

Nuevas terapias moleculares del carcinoma hepatocelular

J.M. Llovet

BCLC Group. Servei d'Hepatologia. Hospital Clínic. IDIBAPS. Barcelona. España.
Mount Sinai Liver Cancer Program. Division of Liver Diseases. Mount Sinai School of Medicine. Nueva York. Estados Unidos.

INTRODUCCIÓN

La incidencia del carcinoma hepatocelular (CHC) se ha duplicado en las últimas 4 décadas en Estados Unidos y Europa. Esta dramática tendencia, atribuida al incremento de pacientes infectados por el virus de la hepatitis C (VHC), ha suscitado un mayor interés de la comunidad científica por esta neoplasia. Globalmente, es el quinto tumor con mayor incidencia, y la tercera causa de muerte atribuida al cáncer en el mundo¹. Es una de las pocas neoplasias en las se han identificado los factores etiológicos fundamentales. La cirrosis hepática, principalmente relacionada con la infección crónica por el virus de la hepatitis B (VHB) o el de la hepatitis C (VHC), es el principal factor de riesgo. En estos pacientes, la incidencia acumulada de CHC a los 5 años es del 15-20%². La aplicación de programas de vigilancia en pacientes de riesgo ha permitido que, actualmente, cerca del 30-40% de los pacientes se diagnostique en fases iniciales de la enfermedad, y sean tratados con intención radical¹. En estos momentos, el CHC es un problema de salud pública de primera magnitud, y las estimaciones son que su incidencia aumentará, tanto en Europa como en Estados Unidos.

La complejidad en el tratamiento del CHC se debe a que este tumor es único en cuanto a heterogeneidad de etiologías (infección por el VHC o el VHB, alcohol y otras) y distribución geográfica. Se presenta en la mayoría de los casos en el contexto de una cirrosis hepática, lo que complica la aplicación de criterios de selección terapéuticos y de inclusión en ensayos clínicos. Finalmente, es el único tumor sólido que puede tratarse mediante trasplante. Recientemente, se han producido avances en el conocimiento de la patogenia de esta enfermedad³⁻⁷, así como en su estrategia terapéutica^{1,2}, que proporcionan un nuevo contexto en el que explorar futuras alternativas terapéuticas.

AVANCES EN EL CONOCIMIENTO DE LA HEPATOCARCINOGENÉISIS

Algunos estudios recientes de genética y biología molecular han aportado una visión más exhaustiva y comprensible de las anomalías genéticas y las alteraciones reguladoras implicadas en el proceso tumoral³⁻⁷. Sin embargo, la utilidad de los estudios publicados sobre la patogenia molecular del CHC está limitada por diversos factores. En primer lugar, el análisis conjunto de tumores con distintas etiologías —y aparentemente distinta patogenia— puede dificultar la interpretación de los resultados, particularmente en estudios con tamaños de muestra modestos. En segundo lugar, el análisis genómico debe considerar los distintos estadios evolutivos en que se han recogido las muestras, considerando que aun con una patogenia común la evolución de la neoplasia induce alteraciones estructurales y desregulaciones de las vías de señalización no presentes en estadios iniciales. El 80% de los CHC asientan sobre el hígado cirrótico, por lo que es fundamental llevar a cabo un análisis metódico de la expresión génica en tejido normal, cirrótico, nódulo displásico y cáncer. La secuencia de eventos que determinan la hepatocarcinogénesis no se ha dilucidado por completo. Recientemente, se han caracterizado algunas alteraciones genéticas y se ha establecido el papel de varias vías de transducción de señales implicadas en la progresión y la diseminación de la neoplasia³⁻⁷.

Alteraciones genéticas y epigenéticas

Diversos factores etiológicos provocan continuos ciclos de daño y reparación de los hepatocitos que culminan en la enfermedad crónica del hígado. Los nódulos de regeneración hepáticos tienen características citológicas normales, en los que la desregulación de las vías de señalización mitogénicas inducen la selección de ciertos clones de células displásicas. Estos clones, organizados en nódulos displásicos y rodeados de un septo fibroso de tejido conectivo, tras ser expuestos a alteraciones genómicas adicionales, adquieren un fenotipo maligno. Recientemente, se ha sugerido que el origen celular del CHC puede ser no

Correspondencia: Dr. J.M. Llovet.
Profesor Investigación-ICREA.
Servei d'Hepatologia. Hospital Clínic.
Villaruel, 170. 08036 Barcelona. España.
Correo electrónico: jmllovet@clinic.ub.es

sólo hepatocitario, sino también de células madre o progenitoras⁸. Los mecanismos moleculares exactos implicados en todo este proceso aún se desconocen.

