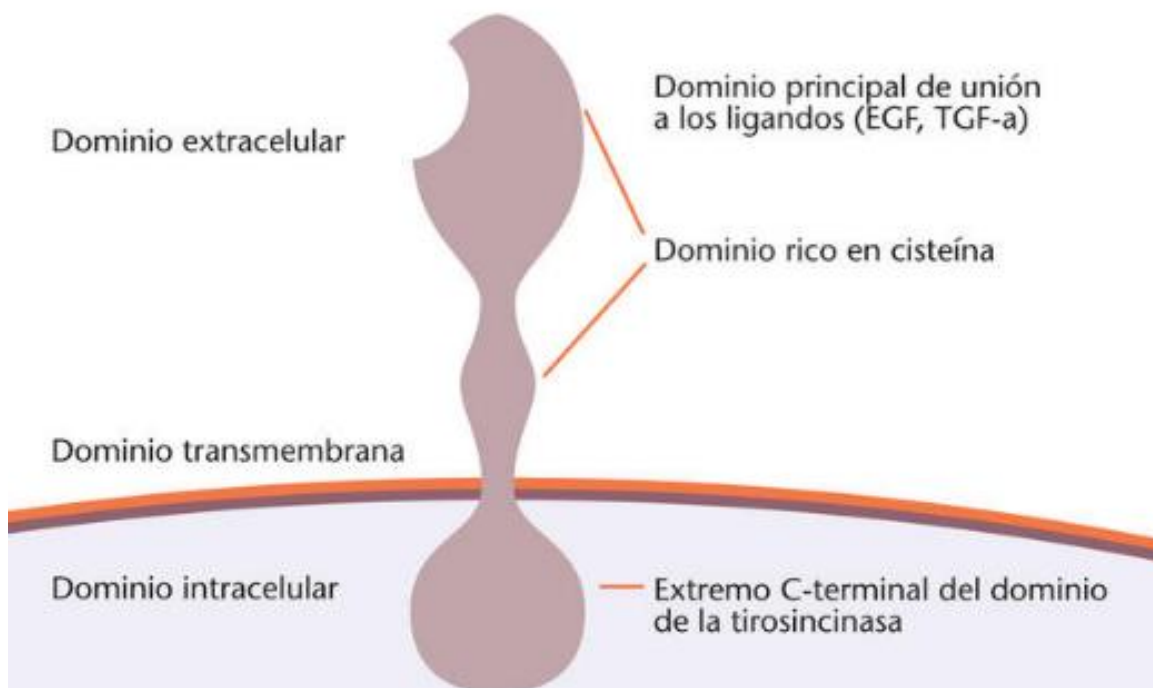


Figura 4 – Dominios del EGFR

El EGFR se activa mediante homodimerización o por la formación de dímeros con otros receptores de la familia EGFR (heterodimerización), aunque también puede ocurrir cuando hay sobreexpresión y alteraciones estructurales del receptor¹⁹.

Este proceso conduce a la activación de la tirosín-quinasa y por tanto, a la autofosforilación de residuos tirosina.

Este último paso es un proceso clave que inicia una cascada de señales que incluyen las vías Ras/Raf/MEK/ERK, PI3-Akt, MAPK, etc que intervienen en la proliferación celular, en la angiogénesis y en la metastatización.

Tanto mutaciones en el receptor o en alguno de los genes que intervienen en la transmisión de señales como modificaciones epigenéticas, conducen a un incremento en la actividad de estas vías.

El receptor del factor de crecimiento epidérmico a menudo aparece en altas cantidades sobre la superficie de las células cancerosas y las ayuda a crecer.

Se pueden usar fármacos que atacan el EGFR y bloquean su actividad para tratar algunos cánceres de colon o de recto en etapas avanzadas como los anticuerpos anti- EGFR o los inhibidores de la actividad tirosín quinasa.

3.2.1.1 Anticuerpos anti-EGFR

Son anticuerpos quiméricos dirigidos contra el EFGR que inducen su dimerización e internalización lo que impide secundariamente la activación de la tirosín quinasa y la posterior cascada de señales.

Cetuximab y panitumumab son anticuerpos monoclonales que bloquean el sitio de unión del EGFR (al unirse a su dominio extracelular), inhibiendo la señalización intracelular ²⁰.

La decisión terapéutica en el CCR se ha basado tradicionalmente en el estadio tumoral, la cinética de progresión tumoral y los síntomas del paciente.

Los anticuerpos monoclonales anti-EGFR suponen el primer paso para una medicina personalizada basada en las características genéticas del tumor ya que inciden específicamente en la biología molecular del cáncer.

Sin embargo, tan sólo un 10-20% de los pacientes con CCR tratados con estos fármacos presentan un beneficio clínico.

La Figura 1 es una representación esquemática de los anticuerpos monoclonales cetuximab y panitumumab, y la vía de señalización intracelular dependiente del receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR) ²¹.

