

# **Clasificación molecular del carcinoma hepatocelular: pasos preliminares en medicina personalizada – Augusto Villanueva – Hospital Clinica Barcelona**

## Temario

Carcinoma hepatocelular: dónde mejorar?

Patogénesis molecular: clasificación molecular – predicción de pronóstico; vías de señalización – nuevas dianas.

Medicina personalizada en carcinoma hepatocelular: retos.

## Epidemiología del cáncer hepatocelular en el mundo

Ocurren 748 mil casos por año con 695 mil muertes. En varones es la 5ta causa de incidencia y segunda de muerte. En Mujeres es la 7 causas de incidencia y 6 de muertes. Aproximadamente el 90% de los cánceres primarios en el hígado son carcinomas hepatocelulares. En conjunto, el carcinoma hepatocelular (HCC) constituye la 3ra causa de muerte por cáncer en el Mundo, y el segundo tumor más letal, después del carcinoma de páncreas, con una supervivencia a 5 años de tan solo 8.9%. En los Estados Unidos ha habido un incremento en la mortalidad de 1990 a 2005 del 47%.

## Etiología del HCC

La causa más importante de HCC en el Mundo es la infección crónica por hepatitis B que afecta a aproximadamente 2 billones de personas, se cronifica en aproximadamente el 10% de los afectados, y explica aproximadamente 320 mil muertes por año, entre 30% y 50% por HCC. Otra causa importante es la infección por Hepatitis C que afecta a aproximadamente 170 millones de personas en el Mundo, 60-70% se cronifican y 20% progresa a cirrosis. Aproximadamente 2.5% de las cirrosis por hepatitis C desarrollan carcinoma hepatocelular, constituyendo la causa más importante de esta enfermedad en los países avanzados. La cirrosis alcohólica y la intoxicación por Aflatoxina B1 también son causas importantes de HCC. En los Estados Unidos ha habido un gran incremento en la obesidad que se evidencia en dos mapas mostrados. Actualmente, aproximadamente 25% de los norteamericanos son obesos con un BMI mayor de 30. Hay una relación entre el HCC y la esteatohepatitis no alcohólica (NASH). Los pacientes con cirrosis por NASH tienen un riesgo de HCC del 2.6%, comparado con 4% cuando la etiología es HCV. Con el uso de estatinas se disminuye el riesgo (Ascha, et al. Hepatology, 2010; Tsan et al, JCO 2012).

## Tratamiento

Como la cirrosis es una precondition para la mayoría de los HCC, para definir el tratamiento debemos tener en cuenta la severidad de la misma, ya que la extensión de la enfermedad sola es insuficiente. Es así que se han creado diferentes clasificaciones que incorporan la extensión del HCC y la severidad de la cirrosis. La más utilizada en España es creada en el Hospital Clinic de Barcelona BCLC (EASL/EOARTC HCC Management Guidelines – J Hepatol 2012).

## Terapia dirigida

Los estudios SHARP y Asia-Pacífico demostraron el beneficio de la terapia con Sorafenib en pacientes con HCC avanzado, incrementando la supervivencia en 2-4 meses ((Llovet et al, NEJM, 2008; Cheng et al. Lancet Oncol 2009). Desafíos clínicos en HCC: Mayor mortalidad, cambio en la etiología (NASH), diagnóstico preciso de HCC pequeño o temprano; predicción del pronóstico; mejorar desenlaces en HCC avanzado.

Patogénesis molecular – Clasificación molecular con predicción del pronóstico.

Ha sido difícil establecer la clasificación molecular de los HCC, pues varios grupos que han analizado su biología molecular han encontrado resultados dispares. El Dr. Villanueva resalta dos estudios importantes en el tema, de los que él también es autor:

En el primer estudio publicado por Chiang DY, et al en 2008 (Cancer Res 2008; 68(16) 6779 – 6788) busca los driver genes de 108 pacientes con HCC relacionado con hepatitis C. La gran mayoría son cánceres tempranos (estadios 0 o A del BCLC). Se les realiza una evaluación exhaustiva con múltiples técnicas, con alta sensibilidad para identificar alteraciones en el VEGF. Si bien logran encontrar sobre-expresión del VEGFA en un porcentaje de pacientes, no alcanza al 10%, asociados a alteraciones en el Cromosoma 6p. La mayoría de los HCC exhibieron ganancia de 1q, 8q y pérdida de 8p. Y se establecieron 4 subgrupos distintos de perfiles de expresión de mRNA que son: CTNNB1 (de la vía WNT / Beta Catenina), Proliferación (caracterizada por activación del IGF-1R, RPS6 – de la vía PI3k/AKT/mTOR), Sobreexpresión de genes relacionados con IFN, Polisomía 7 que le confiere un mal pronóstico – sin que se haya podido identificar el gen dominante. Otros estudios muestran que cuando se analiza la expresión de miRNA se observa que hay miRNA-26<sup>a</sup> y el miRNA-517<sup>a</sup> también son pronósticos.

En el de Hoshida Y, et al. (Cancer Res 2009; 69: (18) 7385 – 7392) realizan un análisis exhaustivo del transcriptoma de 603 pacientes de 8 diferentes data-sets en el Mundo, con validación en 118 muestras tisulares en parafina de otro grupo de pacientes independiente. Utilizando biología de sistemas se lograron identificar tres subtipos de HCC denominados S1 a S3. El grupo S1 se caracteriza por una activación aberrante de la vía WNT. El grupo S2 se caracteriza por un perfil proliferativo con activación del MYC y AKT. El grupo S3 se caracteriza por alteraciones en la diferenciación de hepatocito. Al explorar la activación del WNT de los HCC S1 encontramos que no hay la esperada mutación de la Beta Catenina, sino que la activación de la vía WNT es mediatizada por la sobre expresión de la vía TGF Beta. La mutación de la Beta Catenina se observa en un subgrupo del S3. Otras observaciones importantes es que el subgrupo S3 se asocia a tumores más pequeños, bien diferenciados, con una supervivencia mayor, actividad intacta del p53, y con fenotipo similar a los hepatocitos normales. El subgrupo S2 se caracteriza por unos niveles muy elevados de Alfa feto proteína y expresión de EpCAM y baja expresión de genes relacionados con IFN. Tanto S1 como S2 tiene tumores menos diferenciados, de mayor tamaño y agresividad. En cualquier caso, no se logra establecer adicción a oncogén que ha sido tan útil en otras enfermedades.

El mismo Hoshida presenta la importancia del efecto de campo de HCC muestra que los perfiles genéticos del microambiente alrededor del tumor son también importantes para establecer el pronóstico al reconocer perfiles denominados de supervivencia, recurrencia

tardía (N Eng J Med, 2008) que complementa los perfiles de microambiente inclinado a metástasis de Budhu y el perfil de HCC multicéntrico de Okamoto. Es por ello que Farazi explica que el HCC es un solo tumor en dos enfermedades (la otra es la inflamación crónica / cirrosis hepática). En la revisión del Dr. Villanueva en Clin Cancer Res 2010 se establece que el impacto pronóstico relativo del tumor se establece por el microambiente en los estadios 0, con importancia relativa cada vez mayor a medida que se analizan tumores más avanzados. En los tumores estadio C el grueso del pronóstico se establece por el perfil exhibido por el tumor.

#### Vías de señalización en HCC

1. Cascadas de proliferación y apoptosis: RAS/MAPK, PI3k/Akt.
2. Cascadas de diferenciación: Wnt-Beta Catenina y Hedgehog.
3. Angiogénesis: MYC que estimula el VEGF, quimioattractantes como IL-1B y CXCL1 que producen VEGFA, VEGFC, MMPs, FGF2, etc.
4. mTOR: Se observa activación del EGF a medida que el HCC se hace más avanzado, con expresión de fosfo S6 en el 47% de los HCC por inmunohistoquímica. Ello se traduce en una respuesta in-vitro a los inhibidores de mTOR como Everolimus (actualmente se estudia en el EVOLVE-I que está incluyendo pacientes en un estudio fase III).
5. Notch: El 60% y 80% de los HCC expresan Notch1 y Notch3, respectivamente. Cuando se silencia el Notch3 se potencia la actividad citotóxica de la doxorubicina (Giovannini C, et al. J Hepatol 2009). En ratones transgénicos con expresión constitutiva bigénica (mas no monogénica) del NOTCH en el hígado se produce HCC en el 100% de los ratones. El perfil NOTCH se observa con frecuencia en HCC relacionado con HCV (31.8%).