Las alteraciones genéticas pueden variar desde mutaciones puntuales hasta pérdida o ganancia de brazos cromosómicos. En el cáncer de hígado se han identificado alteraciones estructurales en áreas del genoma, que incluyen algunos genes, como los siguientes: *c-myc* (8q), *ciclina A2* (4q), *ciclina D1* (11q), *Rb1* (13q), *AXIN1* (16p), *p53* (17p), *IGFR-II/MP6* (6q), *p16* (9p), *E-cadherina* (16q), *SOCS* (16p) y *PTEN* (10q). Los genes más frecuentemente mutados en el CHC son *p53* y *B-catenina*^{5,7}. Las alteraciones cromosómicas en el CHC se han analizado mediante técnicas de hibridación genómica comparada, capaz de detectar amplificaciones/deleciones mayores de 10 Mb, y *high-density single nucleotide polymorphism* (SNP) arrays.

Alteraciones en el número de copias en el carcinoma hepatocelular

La alteración cromosómica más habitual en el CHC afecta al cromosoma 1q, con frecuencias de amplificación que oscilan entre el 58 y el 78%⁹. Otros brazos de cromosomas afectados con amplificaciones son 6p, 8q, 17q y 20q, y con deleciones 4q, 8p, 13q, 16q y 17p. Cabe destacar que áreas pequeñas del genoma pueden incluir decenas de genes candidatos. Conceptualmente, los genes situados en regiones de ganancia cromosómica con valores de expresión incrementados suelen ser oncogenes, mientras que los genes localizados en regiones de pérdida cromosómica son genes supresores de tumores.

Mutaciones puntuales

La mayoría de las mutaciones descritas en el CHC son somáticas, y entre éstas la más estudiada es p53. Este gen supresor está implicado en el control del ciclo celular, la reparación de ADN, la apoptosis y la diferenciación. Numerosos estudios sobre el CHC han constatado una tasa de mutación de p53 elevada en regiones de África y Asia, donde la exposición a aflatoxina es endémica. Esta toxina produce una mutación en *p53* en el codón 249. En los países occidentales, donde la ingesta de aflatoxina no es endémica, sólo se observan altas tasas de mutación de p53 en pacientes con CHC asociado a hemocromatosis. La pérdida de *p53* es un evento tardío en la hepatocarcinogénesis.

Alteraciones epigenéticas

El silenciamiento epigenético de la expresión de genes clave en la regulación de la proliferación, la diferenciación y la apoptosis es un fenómeno habitual en el cáncer. Se han observado patrones de metilación aberrantes durante el proceso de la carcinogénesis hepática. Una caracte-

rística de las células cancerosas es la presencia en el ADN de discretas áreas de densa hipermetilación sobre un fondo global de hipometilación. La hipermetilación afecta a islas CpG localizadas en las regiones promotoras y a intrones reguladores, particularmente en genes supresores de tumores, como *p16^{INK4a}*, *IGFR-II/MP6*, *BRCA1* y *E-cadherina*. El tratamiento con agentes demetilantes, que inhiben la metilación de islas CpG y permiten la re-expresión del gen supresor de tumores, puede resultar prometedor en la inhibición del crecimiento tumoral.

Inestabilidad genómica. Telómeros y telomerasa

El envejecimiento de las células somáticas se asocia con la reducción de la longitud de los telómeros debido a la incapacidad de las ADN polimerasas para replicar completamente el final del ADN cromosomal. El acortamiento en los telómeros es una característica clave durante la progresión de las enfermedades crónicas del hígado, que, en último término, provoca inestabilidad cromosómica, fusiones entre extremos de cromosomas y muerte celular. La reactivación de la telomerasa restablece la longitud de los telómeros e inmortaliza el fenotipo de las células. En un 90% de los CHC humanos se ha observado una reactivación de la actividad telomerasa¹⁰.

Principales alteraciones en las vías de señalización

El conocimiento de la cascada de eventos moleculares necesarios para el desarrollo del CHC, así como de las vías de señalización intracelular implicadas, es clave para identificar nuevas dianas terapéuticas. En la tabla I se describen las alteraciones publicadas en la transcripción y las mutaciones reportadas de genes clave pertenecientes a estas vías de señalización.

Wnt-β-catenina

La vía de señalización de Wnt es una vía muy conservada durante la evolución, implicada en la regulación de la proliferación, la motilidad, la interacción entre células, la organogénesis y la autorrenovación de células troncales pluripotentes. Se ha visto ampliamente implicada en la oncogénesis, y se ha sugerido que desempeñaría un papel en el mantenimiento de las células troncales cancerosas, por lo que los componentes de esta vía constituirían dianas ideales para la terapia contra el cáncer. Se han descrito 19 ligandos Wnt y 11 receptores transmembrana. En la vía canónica de Wnt, la cascada de señalización se inicia cuando los ligandos estimulan el receptor, Frizzled, y la señal desencadenada provoca la disociación de β-catenina de *E-cadherina*. Las proteínas supresoras AXIN1/2 y APC forman un complejo con la quinasa GSK-3β en el citoplasma promoviendo que β-catenina sea fosforilada, poliubiquitinada y, posteriormente, degradada por el proteosoma.