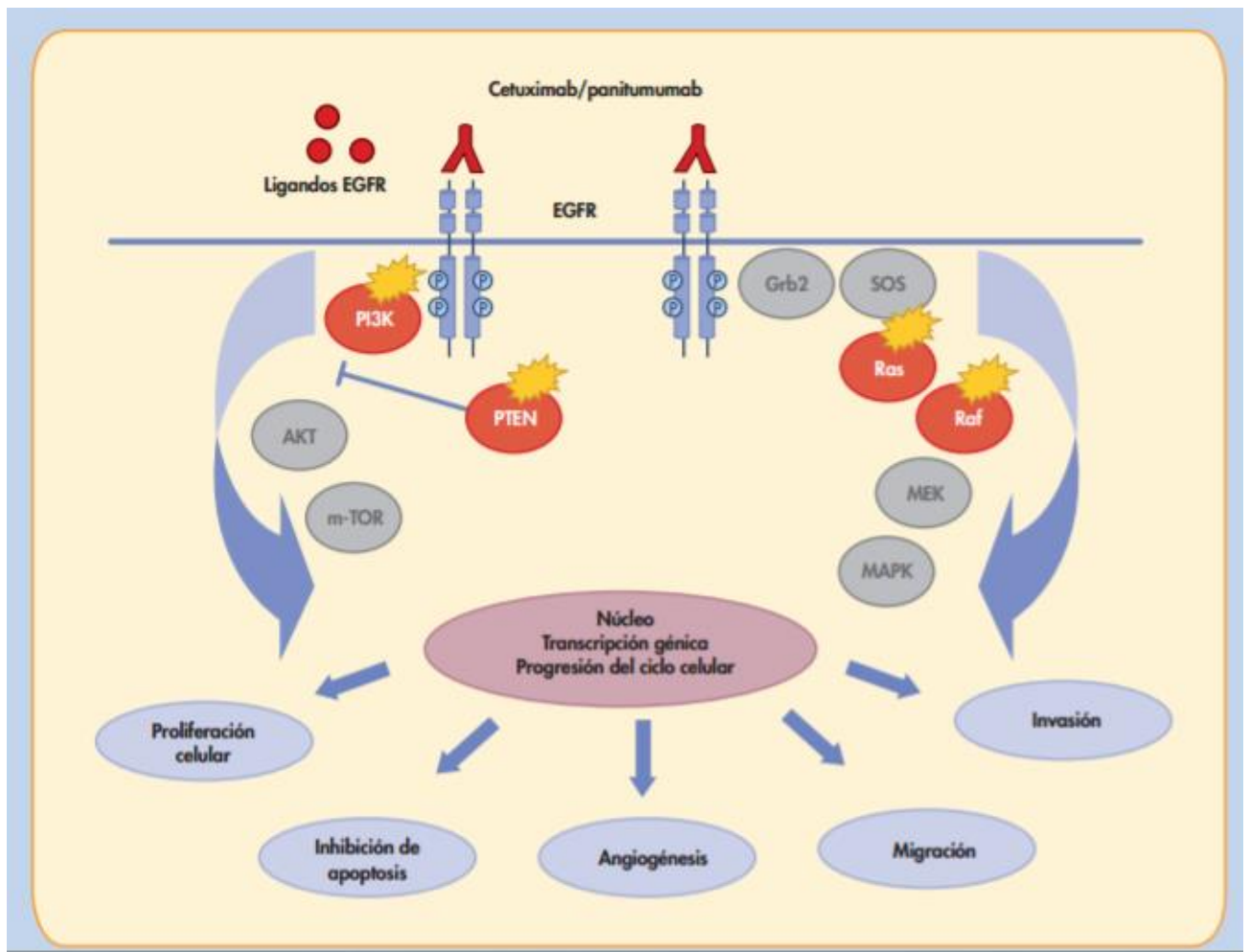


Figura 5 - Anticuerpos monoclonales: Cetuximab y panitumumab

Este hecho, sumado al elevado precio de estos tratamientos, así como sus efectos secundarios han promovido la realización de múltiples estudios dirigidos a identificar los mecanismos moleculares de resistencia primaria a cetuximab o panitumumab.

En los casos en los que el cáncer colorrectal tiene mutaciones en el gen KRAS, NRAS o BRAF, estos medicamentos no serían eficaces.

Hay que estudiar previamente el tipo de cáncer para determinar si es provocado por estos cambios genéticos y solo se utilizarían los medicamentos mencionados si no existen esas mutaciones

3.2.1.2 Inhibidores de la actividad tirosín quinasa

Otra estrategia para bloquear la función del receptor se basa en el hecho de que la actividad tirosín-quinasa asociada al receptor desempeña un papel crítico para la progresión de la transmisión de la señal originada en el EGFR.

Se han desarrollado pequeñas moléculas que actúan inhibiendo la actividad tirosín-quinasa con lo que evitan la autofosforilación del receptor y la fosforilación de las proteínas que intervienen en la cascada de señales

3.2.2 Receptores del factor de crecimiento endotelial vascular

El factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) es una proteína señalizadora implicada en la vasculogénesis y la angiogénesis.

Las acciones del VEGF han sido estudiadas en las células del endotelio vascular, aunque también tiene efectos sobre otros tipos celulares (por ejemplo, estimula la migración de monocitos/macrófagos, neuronas, células epiteliales renales y células tumorales) ²².

VEGF es un potente inductor de la formación de vasos sanguíneos durante el desarrollo embrionario (vasculogénesis) y tiene un papel fundamental en el crecimiento de vasos nuevos en el adulto (angiogénesis).

Promueve angiogénesis en los procesos de inflamación crónica, cicatrización y en tumores.

3.2.2.1 Proceso de angiogénesis

La angiogénesis es la formación de vasos sanguíneos nuevos. Este proceso consiste en la migración, crecimiento y diferenciación de células endoteliales, las cuales recubren las paredes internas de los vasos sanguíneos ²³

El proceso de angiogénesis está controlado por señales químicas.

Estas señales pueden estimular tanto la reparación de vasos sanguíneos dañados como la formación de vasos sanguíneos nuevos.

Los inhibidores de la angiogénesis, son las señales químicas que interfieren en la formación de vasos sanguíneos.

En una situación normal los efectos estimulantes e inhibidores de estas señales químicas están equilibrados, es decir, que los vasos sanguíneos se forman solamente cuando y donde son necesarios.

La angiogénesis desempeña un papel importante en el crecimiento y la diseminación del cáncer. Se necesita un suministro de sangre para que los tumores puedan aumentar unos milímetros su tamaño.

Los tumores pueden hacer que se forme este suministro de sangre al emitir señales químicas que estimulan la angiogénesis. También pueden estimular las células normales cercanas para que produzcan moléculas de señalización de angiogénesis.

Los nuevos vasos sanguíneos aportan a los tumores oxígeno y nutrientes, lo cual permite que las células cancerosas invadan el tejido cercano, que se muevan en el cuerpo y formen nuevas colonias de células cancerosas, llamadas metástasis.

Debido a que los tumores no pueden crecer más allá de un tamaño determinado ni diseminarse sin un suministro de sangre, se busca la forma de bloquear la angiogénesis tumoral.

Se estudian inhibidores naturales y sintéticos de la angiogénesis, llamados también sustancias antiangiogénicas, con el objetivo de que estas moléculas impidan o hagan que sea lento el crecimiento del cáncer.

La angiogénesis requiere que se unan moléculas de señalización, como el *VEGF*, a receptores en la superficie de células endoteliales normales.

Cuando el VEGF y otros factores de crecimiento endotelial se unen a sus receptores en las células endoteliales, se inician señales dentro de estas células que promueven el crecimiento y la supervivencia de vasos sanguíneos nuevos.

3.2.2.2 Inhibidores de la angiogénesis en el tratamiento del cáncer

Anticuerpo bevacizumab (Avastin) Es un anticuerpo monoclonal que reconoce y se une específicamente al VEGF.

Cuando el VEGF se une al fármaco bevacizumab, no puede activar el receptor del VEGF.

Hay otros inhibidores de la angiogénesis, que se unen a receptores en la superficie de células endoteliales o a otras proteínas en las vías de señalización descendentes y bloquean sus actividades.

La Administración de Alimentos y Drogas (FDA) ha aprobado el uso del fármaco bevacizumab (Avastin) solo para el tratamiento de glioblastoma que no ha mejorado con otros tratamientos y para su uso junto con otros fármacos para el tratamiento de cáncer colorrectal metastático, algunos cánceres de pulmón de células no pequeñas y cáncer de células renales metastático ²⁴.

Bevacizumab es el primer inhibidor de la angiogénesis que ha demostrado atrasar el crecimiento de tumores y, lo que es aún más importante, alargar la vida de pacientes con algunos tipos de cáncer ²⁵.