Varios estudios se han iniciado explotando estas vías en primera línea, segunda línea y prevención de recurrencia con agentes como Erlotinib, Birvanib, Linifanib, Everlimus, Rapamicina, etc.

En la diapositiva 45 arranca la última parte de la charla el Dr. Villanueva con el título de medicina personalizada en HCC – retos. La diapositiva 46 muestra la historia de imatinib en CML (totalmente irrelevante), la 47 habla de adicción a oncogene en CML (irrelevante)... Otras diapositivas que no tienen nada que ver van hasta la 51 regresan a HCC y los resultados más recientes de la secuenciación profunda. Se habla de la importancia de la mutación del gen ARID1A en HCC. En la diapositiva 53 a la 60 divaga sobre diferentes áreas de la biología tumoral, en general: heterogeneidad tumoral en el mismo paciente, adicción oncogénica, cinética de metástasis en cáncer de páncreas. La última diapositiva nos habla de los retos futuros (?): asas de adicción oncogénica como mejorar los resultados de sorafenib, biomarcadores de respuesta, enriquecimiento de ensayos clínicos; mapear la heterogeneidad y complejidad del HCC: imagen funcional, células tumorales circulantes, subclones de metástasis; dinámica tumoral: integrar los perfiles individualizados, quimioprevención y resistencia al sorafenib.

## **Patología molecular del cáncer renal: implicaciones diagnósticas y terapéuticas (Por Antonio López-Beltrán)**

Clasificación histológica y molecular

Aspectos histopatológicos

Diagnóstico diferencial

Otros factores pronósticos

    Invasión de la grasa seno renal

    Relación con nuevas dianas terapéuticas

Patología molecular del cáncer renal y sus implicaciones terapéuticas.

Clasificación histológica y molecular del carcinoma renal: Mainz

Ya desde 1968, Thoenes propuso la clasificación histológica del carcinoma de células renales (RCC) en sus tipos celulares básicos como: Células Claras (CC), tipo cromofílico (creo que lo mismo que papilar), tipo cromóforo, de células del conducto, oncocítico, neuroendocrino, etc. Cada una de estas variantes tiene una forma eosinofílica, y ya se postulaba que todas podían evolucionar a las variantes en células en huso con variantes pleomórficas. Posteriormente, se establece la clasificación genética del carcinoma renal de Heidelberg. En esta se conceptúa que las células de origen de los CC y papilares son las células del túbulo proximal. Las células del conducto colector corticales explican los cánceres cromóforos y el oncocitoma. Las células del túbulo colector medular explican los tumores propiamente del túbulo colector (de Bellini). Se han establecido correlaciones citogenéticas con cada tipo tumoral así: CC con 3p-; papilar con Y-, 7+, y 17+; cromóforo con 1-, 2-, 3-, 10-, 13-; oncocitoma con 1-, Y-, y alteraciones teloméricas; de túbulo colector con 1-, 6-, 14-, 15-, 22-. La evolución de la clasificación histológica de los tumores del riñón ha avanzado, y actualmente en la clasificación de la WHO se reconocen 12 subtipos de tumores renales (listados en su glorioso esplendor en la diapositiva 6).

Los cánceres renales familiares han ayudado mucho a esclarecer la genética de estas enfermedades. Seleccione 5 basado en que me suenan...

1. Específicamente, el von Hippel-Lindau es una enfermedad autosómica dominante caracterizada por la mutación del gen VHL ubicado en 3p25, y que se asocia a carcinoma de células claras del riñón, además de feocromocitoma, quistes pancreáticos y tumores de los islotes, hemangioblastomas cerebrales y retiniomas, y tumores del saco endolinfático.
2. En el síndrome de carcinomas renales papilares hereditarios tipo I es también un trastorno autosómico dominante que involucra el locus 7q31 que codifica por el c-Met.
3. El síndrome de carcinomas renales papilares hereditarios tipo II es causado por una mutación del gen FH (Hidrolasa del Fumarato), ubicado en el 1q42, autosómico dominante, que se asocia además de los tumores renales a leiomiomas cutáneos y uterinos, hiperplasia adrenocortical macronodular (enfermedad denominada leiomiomatosis hereditaria y RCC).