Diversos factores, como las mutaciones somáticas en APC, AXIN1/2, GSK-3 β o sobreexpresión del receptor FZD-7, pueden provocar un aumento de la biodisponibilidad de β -catenina, que transloca al núcleo y actúa como coactivador de factores de transcripción de la familia TCF/LEF, regulando la actividad de genes de proliferación (*c-myc*), antiapoptosis (*survivina*), angiogénesis (*VEGF*), metástasis (*MMP*) y ciclo celular (*ciclina D*). En el CHC, la tasa de mutación de β -catenina es del 0-44%, mientras que las mutaciones en APC, AXIN1 y AXIN2 son más raras⁵. La activación de esta vía es evidente en al menos un tercio de los tumores, en los que se observa acumulación nuclear de β -catenina o sobreexpresión del receptor FZD-7¹¹.

Hedgehog

Esta vía de señalización es fundamental en procesos de diferenciación celular, regeneración y biología de las células troncales. La activación de la vía Hedgehog se ha asociado con el desarrollo de diversos tumores sólidos esporádicos de: páncreas, pulmón, próstata y meduloblastoma. Estudios recientes sugieren un posible papel de esta vía en el CHC. Se ha descrito una expresión de *Sonic* e *Indian Hedgehog* en CHC humanos y una infraexpresión de genes diana asociados a Gli tras el bloqueo específico de la vía. Además, la actividad de Smo puede provocar una sobreexpresión de *c-myc*, que ejerce un papel importante en la carcinogénesis hepática.

Insulin-like growth factor

Es uno de los mensajeros secundarios más importantes de la hormona del crecimiento durante la infancia y la adolescencia. La familia del *insulin-like growth factor* (IGF) comprende dos ligandos (IGF-I y IGF-II), 2 receptores (IGFR-I y IGFR-II/M6P) y 6 proteínas de unión (IGFBP1-6). La activación de IGF-I induce la activación de vías de señalización MAPK, y PI3K/AKT/GSK-3 β y la activación transcripcional de diferentes genes diana, como *p27^{kip1}*, *myc*, *fos*, *ciclina B* y *VEGF*. Los modelos transgénicos sugieren que los oncogenes clave de la vía son *IGF-1R* y *IGF-II*, puesto que su sobreexpresión tejido-específica induce tumores de mama y de pulmón.

La expresión del gen *IGF-II* está aumentada en el 16-40% de los CHC humanos. El receptor IGFR-II/M6P no tiene actividad tirosinasa; su función consiste en unir y degradar IGF-II, y se considera un gen supresor de tumores. En un 25% de los casos de CHC se observa una pérdida de heterocigosidad en el locus *igfr-2* (6q) junto con mutaciones que inactivan el segundo alelo.

Factor de crecimiento epidérmico

El receptor del factor de crecimiento epidérmico (*epidermal growth factor* [EGFR]) es miembro de una familia

TABLA I. Alteraciones en la expresión y mutaciones puntuales descritas en genes asociados a hepatocarcinogénesis

Función	Gen	Expresión	Mutación
Factores de crecimiento y receptores	<i>IGF-II</i>	Incrementada	
	<i>IGFR-II (M6PR)</i>	Disminuida	
	<i>EGF</i>	Incrementada	
	<i>EGFR</i>	Incrementada	0%
	<i>TGF-alpha</i>	Incrementada	
	<i>K-RAS</i>	-	3-42%
	<i>HGF/c-MET</i>	Incrementada	
Proliferación y diferenciación	<i>PIK3CA</i>	-	0-35%
	<i>PTEN</i>	Disminuida	0-11%
	β -catenina	Incrementada	0-44%
	<i>E-cadherina</i>	Disminuida	
	<i>c-myc</i>	Incrementada	
Angiogénesis	<i>VEGF</i>	Incrementada	
	<i>VEGFR-2</i>	Incrementada	
	<i>Angiopietina-2</i>	Incrementada	
Metástasis	<i>MMP-14</i>	Incrementada	
	<i>MMP-9</i>	Incrementada	
	<i>Topoisomerasa 2A</i>	Incrementada	
	<i>Osteopontina</i>	Incrementada	
Ciclo celular	<i>Rb</i>	Incrementada	
	<i>ciclina D1</i>	Disminuida	
	<i>p53</i>	Disminuida	0-67%
	<i>p16</i>	Disminuida	
	<i>p27^{kip}</i>	Disminuida	
	<i>Survivina</i>	Incrementada	

Modificada de Villanueva et al⁷.

de 4 receptores relacionados (ErbB1-ErbB4) que, tras interactuar con el ligando, desencadenan una actividad tirosinasa y el inicio de una cascada de transducción de señales intracelulares. Los receptores EGF participan en la compleja regulación de procesos biológicos esenciales, como proliferación celular y supervivencia. Diversos datos sugieren una activación de la vía de EGFR en el CHC, ya sea por sobreexpresión de los ligandos específicos o de sus receptores, u otros mecanismos, como amplificaciones estructurales¹². Se han descrito ganancias en 17p, cromosoma en el que reside el locus *HER2/neu*. La sobreexpresión de EGFR y HER2, que se ha visto correlacionada con un fenotipo tumoral más agresivo con altos valores de proliferación, metástasis intrahepáticas y desdiferenciación tumoral, ha sido el punto de partida para el desarrollo de diversos antagonistas de EGFR, algunos de los cuales han sido aprobados en la práctica clínica.