3.2.2.3 Otros fármacos antiangiogénicos

La FDA ha aprobado el uso de otros fármacos con actividad antiangiogénica, como sorafenib (Nexavar), sunitinib (Sutent), pazopanib (Votrient) y everolimus (Afinitor)

Sorafenib fue aprobado para el tratamiento de carcinoma hepatocelular y cáncer de riñón, sunitinib y everolimus tanto para cáncer de riñón como para tumores neuroendocrinos y pazopanib para cáncer de riñón. Los investigadores están explorando el uso de inhibidores de la angiogénesis para tratar otros tipos de cáncer.

Además, los inhibidores de la angiogénesis están siendo usados para tratar algunas enfermedades que consisten en la formación de crecimiento anormal de vasos sanguíneos en enfermedades no cancerosas, tal como la degeneración macular.

Los inhibidores de la angiogénesis son sustancias especiales para combatir el cáncer porque tienden a inhibir el crecimiento de vasos sanguíneos en vez de células tumorales.

En algunos cánceres, los inhibidores de la angiogénesis son más eficaces cuando se combinan con otras terapias, especialmente con quimioterapia.

Se ha planteado la hipótesis de que estos fármacos ayudan a normalizar los vasos sanguíneos que irrigan el tumor, al facilitar la administración de otras sustancias anticancerosas; no obstante, esta posibilidad está todavía en investigación.

La terapia con inhibidores de la angiogénesis no necesariamente destruye los tumores, sino más bien puede evitar que crezcan. Por lo tanto, este tipo de terapia puede necesitar que se administre por mucho tiempo.

Además de los inhibidores de la angiogénesis que ya han sido aprobados por la FDA, se están probando actualmente otros inhibidores que apuntan al VEGF o a otras vías de la angiogénesis en estudios clínicos (estudios de investigación con pacientes).

Si se comprueba que estos inhibidores de la angiogénesis son tanto seguros como efectivos en el tratamiento del cáncer en seres humanos, es posible que sean aprobados por la FDA y se pongan a disposición para uso amplio.

Por otro lado estudios clínicos en fase I y II están probando la posibilidad de combinar la terapia con inhibidores de la angiogénesis con otros tratamientos que se apuntan a los vasos sanguíneos, como son las sustancias disruptivas de vasos tumorales, las cuales dañan los vasos sanguíneos existentes de tumores.

3.2.3 COX-2

La COX 2 tiene como función mediar en los procesos de inflamación y en la señalización por prostanoïdes.

Se expresa tras inducción inflamatoria, aunque es constitutiva en SNC y riñón.

La expresión de la COX-2 es provocada por diversos mediadores inflamatorios (interferón γ , factor de necrosis tumoral α , interleucina 1, factores de crecimiento, etc.) en diversas células y tejidos. Se encuentra asociada a la envoltura nuclear de las células.

Los inhibidores de la ciclooxigenasa 2 (COX-2), también llamados coxib, son antiinflamatorios no esteroideos (AINE) tan eficaces como el ácido acetilsalicílico, pero con menores efectos secundarios ²⁶.

La COX 2 se encuentra sobreexpresada en el 40% de los adenomas y en el 85- 90% de los cánceres colorrectales. Los inhibidores selectivos de la COX-2 actúan frenando el ciclo celular e induciendo la apoptosis ²⁷. Además, poseen un cierto efecto antiangiogénico.

3.2.4 Quinasa

Las quinasas son proteínas que están en la superficie de una célula o cerca de ella que transportan señales importantes al centro de control de la célula.

El regorafenib (Stivarga) es un tipo de terapia dirigida conocida como un inhibidor de quinasa.

El regorafenib bloquea ciertas proteínas quinasas (que ayudan a las células del tumor a crecer o a formar nuevos vasos sanguíneos para alimentar al tumor). El bloqueo de estas proteínas detiene el crecimiento de las células cancerosas.

Este medicamento se utiliza para tratar el cáncer colorrectal avanzado, por lo general cuando otros medicamentos ya no son útiles y es administrado en forma de pastilla.

3.3 Nuevas dianas terapéuticas para el cáncer colorrectal

En 2016 se publica en la revista *Oncotarget* un estudio en el que investigadores del Centro de Biología Molecular Severo Ochoa (UAM-CSIC), han identificado un mecanismo por el que las células de cáncer colorrectal favorecen su propio crecimiento ²⁸.

Este implica la producción por parte del tumor de ciertas prostaglandinas, como la F2alfa.

Ésta había sido implicada hasta ahora en fertilidad y en el proceso de reproducción, pero los resultados del estudio sugieren que puede ser también una diana terapéutica en cáncer de colon.

Las prostaglandinas son compuestos que se producen por el metabolismo de ciertos lípidos en nuestras propias células y son fundamentales para muchas funciones fisiológicas (fiebre, dolor, fertilidad). Pero algunas prostaglandinas pueden contribuir al desarrollo de tumores.

La enzima clave para la producción de las prostaglandinas en las células es la ciclooxigenasa 2 (COX-2), que produce la prostaglandina H2.

Esta enzima, que es fundamental en procesos inflamatorios, se inhibe por fármacos tan comunes como la aspirina, a lo que esta debe sus propiedades antiinflamatorias.

Hace tiempo que se conoce el importante papel de COX-2 en el desarrollo del cáncer de colon ya que las células tumorales expresan más de estas enzimas.

De igual forma, en investigaciones previas sobre cáncer colorrectal, también se ha visto que está elevada la producción de prostaglandina E2, la más común entre ellas, y que contribuye al desarrollo de este tipo de cáncer.

Además, en algunos estudios se ha observado un menor riesgo de padecer cáncer colorrectal en aquellas personas que estaban tomando aspirina.

Utilizando modelos celulares y animales de cáncer de colon, así como muestras de biopsias de pacientes, los científicos han profundizado en el mecanismo molecular subyacente a la progresión del cáncer colorrectal.

Se observó que el exceso de COX-2 en el tumor conduce a una mayor producción de la prostaglandina F2alfa que, a su vez, desencadena la activación en cascada de una serie de moléculas (EGR1, mPGES-1) hasta llegar a la prostaglandina E2 que es la que finalmente conduce a un mayor crecimiento del tumor.

En modelos animales de cáncer, los autores demuestran además, y por vez primera, que las células tumorales de colon que producen bien un exceso de la enzima COX-2 o de la mPGES-1, exhiben un crecimiento mucho más rápido y pueden formar metástasis más fácilmente.

Asimismo, en pacientes con esta enfermedad, se observó que las dos enzimas COX-2 y mPGES-1 se suelen expresar de forma coordinada en los tumores de colon humanos.

“En tejido de colon sano ambas están en muy baja expresión mientras que en los tumores, se encuentran altos niveles de ambas, COX-2 y mPGES-1, que explica la alta producción de prostaglandina E2 en dichos tumores”, explican los investigadores.

Todos estos resultados aportan un conocimiento nuevo y más detallado de los procesos y mecanismos implicados en el desarrollo y extensión del cáncer colorrectal, confirman la utilidad de los inhibidores de la COX-2 contra el cáncer y de forma aún más relevante, permiten identificar nuevas dianas para intervención terapéutica en este tipo de cáncer como EGR-1, mPGES-1 y la prostaglandina F2alfa.

CAPÍTULO 4

4. Estudios de cohortes: Cáncer colorrectal

La realización de esta capítulo está basada en un estudio de cohortes de la Universidad de Nariño (Colombia) realizado por Daniel Jurado, Bravo LM, Cerón C, Guerrero N, y Yépez MC y financiado por la Universidad de Nariño, la Universidad del Tolima y el instituto Cancer Research UK de Londres.

Es un estudio de casos y controles en una población de ingresos medios y bajos en el que se relaciona los hábitos de vida y el riesgo de padecer cáncer colorrectal

4.1 Hábitos de vida y cáncer colorrectal

El cáncer colorrectal (CCR) es un problema de salud muy importante en el mundo, siendo una de las principales causas de mortalidad por cáncer.

Es el tercer tumor más frecuente en hombres con aproximadamente 663.000 casos nuevos diagnosticados anualmente (10% del total de casos de cáncer) y el segundo más frecuente en mujeres con 570.000 casos al año (9% del total).

Su incidencia ha aumentado drásticamente en los últimos años y su efecto en la salud pública y el bienestar económico es muy significativo

4.1.1 Objetivos

Se analizan los hábitos de vida que predisponen al desarrollo de CCR en la población de Pasto (Colombia) para contribuir a la toma de decisiones dirigidas a la prevención y el control de esta enfermedad.

4.1.2 Métodos

Se realizó un estudio de cohortes con una muestra de 55 casos seleccionados aleatoriamente de la base de datos de Registro Poblacional de Cáncer del Municipio de Pasto y 55 controles.

Mediante una regresión logística multivariada se identificó la relación y fuerza de asociación entre los hábitos de vida (actividad física, consumo de alcohol y tabaco) y el desarrollo de cáncer colorrectal, ajustando el modelo por covariables demográficas, socioeconómicas y clínicas.

4.1.3 Resultados

En el análisis multivariado se identificó que el consumo diario de alcohol y el consumo diario de cigarrillo presentan una asociación estadísticamente significativa con el desarrollo de cáncer colorrectal.

Las personas con un consumo alto de alcohol y tabaco tienen mayor probabilidad de desarrollar cáncer de colon que las personas que no beben o fuman

Los hallazgos sugieren que es necesario promover campañas de sensibilización que permitan dar a conocer, en la población el riesgo a desarrollar CCR causado por inadecuados hábitos de vida como el consumo de alcohol y tabaco.

4.2 Estudio de cohortes

4.2.1 Definición y selección de casos

Los 55 casos se seleccionaron aleatoriamente de Registro Poblacional de Cáncer del Municipio de Pasto (RPCMP) que incluye todos los tumores de CCR (330) diagnosticados y confirmados por métodos válidos (por histopatología, citología, imágenes diagnósticas y endoscopia) en personas residentes en el municipio de Pasto durante el periodo 1998-2010.

Se excluyeron los casos que no estaban vivos al momento del diagnóstico y tumores con comportamiento in situ, inciertos o benignos

4.2.2 Definición y selección de controles

Los 55 controles se seleccionaron como personas (familiares o no), que convivían con los casos en similares condiciones de exposición a factores de riesgo determinados por los hábitos de vida, garantizando de esta manera, la semejanza con los casos excepto en el desarrollo del CCR y considerando que tienen una probabilidad de convertirse en casos en el transcurso del tiempo.

4.2.3 Variables del estudio

Los casos y controles fueron entrevistados para obtener los siguientes datos

- variables demográficas: edad y sexo
- variables socioeconómicas: estrato, ocupación y educación
- variables clínicas: antecedentes familiares de cáncer
- otras variables: actividad física, consumo de alcohol y tabaco.

El consumo de alcohol corresponde al valor estandarizado en unidades de “copas” consumidas diariamente según el contenido de alcohol en gramos de cada bebida y se categorizó teniendo en cuenta las sugerencias del National Institute on Alcohol Abuse and Alcoholism de los Estados Unidos.

El consumo diario de cigarrillos se clasificó según la Organización Mundial de la Salud (OMS).

La actividad física y el nivel de actividad física también se tuvieron en cuenta, según el criterio establecido para éste estudio.

Las demás variables que fueron incluidas en el estudio (edad, sexo, antecedentes familiares, estrato socioeconómico, educación y ocupación) se analizaron como covariables.

Todas las variables se organizaron teniendo en cuenta una secuencia temporal plausible en un modelo teórico de causalidad (Figura 6) mediante un diagrama acíclico dirigido (DAG) para identificar relaciones de causalidad entre las variables de exposición y de respuesta (desarrollo de CCR), además de potenciales confusores, variables modificadoras del efecto o covariables