El factor de crecimiento tumoral (TGF) α y el EGF, ligandos de los receptores ErbB, actúan como potentes mitógenos. El factor TGF α promueve neoangiogénesis, supervivencia y proliferación de las células tumorales, indirectamente a través de la inducción del factor de crecimiento del endotelio vascular (VEGF). Los CHC son tumores muy vascularizados que muestran una sobreexpresión de VEGFR, en los que su bloqueo se ha probado efectivo in vitro. Asimismo, la inhibición de EGFR mediante anticuerpos monoclonales reduce la expresión de VEGF en líneas tumorales epiteliales y provoca una disminución del crecimiento tumoral y de la angiogénesis asociada en un modelo de xenoinjerto de células tumorales humanas.

Vía de señalización de PI3K/AKT/mTOR

Muchos factores de crecimiento celular y citocinas activan esta vía de señalización, cuyo mensajero secundario principal, fosfatidilinositol-3,4,5-trifosfato (PIP3), activa AKT/proteincinasa B (PKB). Akt fosforiliza a su vez numerosos genes diana que regulan la transcripción de proteínas reguladoras del ciclo celular y, por tanto, promueven la progresión del ciclo celular. PI3K es un heterodímero que consta de una subunidad catalítica (p110 α , p110 β o p110 γ) asociada a una subunidad reguladora (p85 α , p85 β o p55 γ). *PIK3CA*, que codifica p110, está frecuentemente mutado en el cáncer; sin embargo, en el CHC los datos obtenidos no son concluyentes. *PTEN* es un gen supresor de tumores, mutado o deletado en muchos cánceres, y cuya expresión está disminuida en tumores avanzados. Al igual que en otras neoplasias, en la inactivación de *PTEN* pueden estar implicados algunos mecanismos epigenéticos (metilación de islas CpG), así como pérdidas de heterocigosidad en 10q, la región cromosómica en la que reside *PTEN*. Finalmente, un mediador importante de la vía de señalización de PI3K/Akt es mTOR, que actúa como regulador en el crecimiento celular y la proliferación, el sensor del estatus nutricional, y permite la progresión de la fase G1 a S. Esta vía está activada en al menos un 20% de los CHC^{11,13}.

PERSPECTIVAS DE TRATAMIENTO: TERAPIA MOLECULAR

A pesar de los recientes avances en el diagnóstico precoz del CHC, sólo un 30-40% de los pacientes son finalmente subsidiarios de un tratamiento con intención curativa¹. Entre estos tratamientos se encuentran la resección quirúrgica, el trasplante ortotópico hepático (TOH) y los tratamientos percutáneos. En pacientes bien seleccionados, tanto el TOH como la resección hepática ofrecen una tasa de supervivencia del 70% a los 5 años, alcanzándose cifras del 50% con los tratamientos percutáneos¹. En estos casos, se asume que los tratamientos cambian la historia natural de la enfermedad.

En los últimos 25 años, se han evaluado múltiples agentes antitumorales en pacientes con tumores más avanzados. Se han publicado unos 80 ensayos clínicos controlados, que evalúan la quimioembolización, la quimioterapia intraarterial o sistémica, los tratamientos hormonales o inmunomoduladores y la radioterapia interna o externa¹⁴. Sólo recientemente se han publicado los efectos significativos sobre la supervivencia en pacientes tratados con quimioembolización con gelfoam y doxorubicina o cisplatino, en comparación con un grupo control. Estos efectos positivos se han confirmado en un metaanálisis posterior^{14,15}. Por tanto, la quimioembolización se ha propuesto como tratamiento estándar para los pacientes en estadios intermedios de la enfermedad –estadio B de la clasificación BCLC– (tumores multinodulares asintomáticos sin invasión vascular), sobre todo si presentan un funcionamiento hepatocelular preservado (Child-Pugh A). Estos pa-

cientes presentan una mejoría en la mediana de supervivencia: de los 15-16 meses descritos en la historia natural a 18-20 meses tras el tratamiento con quimioembolización. La investigación en esta área debe centrarse en evaluar la utilidad de la combinación de tratamientos o de nuevas pautas terapéuticas.

Los pacientes con CHC avanzado, definido según la clasificación BCLC como estadio C, es decir, con tumor sintomático (ECOG 1-2) o invasión vascular/enfermedad extrahepática, no tienen primera opción terapéutica aprobada por las agencias reguladoras (FDA, EMEA). Esta situación es única en oncología, y constituye una prioridad sanitaria de primera magnitud. Es urgente identificar los nuevos tratamientos que puedan ser evaluados en el contexto de ensayos clínicos controlados en estos pacientes. Únicamente los ensayos clínicos en fase III bien diseñados permitirán modificar las pautas de tratamiento estándar y, por tanto, cambiar las estrategias terapéuticas aprobadas por las sociedades científicas o las agencias reguladoras del medicamento.