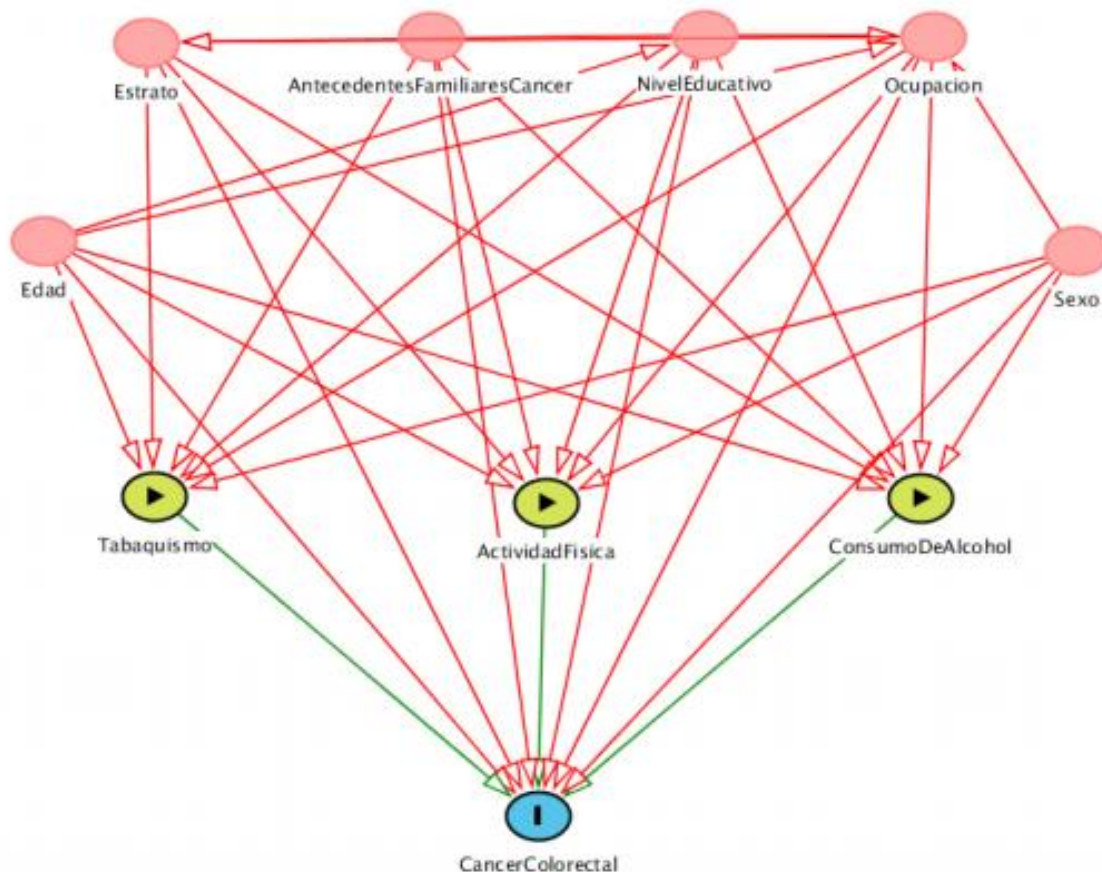


Figura 6 - Modelo de causalidad para el desarrollo de cáncer colorrectal

4.2.1 El análisis estadístico

Se realizó un análisis descriptivo de la población de casos y controles según la naturaleza cualitativa de las variables de estudio.

Se aplicó la prueba chi-cuadrado para identificar diferencias entre la población de casos y de controles en cada variable de estudio.

Posteriormente se llevó a cabo una regresión logística multivariada para identificar asociaciones significativas y la fuerza de asociación entre las variables de exposición y respuesta, además de la verificación de potenciales confusores y el ajuste del modelo por las covariables resultantes en los DAGs.

Para la identificación de confusores y covariables, se adicionó uno a uno los potenciales confusores a cada una de las variables de estudio y su efecto en la relación de interés.

Todos los cálculos y pruebas estadísticas se realizaron a un nivel de confianza del 95% en el programa estadístico SPSS 16, Epidat 4.01 y DAGitty v.2.0 alpha.

4.2.2 Resultados y discusión

En grupos de clase socioeconómica alta se observa una frecuencia elevada de cáncer colorrectal, que parece estar influenciada por factores ambientales, en particular la dieta. Las personas con un alto nivel socioeconómico tienden a vivir en ciudades con una dieta típica de los occidentales (pobre en fibra y rica en grasas)

Por otra parte, diferentes estudios afirman que, el nivel socioeconómico de una persona afecta su capacidad de recibir atención médica, cuanto mayor es el nivel educativo de una persona, mayor es la probabilidad de tener un trabajo mejor remunerado con seguro médico y días de licencia por enfermedad pagados.

Las personas con un mayor salario y seguro médico tienen una mayor probabilidad de hacerse las pruebas de detección que pueden encontrar el cáncer en forma temprana y obtener el tratamiento apropiado cuando este se detecta a tiempo. Las personas con un bajo nivel socioeconómico tienen una menor probabilidad de hacerse las pruebas de detección temprana del cáncer.

Por esta razón la enfermedad, con frecuencia, es detectada en un estado más avanzado o no se detecta.

La edad y el género que son las otras covariables asociadas con el desarrollo de CCR y los hábitos de vida han sido ampliamente estudiadas.

Mujeres y personas mayores de 50 años tienen un riesgo más alto de desarrollar CCR que los hombres y las personas menores de 50 años.

En la población de estudio de donde se obtuvo la muestra de casos y controles se presentó el mismo porcentaje de hombres y mujeres.

El mayor porcentaje de individuos: se encontraba entre los 40-59 años de edad al momento del diagnóstico (38,2%), pertenecía al estrato socioeconómico intermedio (63,6%), tenía estudios universitarios (47,3%), no tenía ocupación estable (31,8%), tenía antecedentes familiares con cáncer (67,3%), realizaba actividad física (62,7%), consumía levemente alcohol diario (39,1%) y no fumaba (57,3%).

En la tabla 1 se presenta las características demográficas, socioeconómicas, clínicas y hábitos de vida discriminados para los casos (55) y controles (55) de la población de estudio.

Tabla 1. Características demográficas, socioeconómicas, clínicas y hábitos de vida de los casos de cáncer colorrectal y controles en el estudio, Municipio de Pasto

Variable	Categoría	Total n=110 (%)	Casos (CCR+) n=55 (%)	Controles (CCR-) n=55 (%)
Edad*	20-39	34 (30,9)	3 (5,5)	31 (56,4)
	40-59	42 (38,2)	24 (43,6)	18 (32,7)
	60 y más	34 (30,9)	28 (50,9)	6 (10,9)
Sexo	Hombre	55 (50)	24 (43,6)	31 (56,4)
	Mujer	55 (50)	31 (56,4)	24 (43,6)
Estrato socioeconómico*	Bajo* (I)	19 (17,3)	15 (27,3)	4 (7,3)
	Intermedio (II y III)	70 (63,6)	31 (56,4)	39 (70,9)
	Alto (IV y V)	21 (19,1)	9 (16,4)	12 (21,8)
Escolaridad*	Primaria	32 (29,1)	25 (45,5)	7 (12,7)
	Secundaria	26 (23,6)	15 (27,3)	11 (20)
	Universitario	52 (47,3)	15 (27,3)	37 (67,3)
	Ama de casa	25 (22,7)	18 (32,7)	7 (12,7)
Ocupación*	Empleado público o privado	34 (30,9)	18 (32,7)	16 (29,1)
	Independiente	16 (14,5)	7 (12,7)	9 (16,4)
	Sin ocupación	35 (31,8)	12 (21,8)	23 (41,8)
Antecedentes familiares de cáncer*	No	36 (32,7)	9 (16,4)	27 (49,1)
	Si	74 (67,3)	46 (83,6)	28 (50,9)
Actividad física*	Si	69 (62,7)	28 (50,9)	41 (74,5)
	No	41 (37,3)	27 (49,1)	14 (25,5)
Nivel actividad física diario*	No realiza	41 (37,3)	27 (49,1)	14 (25,5)
	Baja	19 (17,3)	9 (16,4)	10 (18,2)
	Media	31 (28,2)	13 (23,6)	18 (32,7)
Consumo de alcohol diario*	Alta	19 (17,3)	6 (10,9)	13 (23,6)
	No consume	28 (25,5)	12 (21,8)	16 (29,1)
	Bajo (1 trago=14gr de alcohol)	43 (39,1)	13 (23,6)	30 (54,5)
	Moderado (2 tragos)	8 (7,3)	3 (5,5)	5 (9,1)
Consumo de cigarrillo diario*	Alto (>2 tragos)	31 (28,2)	27 (49,1)	4 (7,3)
	No fuma	63 (57,3)	24 (43,6)	39 (70,9)
	Leve (1-5 cigarrillos)	19 (17,3)	8 (14,5)	11 (20)
	Moderado (6-15 cigarrillos)	12 (10,9)	9 (16,4)	3 (5,5)
	Severo (>15 cigarrillos)	16 (14,5)	14 (25,5)	2 (3,6)

Se identificaron diferencias estadísticamente significativas entre los casos y controles en relación a todas las variables de estudio y covariables de estudio excepto en la variable género.

Se obtuvo que la actividad física, el consumo diario de alcohol y el consumo diario de cigarrillo presentaron una asociación estadísticamente significativa con el desarrollo de CCR.

La asociación se conservó en el análisis multivariado después del ajuste por las covariables, a excepción de la relación entre las variables actividad física y nivel de actividad física con el desarrollo de CCR, en la cual se identificó confusión por las variables consumo diario de alcohol y cigarrillo.

Por lo tanto, la actividad física y el nivel de actividad física, que se presumen teóricamente como factores asociados, en este modelo deben ser excluidos para explicar el desarrollo CCR en esta población.

En la tabla 2 se presentan los resultados de la regresión logística, y los respectivos intervalos de confianza.

Tabla 2. Hábitos de vida y riesgo a desarrollar cáncer colorrectal: OR crudo y ajustado e intervalos de confianza al 95%

Variable	Categoría	OR crudo (IC 95%)	OR ajustado (IC 95%)	Variabes incluidas en el ajuste
Actividad física	Si (Ref)	1	1	Confusión con variables consumo diario de alcohol y consumo diario de cigarrillo
	No	2,8 (1,3-6,3)*	1,2 (0,4-3,2)	
	No realiza (Ref)	1	1	
Nivel actividad física diario	Baja	0,5 (0,2-1,4)	1,1 (0,3-4,3)	Confusión con variables consumo diario de alcohol y consumo diario de cigarrillo
	Media	0,4 (0,1-1)	0,8 (0,3-2,6)	
	Alta	0,2 (0,1-0,8)*	0,8 (0,2-2,9)	
	No consume (Ref)	1	1	
Consumo de alcohol diario	Bajo (1 trago=14gr de alcohol)	0,6 (0,2-1,6)	0,5 (0,1-1,6)	Edad, estrato socioeconómico, ocupación, escolaridad, consumo diario de cigarrillo y antecedentes de cáncer en la familia
	Moderado (2 tragos)	0,8 (0,2-4)	0,5 (0,1-4,4)	
	Alto (>2 tragos)	9 (2,5-32,7)*	5,8 (1,3-26,7)*	
	No fuma (Ref)	1	1	
Consumo de cigarrillo diario	Leve (1-5 cigarrillos)	1,2 (0,4-3,4)	0,7 (0,2-2,9)	Edad, estrato socioeconómico, ocupación, escolaridad, consumo diario de alcohol y antecedentes de cáncer en la familia
	Moderado (6-15 cigarrillos)	4,9 (1,2-19,8)*	2,6 (0,4-15,9)	
	Severo (>15 cigarrillos)	11,4 (2,4-54,5)*	9,1 (1,2-70)*	

En la población de estudio, las personas con un consumo alto de alcohol o de cigarrillos tienen mayor probabilidad de desarrollar CCR, que los individuos que no beben o no fuman.

Estos resultados son respaldados por varias teorías y estudios de asociación del alcohol y cigarrillo con el cáncer de colon y recto.

Estudios como el de Moller y Potter en 1997 y 1999 respectivamente demostraron una asociación positiva entre el consumo de alcohol y el cáncer colorrectal asociado a la ingesta total de etanol independiente del tipo de bebida.

4.2.2.1 Modelo teórico de causalidad

El modelo teórico contiene 3 variables de exposición (actividad física, consumo de alcohol y tabaco) para la variable de respuesta (desarrollo de CCR), 6 covariables o potenciales confusores (edad, sexo, antecedentes familiares con cáncer, estrato socioeconómico, ocupación y nivel educativo) y 3 posibles rutas de causalidad entre la exposición y la respuesta. (Figura 6)

El ajuste mínimo necesario que se debe realizar para validar las rutas de causalidad es con las 6 covariables o potenciales confusores.

De ellas, el nivel educativo, estrato socioeconómico y la ocupación corresponden a los determinantes distales de la variable respuesta y en este estudio se propone que su efecto sobre el CCR está mediado por los hábitos de vida, pero que además se plantea un efecto directo sobre el desarrollo del CCR.

4.2.2.2 Conclusiones

Los resultados obtenidos en este estudio y lo observado en la literatura reafirman la relación entre los hábitos de vida y el desarrollo de cáncer colorrectal.

Estos hallazgos contribuirán a la formulación de un modelo de causalidad de CCR.

En dicho modelo, la población que tiene un consumo alto de alcohol, un consumo moderado y severo de cigarrillo constituye la población a intervenir con campañas de

prevención primaria para modificar a futuro el desarrollo del CCR, contribuyendo a la disminución de la incidencia y mortalidad por esta enfermedad en la población

Por tanto, es necesario promover campañas de sensibilización que permitan dar a conocer, el riesgo a desarrollar CCR causado por inadecuados hábitos de vida como el consumo de alcohol y tabaco.

Referencias del estudio.

- Viñes, J, Ardanaz E, Arrazola A, Gaminde I. Epidemiología clínica del cáncer colorrectal: La detección precoz. Departamento de Ciencias de la Salud. Universidad Pública de Navarra. *Cir Esp.* 2003, 73(1): 2-8
- Ferlay J, Soerjomataram I, Ervik M, Dikshit R, Eser S, Mathers C, Rebelo M, Parkin DM, Forman D, Bray, F. GLOBOCAN 2012 v1.0, Cancer Incidence and Mortality Worldwide: IARC CancerBase No. 11 [Internet]. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer; 2013, [2014 oct]. Available from: <http://globocan.iarc.fr>.
- Valadez E. El cáncer como enfermedad compleja: Redes y niveles de organización. [Tesis] México: Universidad Nacional Autónoma de México; 2007.
- Potter J. Diet and cancer: possible explanations for the higher risk of cancer in the poor. Cancer Prevention Research Program, Fred Hutchinson Cancer Research Center. *IARC Sci Publ.* 1997;138: 265-83.
- Galiano M. Cáncer colorrectal (CCR). *Rev Col Gastroenterol.* 2005;20(1).
- Potter J, Slaterry L, Gapstur. Colon Cancer: a review of the epidemiology. *Epidemiol Rev.* 1993; 15(2): 499 -545.
- Piñeros M, Ferlay J, Murillo R. Incidencia estimada y mortalidad por cáncer en Colombia, 1995-1999. Instituto Nacional de Cancerología, International Agency For Research On Cancer, Ministerio de la Protección Social. 2005.
- Ángel L, Giraldo A, Pardo C. Mortalidad por cánceres del aparato digestivo en Colombia entre 1980 y 1998. Análisis de tendencias y comparación regional". *Rev. Facultad de Medicina.* 2004;52(1): 19-37.
- Lambert R, Provenzale D, Ectors N, Vainio H, Atkin W, Wilson M. et al. Early diagnosis and prevention of sporadic colorectal cancer. *Endoscopy.* 2001; 33(12):1042-64.
- Winawer S, Fletcher R, Miller L, Godlee F, Stolar M, Mulrow C, et al. Colorectal cancer screening: clinical guidelines and rationale. *Gastroenterology.* 1997;112: 594-642.
- Registro Poblacional de Cáncer del Municipio de Pasto - Universidad de Nariño. Pasto (Colombia): 2014.
- IARC Working Group on the Evaluation of Cancer Preventive Agents. Weight control and physical activity. *IARC Sci Publ.* 2002.