Terapia molecular: desde la biología molecular al tratamiento

La reciente explosión de alternativas terapéuticas moleculares en oncología, asociada al mejor conocimiento de la patogenia del CHC, abre una expectativa esperanzadora en el tratamiento de esta enfermedad. El apartado anterior resume la patogenia del CHC y las dianas moleculares conocidas. Seguidamente, analizaremos los tratamientos moleculares que se han evaluado en el contexto de ensayos clínicos en fases II y III (tabla II). En principio, la mayoría de los tratamientos pretende el bloqueo de las vías de señalización que inducen la proliferación celular y la supervivencia, o de las que inhiben la apoptosis. Alternativamente, otros tratamientos bloquean los factores necesarios para el crecimiento y la diseminación de la enfermedad (p. ej., angiogénesis, activación de la telomerasa), aunque no estén relacionados con el origen del tumor. Ningún agente molecular ha sido aprobado por las agencias reguladoras para uso clínico en el CHC. Recientemente, el mecanismo de acción de estos fármacos se ha revisado con amplitud¹⁶⁻¹⁸.

Inhibidores de los receptores tirosincinasa

La mayoría de los agentes actualmente en desarrollo bloquean los receptores de la tirosincinasa de la membrana celular. Como se ha descrito anteriormente, los ligandos para dichos receptores son EGF, PDGF, VEGF y HGF, entre otros. Estos ligandos activarán las vías de señalización de Ras/Raf/Erk/MAPK, que provocarán, a su vez, la activación de los factores de transcripción c-fos y c-jun, induciendo proliferación celular¹² (fig. 1). Mutaciones somáticas de los receptores –particularmente EGFR– también pueden activar constitutivamente la vía de señalización. Asimismo, la infraexpresión de tumores supresores,

TABLA II. Agentes moleculares actualmente en estudio en el contexto de estudios en fase II o III en el carcinoma hepatocelular

Fármaco	Mecanismo de acción	Fase
Inhibidores de tirosincinasas		
Sorafenib	Inhibidor del RAF/VEGF (TKI)	III
Erlotinib/gefitinib	Inhibidor del EGFR (TKI)	II
Erlotinib + bevacizumab	Inhibidor del EGFR (TKI), inhibidor VEGF	II
Cetuximab	Inhibidor del EGFR (Ac)	II
Lapatinib	Inhibidor del EGFR/Her2/Nu (TKI)	II
Sunitinib	Inhibidor del PDGFR/VEGFR/KIT (TKI)	II
Agentes antiangiogénicos		
Bevacizumab	Inhibidor VEGF (Ac)	II
Thalidomide	Antiangiogénico	III
Otras terapias moleculares		
Bortezomib	Inhibidor del proteasoma	II
Nolatrexed	Thymidylate synthase	II (negativo)
T138067	Inhibidor de la tubulina	III (negativo)

TKI: inhibidor de la tirosincinasas; Ac: anticuerpo monoclonal.