- National Institute on Alcohol Abuse and Alcoholism [Internet]. USA: Disponible en: http://pubs.niaaa.nih.gov/publications/Practitioner/pocketguide/pocket_guide2.htm
- Londoño C, Rodríguez I, Gantiva C. Cuestionario para la clasificación de consumidores de cigarrillo (C4) para jóvenes. *Divers. Perspect. Psicol.* 2011; 7(2): 281-291.
- Greenland S, Pearl J, Robins JM. Causal diagrams for epidemiologic research. *Epidemiology.* 1999;10(1):37- 48.
- Glymour M. Using causal diagrams to understand common problems. Oakes JM, Kaufman JS, editors. *Methods in Social Epidemiology.* San Francisco CA: Wiley Imprint; 2006:387-422.
- Dallolio L, Bellocco R, Richiardi L, Fantini PM. Using directed acyclic graphs to understand confounding in observational studies. *Biomedical Statistics and Clinical Epidemiology.* 2009;3(2):89-96.
- Nelson R, Persky V, Turyk M. Determination of factors responsible for the declining incidence of colorectal cancer. *Dis Colon Rectum.* 1999(42):741-52.
- Park Y, Hunter DJ, Spiegelman D, Bergkvist L, Berrino F, Van den Brandt PA, et al. Dietary fiber intake and risk of colorectal cancer: a pooled analysis of prospective cohort studies. *JAMA.* 2005;294:2849-57.
- Pazos E. Incidencia y supervivencia del cáncer de colon y recto en la provincia de Tarragona (1980-1998). Tesis doctoral (Doctor en Medicina y cirugía). Universidad de Rovira i Virgili. Reus Tarragona. Facultad de medicina y ciencias de la salud. 2004.
- Moller H, Tonnesen H. Alcohol drinking, social class and cancer Social Inequalities and Cancer. IARC Scientific International Agency for Research on Cancer, Lyon. 1997: 251-63.
- Potter J. Colorectal Cancer: Molecules and Populations. *Journal of the National Cancer Institute.* 1999: 93(8):651-2.
- Fedirko V, Tramacere I, Bagnardi V. Alcohol drinking and colorectal cancer risk: an overall and doseresponse meta-analysis of published studies. *Annals of Oncology.* 2011;22(9):1958-1972.
- Moskal A, Norat T, Ferrari P, Riboli E. Alcohol intake and colorectal cancer risk: a dose-response metaanalysis of published cohort studies. *Int J Cancer.* 2007;120:664-71.

- Kune G, Vitetta L. Alcohol consumption and the etiology of colorectal cancer: a review of the scientific evidence from 1957 to 1991. *Nutrition and Cancer*. 1992;18(2): 97-111.
- Burke W, Petersen G, Lynch P, Botkin J. Recommendations for follow-up care of individuals with an inherited predisposition to cancer. *JAMA*. 1997; 277(11):915-919.
- Fung T, Frank B, Fuchs C, Giovannucci E, HunteStampfer, M Graham A, Colditz G, Willett W. Major dietary patterns and the risk of colorectal cancer in women. *Arch Intern Med*. 2003;163:309-314.
- Correa M, Gomes M. Colorectal cancer: Lifestyle and dietary factors. *Rev. Nutr. Hosp*. 2005;20(4): 235-241.
- Walter C, Willet T. Diet and cancer. *The Oncologist*. 2000;5: 393-404.
- Knekt P, Hakama M, Jarvinen R, Pukkala E, Heliovaara M. Smoking and risk of colorectal cancer. *British Journal Cancer*. 1998;78(1):136-39.
- Giovannucci E, Colditz G, Stampfer M, Hunter D, Rosner B, Willett W, et al. A prospective study of cigarette smoking and risk of colorectal adenoma and colorectal cancer in US women. *J Natl Cancer Inst*. 1994; 86(3):162-4.
- Correa M, Gomes M. Colorectal cancer: lifestyle and dietary factors. *Rev. Nutr. Hosp*. 2005;20(4): 235-241.
- Botteri E, Iodice S, Raimondi S, Maisonneuve P, Lowenfels AB. Cigarette smoking and adenomatous polyps: A meta-analysis. *Gastroenterology*. 2008;134:388-95

5. Conclusiones

Uno de los principales problemas a los que se enfrenta hoy en día la sociedad es a la lucha contra el cáncer.

Los tratamientos como la quimioterapia y la radioterapia, en muchas ocasiones llegan a curar un cáncer, destruyendo las células tumorales, pero también las células sanas.

Sin embargo, el tratamiento con dianas terapéuticas permite que el tratamiento sea dirigido contra las células cancerígenas de forma específica, no afectando a las células sanas.

En la actualidad, uno de los métodos más prometedores empleados en la prevención, progresión y propagación del cáncer son las terapias dirigidas.

Las terapias dirigidas contra el cáncer incluyen fármacos u otras sustancias para identificar y combatir tipos específicos de células cancerígenas, causando menos daño a las células sanas, lo que supondría un avance significativo con respecto a las terapias convencionales

Si bien el descubrimiento de ese tipo de terapias ha supuesto un gran adelanto, aún existen importantes limitaciones entre las que se encuentran las derivadas de la aparición de resistencias, así como la dificultad de identificación de dianas moleculares, lo que supondría un obstáculo importante en las primeras etapas del desarrollo de un nuevo tratamiento.

Por otro lado, las terapias dirigidas ocasionan ciertos efectos secundarios debido a la variabilidad interindividual que existe entre los distintos pacientes, pero no tan significativos como los derivados de las terapias convencionales.

Sin embargo, las ventajas priman sobre los inconvenientes, por lo que el largo y costoso trabajo de investigación y producción que conlleva el desarrollo de las terapias dirigidas se ve compensado por los resultados clínicos obtenidos de su aplicación en pacientes oncológicos

La FDA (Administración de Alimentos y Medicamentos) ha aprobado un gran número de terapias, pero existen otras que se encuentran aún en investigación, lo que plantea un

futuro prometedor en la cura del cáncer, pero a su vez implica la existencia de un largo camino por recorrer.

Sin duda el desarrollo de las terapias dirigidas arroja nuevas esperanzas para lograr la victoria definitiva en la batalla contra el cáncer.

6. Glosario

- **Diana terapéutica o células target:** moléculas o proteínas capaces de ser reconocidas por fármacos y producir una respuesta celular
- **Angiogénesis:** Proceso fisiológico que consiste en la formación de vasos sanguíneos nuevos a partir de los vasos ya existentes
- **Cáncer:** enfermedad en la que se observa un proceso descontrolado en la división de las células del cuerpo
- **Oncogén:** gen que por su gran capacidad de mutación o transformación induce a la formación de cáncer en una célula
- **Vía de señalización:** conjunto de moléculas de una célula que controlan conjuntamente una o más funciones. La primera molécula de la vía recibe una señal, y ésta activa a las otras moléculas
- **Estudio de cohortes:** estudio longitudinal en el que se hace una comparación de la frecuencia de cierta enfermedad entre dos poblaciones, una de las cuales está expuesta a un determinado factor de riesgo al que no está expuesta la otra
- **Terapia dirigida:** tipo de tratamiento del cáncer que actúa sobre los cambios que promueven el crecimiento, la división y diseminación de las células cancerosas
- **EGFR:** Factor de crecimiento epidérmico: es una glicoproteína que pertenece a la familia de receptores tirosín quinasa. Constituye una diana en la terapia de cáncer, mediante anticuerpos monoclonales e inhibidores de la actividad de los receptores tirosín quinasa
- **VEGF:** Factor de crecimiento endotelial: proteína señalizadora implicada en la vasculogénesis y en la angiogénesis
- **Apoptosis:** es una vía de destrucción o muerte celular programada o provocada por el mismo organismo, con el fin de controlar su desarrollo y crecimiento

- **Vía MAPK:** Mitogen-Activated Protein Kinases, o proteínas quinasas activadas por mitógenos es una ruta de transducción de señales

- **Quimioterapia:** uso de fármacos para destruir las células cancerosas

7. Bibliografía

1. Hanahan, D., y Weinberg, R. A. (2000) The hallmarks of Cancer. Cell 100, 57-70
2. Centro de investigación del cáncer CIC (5/05/17)
<http://www.cicancer.org/es/cascadas-y-redes-de-senalizacion-celular-rutas-y-redes>
3. <https://es.khanacademy.org/science/biology/cell-signaling/mechanisms-of-cell-signaling/a/intracellular-signal-transduction> (5/05/17)
4. Robinson, M. J., y Cobb, M. H. (1997) Mitogen -Activated Protein kinases pathways. Curr. Opin. Cell Biol. 9, 180-186.
5. <http://slideplayer.es/slide/3964234/> (7/05/17)
6. Hancock, J. F. (2003) Ras proteins: different signals from different locations. Nat Rev Mol Cell Biol 4, 373-384
7. Bos, J. L. (1989) Ras oncogenes in human cancer: a review. Cancer Res. 49, 4682-4689.
8. Resh, M. D. (2004) Membrane targeting of lipid modified signal transduction proteins. Subcell Biochem 37, 217-232
9. Wan, P. T., Garnett, M. J., Roe, S. M., Lee, S., Niculescu-Duvaz, D., Good, V. M., Jones, C. M., Marshall, C. J., Springer, C. J., Barford, D., y Marais, R. (2004) Mechanism of activation of the RAF-ERK signaling pathway by oncogenic mutations of B-RAF. Cell 116, 855-867
10. Sebolt-Leopold, J. S., y Herrera, R. (2004) Targeting the mitogen-activated protein kinase cascade to treat cancer. Nat Rev Cancer 4, 937-947
11. Casar, B., Pinto, A., y Crespo, P. (2008) Essential role of ERK dimers in the activation of cytoplasmic but not nuclear substrates by ERK-scaffold complexes. Mol Cell 31, 708-721
12. Beeran M, Patnaik A. Targeting intracellular signal transduction. A new paradigm for a brave new world of molecularly targeted therapeutics. Hematol Oncol Clin N Am 2002;16:1089-1100

13. Instituto Nacional del Cáncer (20/05/17)
<https://www.cancer.gov/espanol/cancer/tratamiento/tipos/terapia-dirigida/hoja-informativa-terapias-dirigidas>
14. Cripps MC, Figueredo AT, Oza AM, et al. Phase II randomized study of ISIS 3521 and ISIS 5132 in patients with locally advanced or metastatic colorectal cancer: a National Cancer Institute of Canada clinical trials group study. Clin Cancer Res 2002;8:2188-92
15. Instituto de técnicas avanzadas contra el cáncer ITACC (5/05/2017)
<http://itaccancer.es/es/noticias/dianas-terapeuticas-contra-el-cancer-como-funcionan>
16. Hidalgo M. Targeted therapies. Hematol Oncol Clin N Am 2002;16:XI-XIII.
17. Baselga J, Albanell J. Epithelial growth factor receptor interacting agents. Hematol Oncol Clin N Am 2002;16:1041-1063
18. <http://www.elsevier.es/pt-revista-offarm-4-articulo-cetuximab-13076827>
(10/05/17)
19. De Bono JS, Rowinsky EK. Therapeutics targeting signal transduction for patients with colorectal carcinoma. Br Med Bull; 2002;64:227-254
20. Fundación Instituto Roche (10/05/17)
https://www.instituto-roche.es/biotecnologia/72/principales_alteraciones_geneticas_en_el_cancer_colo_rectal
21. <http://aeeh.es/wp-content/uploads/2012/04/v9n5a632pdf001.pdf> (12/05/17)
22. NCBI - National Center for Biotechnology Information (10/05/17)
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2761407/>
23. Instituto Nacional del Cáncer (14/05/17)
<https://www.cancer.gov/espanol/cancer/tratamiento/tipos/inmunoterapia/hoja-informativa-inhibidores-angiogenesis#q1>
24. Kabbinavar F, Hurwitz HI, Fehrenbacher L, et al. Phase II, randomised trial comparing bevacizumab plus fluorouracil (5FU)/Leucovorin (LV) with 5FU/LV alone in patients with metastatic colorectal cancer. J Clin Oncol 2003;21:60-65
25. American cancer society (10/05/17)
<https://www.cancer.org/es/cancer/cancer-de-colon-o-recto/tratamiento/terapia-dirigida.html>
26. Toki AT, Masferrer JL. Celecoxib: A specific COX-2 inhibitor with anticancer properties. Cancer Control 2002; 9 (Suppl 2):28-35

27. Ferreira cg, Epping M, Kruyt FAE, et al. Apoptosis: target of cancer therapy. Clin Cancer Res 2002;8:2024-34
28. Artículo de revista Oncotarget (19/05/17)
<http://www.agenciasinc.es/Noticias/Nuevas-dianas-terapeuticas-para-el-cancer-colorrectal>