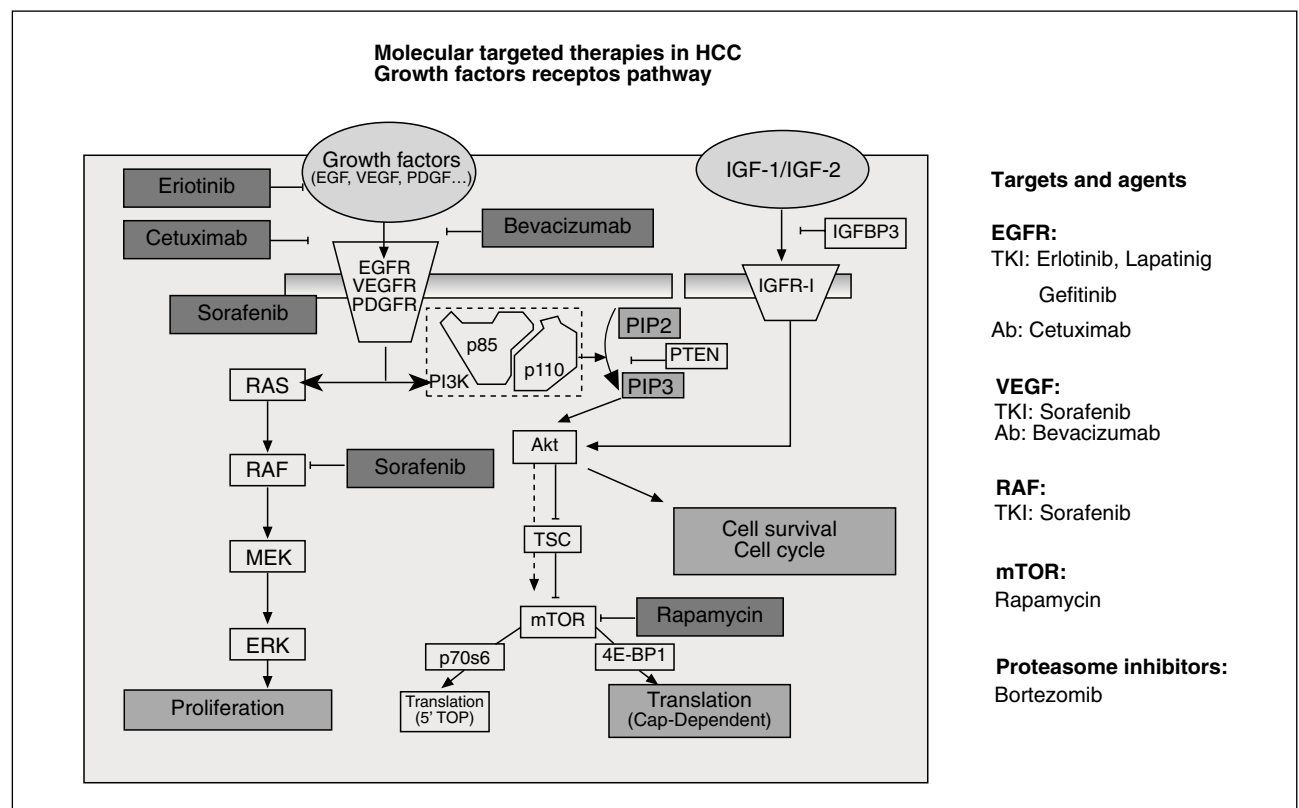


Fig. 1. Esquemización de la vía de señalización de receptores tirosincinasas: PI3k/Akt –que genera principalmente señales de supervivencia– y Ras/MAPK –que genera señales de proliferación–. Se mencionan los principales agentes inhibidores evaluados en el carcinoma hepatocelular. (Cortesía de A. Villanueva.)

como NORE1, es casi universal en estadios avanzados de la enfermedad. Alternativamente, estos factores de crecimiento pueden inducir la vía de señalización de PI3k/mTOR, que tiene unos inhibidores específicos, como veremos más adelante¹³.

El bloqueo de la activación de esta vía puede conseguirse mediante anticuerpos monoclonales contra el receptor EGFR1 (cetuximab), Her-2/un (trastuzumab), o ambos (lapatinib). Cetuximab (Erbix[®]) está aprobado por la FDA para el tratamiento del cáncer de colon, y trastuzu-

mab (Herceptin[®]) para el cáncer de mama metastásico. Alternativamente, se puede inhibir la activación de esta vía mediante inhibidores tirosincinasa contra EGFR1, como erlotinib (Tarceva[®]) o gefitinib (Iresa[®]). Erlotinib es útil en el tratamiento del cáncer de pulmón (NSCLC) avanzado. Estudios experimentales in vitro han demostrado una actividad antitumoral de erlotinib en líneas celulares de CHC, y de gefitinib en la prevención del desarrollo de CHC en ratas cirróticas. Erlotinib se ha evaluado en pacientes con CHC en estadio intermedio-avanzado, y

en un estudio en fase II realizado en 38 pacientes ha mostrado una estabilidad tumoral de más de 4 meses en la mitad de los casos¹⁹. Actualmente se está evaluando la combinación de erlotinib con un anticuerpo monoclonal contra VEGF, bevacizumab. A pesar de que las mutaciones de Her-2/un son escasas en el CHC, el uso de fármacos que bloqueen los 2 receptores de EGFR han mostrado resultados esperanzadores en estudios preclínicos, y se están evaluando en la actualidad en estudios en fase II (lapatinib).

Sorafenib es un inhibidor de múltiples cinasas de membrana o citoplasmáticas, como Raf, VEGF-2, c-Kit y p38. Este fármaco aumenta la supervivencia libre de progresión en el cáncer de riñón, indicación para la que recientemente se ha aprobado su uso. Los resultados preclínicos muestran una actividad antitumoral en modelos animales *xenograft* de CHC. En cuanto a los ensayos clínicos, el estudio en fase II con 137 pacientes mostró una estabilidad de la enfermedad durante más de 4 meses en el 35% de los pacientes, y repuestas parciales/menores en el 10%²⁰. Los pacientes con activación de Ras/MAPK (demostrada mediante positividad para la tinción de pERK) presentaron un TTP (*time to progression*) de 178 días, frente a sólo 46 días en los pacientes sin activación evidente de Ras/MAPK. Sorafenib es el único inhibidor de tirosincinasa que se ha evaluado en Occidente en un estudio en fase III como tratamiento primario en una población de 560 pacientes con CHC avanzado, y como tratamiento adyuvante de la quimioembolización en una población de 400 pacientes con CHC intermedio en Japón. Los resultados finales del primer estudio estarán disponibles durante 2007.

Se han identificado otras dianas terapéuticas en las vías de señalización de EGFR/Ras/MAPK y la familia de IGFR. Sin embargo, los fármacos que las inhiben están aún en fase preclínica.

Inhibidores de PI3K/Akt

Cerca de una cuarta parte de los pacientes con CHC presentan una activación de la vía de PI3k/Akt, demostrada por la presencia de una intensa fosforilización de Akt en el estudio inmunohistoquímico. Esta activación puede ser el resultado de un incremento en la señal producida por la sobreexpresión de ligandos como EGF, IGF-1 o IGF-2, o alternativamente como resultado de la presencia de mutaciones puntuales que activan oncogenes (PI3K) o inactivan tumores supresores (PTEN). La activación de akt induce la inhibición de la apoptosis por diversos mecanismos, y aumenta la supervivencia celular. La principal de esas vías está canalizada a través de las proteínas mTOR y S6. El fármaco inhibidor fundamental de mTOR es rapamicina, que ha mostrado ser efectiva en estudios con líneas celulares de CHC. Asimismo, algunos autores han sugerido que este fármaco, usado también como inmunosupresor tras el trasplante hepático, inhibiría el crecimiento de las células neoplásicas tras el trasplante en pacientes con CHC. La solidez de esa hipótesis no se ha

sustentado con datos clínicos convincentes. En la actualidad, se han diseñado ensayos clínicos en fase III para evaluar el efecto antitumoral de rapamicina en pacientes con CHC tratados mediante trasplante hepático. Los estudios con everolimus y temsirolimus para el tratamiento del CHC primario están aún en fases preclínicas.

Inhibidores de la angiogénesis

El CHC es un tumor característicamente hipervasculoso. Este hecho está presente ya en fases iniciales de la enfermedad, cuando el diámetro tumoral es inferior a 2 cm. De hecho, las técnicas modernas de imagen mediante resonancia magnética pueden establecer actualmente el diagnóstico no invasivo inequívoco de CHC en un tercio de los tumores de 1-2 cm. Este hecho se acompaña característicamente de la sobreexpresión de factores proangiogénicos, como VEGF, angiopoyetina 2 y PDGF. Algunos estudios han sugerido, incluso, que los valores plasmáticos aumentados de VEGF son un factor de mal pronóstico. Estos datos proporcionan la base racional para utilizar fármacos antiangiogénicos en el CHC, ya sean anticuerpos monoclonales (bevacizumab) o inhibidores de la tirosincinasa (sunitinib, sorafenib).

Bevacizumab (Avastin[®]) es un anticuerpo monoclonal humanizado que está aprobado para el tratamiento de las metástasis hepáticas, y para el cáncer de mama. El único estudio reportado en fase II en tumores hepáticos muestra una aceptable actividad antitumoral, con un 10% de respuestas objetivas y casi un 60% de enfermedad estable durante más de 4 meses. Sin embargo, 5 de los 33 pacientes tratados presentaron efectos adversos relevantes, y se ha llegado a producir en 1 de estos casos el fallecimiento como resultado de una hemorragia digestiva.

Los inhibidores de la tirosincinasa VEGF que se están evaluando actualmente son sorafenib (en fase III), sunitinib (en fase II) y BMS-582664 (en fase II). Sunitinib es un inhibidor multicinasa, actualmente en fase de evaluación en pacientes con CHC, que se ha aprobado por el mecanismo acelerado de la FDA en función de los resultados de respuesta antitumoral en el cáncer de riñón. Otros fármacos con mecanismos de acción más complejos, como la talidomida, que actúa directamente sobre la célula endotelial, se están evaluando en estudios en fase III en Taiwán, a pesar de que los datos de estudios en fase II son desalentadores en Occidente.

Otros agentes moleculares

A pesar de que la vía canónica de Wnt está activada en al menos un 30% de los pacientes con CHC¹¹, no hay fármacos que bloqueen efectivamente su activación sin la producción de efectos adversos relevantes. Las dianas extracelulares de la vía de Wnt son múltiples (tanto ligandos Wnt, como receptores *frizzles*). Algunos estudios preclínicos han mostrado una actividad con el fármaco ICG-001 que bloquea la transcripción de genes tras la translocación

ción de β -catenina al núcleo. Asimismo, cobran importancia los fármacos que inhiben la activación del proteasoma, impidiendo, por ejemplo, la eliminación del oncogén *NF- κ B*. Los resultados del ensayo en fase II con bortezomib (Velcade®), actualmente aprobado para el tratamiento del mieloma, no han sido muy alentadores. Finalmente, la telomerasa se considera una diana adecuada para testar los agentes biológicos, asumiendo que no está usualmente expresada en células normales y que su activación es imprescindible para la inmortalidad de las células neoplásicas. No hay agentes biológicos útiles contra esta diana, aunque actualmente se están evaluando vacunas para inmunizar contra el TERT en el contexto de ensayos clínicos en fase II.

Diseño de ensayos clínicos con las terapias moleculares

El mecanismo de acción de los agentes biológicos contra dianas moleculares ha originado un debate sobre los objetivos principales y secundarios de los ensayos clínicos controlados. Es obvio que el efecto principalmente citotático de estos agentes impide utilizar la respuesta terapéutica como objetivo principal de los estudios en fase II. De hecho, se han demostrado mejoras en la supervivencia de los pacientes con el uso de bevacizumab en las metástasis hepáticas, de erlotinib en el cáncer de pulmón avanzado y de sorafenib en el cáncer de riñón, con respuestas objetivas inferiores al 10%. Por tanto, en la actualidad se considera más adecuado adoptar un objetivo que capte mejor los beneficios inherentes a la obtención del control de la enfermedad tumoral durante períodos clínicamente relevantes. Estos objetivos tienen que ser dependientes del tiempo (*time to event*). La supervivencia libre de progresión se considera el objetivo más adecuado en la mayoría de cánceres, aunque es demasiado vulnerable en el área del CHC, puesto que combina 2 eventos, progresión y muerte de cualquier etiología. Por ello, una conferencia reciente de expertos en diseño de ensayos clínicos en CHC ha recomendado el uso de *time to progression* (tiempo entre la inclusión en el estudio y la progresión radiológica de la enfermedad) como objetivo prioritario en estudios en fase II, y la supervivencia como objetivo irrenunciabile en estudios en fase III.

BIBLIOGRAFÍA

1. Llovet JM, Burroughs A, Bruix J. Hepatocellular carcinoma. *Lancet*. 2003;362:1907-17.
2. Bruix J, Sherman M. Management of hepatocellular carcinoma. *Hepatology*. 2005;42:1208-36.
3. Farazi P, DePinho R. Hepatocellular carcinoma pathogenesis: from genes to environment. *Nature Rev*. 2006;6:674-87.
4. Thorgeirsson S, Grisham J. Molecular pathogenesis of human hepatocellular carcinoma. *Nature Genetics*. 2002;31:339-46.
5. Bruix J, Boix L, Sala M, Llovet JM. Focus on hepatocellular carcinoma. *Cancer Cell*. 2004;5:215-9.
6. Lemmer E, Friedman S, Llovet JM. Molecular diagnosis of chronic liver disease and hepatocellular carcinoma: the potential of gene expression profiling. *Semin Liv Dis*. 2006;26:373-84.
7. Villanueva A, Newell P, Chiang D, Friedman S, Llovet JM. Genes and signaling pathways involved in the pathogenesis of HCC. *Semin Liver Dis*. En prensa 2007.
8. Lee JS, Heo J, Libbrecht L, et al. A novel prognostic subtype of human hepatocellular carcinoma derived from hepatic progenitor cells. *Nat Med*. 2006;12:410-6.
9. Moynadeh P, Brehahn K, Stutzer H, Schirmacher P. Chromosome alterations in human hepatocellular carcinomas correlate with aetiology and histological grade: results of an explorative CGH meta-analysis. *Br J Cancer*. 2005;92:935-41.
10. Satyanarayana A, Manns MP, Rudolph KL. Telomeres and telomerase: a dual role in hepatocarcinogenesis. *Hepatology*. 2004;40:276-83.
11. Boyault S, Rickman DS, De Reynies A, Balabaud C, Rebouissou S, Jeannot E, et al. Transcriptome classification of HCC is related to gene alterations and to new therapeutic targets. *Hepatology*. 2007;45:42-52.
12. Calvisi DF, Ladu S, Gorden A, Farina M, Conner EA, Lee JS, et al. Ubiquitous activation of Ras and Jak/Stat pathways in human HCC. *Gastroenterology*. 2006;130:1117-28.
13. Villanueva A, Peix J, Di Feo A, Chen Y, Lemmer E, Van Laarhoven S, et al. Molecular targeted therapy of hepatocellular carcinoma with a dual tyrosine kinase receptor inhibitor (AEE788) and an mTOR inhibitor (everolimus) [abstract]. *Hepatology*. 2006.
14. López P, Villanueva A, Llovet JM. Up-dated systematic review of randomized controlled trials in hepatocellular carcinoma. 2002-2005. *Aliment Pharmacol Ther*. 2006;23:1535-47.
15. Llovet JM, Bruix J. Systematic review of randomized trials for unresectable hepatocellular carcinoma: chemoembolization improves survival. *Hepatology*. 2003;37:429-42.
16. Roberts LR, Gores GJ. Hepatocellular carcinoma: molecular pathways and new therapeutic targets. *Semin Liver Dis*. 2005;25:212-25.
17. Thomas MB, Abbruzzese JL. Opportunities for targeted therapies in hepatocellular carcinoma. *J Clin Oncol*. 2005;23:8093-108.
18. Palmer D, Hussain S, Johnson P. Systemic therapies for hepatocellular carcinoma. *Expert Opin Invest Drugs*. 2004;13:1555-68.
19. Philip PA, Mahoney MR, Allmer C, Thomas J, Pitot HC, Kim G, et al. Phase II study of Erlotinib (OSI-774) in patients with advanced hepatocellular cancer. *J Clin Oncol*. 2005;23:6657-63.
20. Abou-Alfa GK, Schwartz L, Ricci S, Amadori D, Santoro A, Figer A, et al. Phase II study of sorafenib in patients with advanced hepatocellular carcinoma. *J Clin Oncol*. 2006;24:4293-300.