4. La mutación de la Folliculina (FLCN) en el 17p11 se asocia a carcinoma de células renales de diferentes tipos, en presencia de otras anomalías como fibrofolliculomas, quistes pulmonares, neumotórax, carcinoma medular de tiroides en el – también autosómico dominante – síndrome de Birt-Hogg-Dubé.
5. La esclerosis tuberosa es un trastorno autosómico dominante que afecta los genes TSC1/TSC2 (en 9q34/16q13, respectivamente) caracterizada por carcinoma de angiomiolipomas, quistes renales y oncocitomas. Tiene otras anomalías como angiofibroma facial, fibroma periungueal, parches de shagreen, macula hipopigmentada, radomiomas cardíacos, hamartomas retinianos, astrocitomas de células gigantes y linfangioleiomiomatosis pulmonar.

Las alteraciones de genes como FHIT, HRPT2, SDHB se asocian a cánceres renales hereditarios. Los síndromes asociados se pueden observar en mala resolución en la diapositiva 7 (no referenciada).

### **Carcinoma renal asociado a translocación Xp11.2 con fusiones del gen TFE3 (Carcinomas familiares con translocación MiTF/TFE)**

Una variedad de cáncer renal que se observa en niños y adolescentes es caracterizada por la translocación Xp11-MiTF/TFE. Estos tumores tienen un comportamiento menos agresivo que otros. En esta enfermedad hay translocación del factor de transcripción E3 (TFE3) ubicado en Xp11.2 que resulta en fusiones con genes (ASPL y PRCC, por ejemplo). Las translocaciones que involucran el factor EB (TFEB) en el cromosoma 6. Las TFE3 y TFEB pertenecen a la misma subfamilia de MiTF (Factor de transcripción de microftalmia). Desde el punto de vista histológico estos tumores son mixtos papilares y de arquitectura anidada alveolar con células con citoplasma voluminoso claro, eosinofílico o granular, con bordes discretos, cromatina vesicular y nucléolos prominentes, así como cuerpos de psammoma abundantes. Se diagnostican por coloración nuclear de TFE3 por un anticuerpo que reconoce la porción C-terminal, positividad focal o difusa de CD10 y racemasa. Hay expresión de EMA, AE1-AE3 y CK7 débil o focal. Melan A y HMB45 con expresión focal.

Creo que este tumor ocupa un lugar en el corazón del docente, pero pertenece al tipo de cosas que solo encuentra Dr. House.

#### Formas comunes de carcinoma renal

1. Carcinoma de células claras – 70%
2. Carcinoma renal de células papilares – 15%
3. Carcinoma renal de células cromóforas – 5%
4. Carcinoma de células de conductos colectores – 2%
5. Oncocitomas renales – 5%
6. Otros – 3% (espero que sume 100%)

Los estudios de inmunohistoquímica permiten establecer el tipo celular cuando se utilizan Vimentina, CA IX, CD10, AMACR, CK7 y CD117, así: El carcinoma de células clara es positivo para Vimentina, CA IX (anhidrasa carbónica IX), CD10, AMACR, CK7 citoplásmica y focal y CD117 citoplásmica y focal. Todos los otros tumores son NEGATIVOS para Vimentina (con un asterisco en la diapositiva que probablemente significa que se requiere a un patólogo para su interpretación). El oncocitoma casi no exhibe ninguno de estos marcadores, excepto una intensa coloración citoplásmica difusa

de CD117. Los tumores papilares y cromóforos comparten una intensa tinción membranosa de CK7, pero se diferencian en otros como el CD10, AMACR en el que se observa una tinción fina granular o difusa en el citoplasma de los carcinomas papilares. Los diferentes tipos de cáncer renal tienen características clínicas que los distinguen (no muchas la verdad, excepto una tendencia muy marcada a la multifocalidad con los tumores papilares. De resto el uno se parece mucho al otro desde el punto de vista clínico con una edad mediana de ocurrencia de 60 años, un leve predominio de varones). El pronóstico si es distinto con una supervivencia enfermedad específica a 10 años de 70%, 82%, 90%, y 100% para carcinoma de células claras, papilar, cromóforo y oncocitoma, respectivamente.

Si a la histología rutinaria con sus inmunohistoquímica le adicionamos FISH podemos caracterizar mejor los tumores así: 3p- es característico del carcinoma de células claras. Las 17+, 7+ y Y+ son característicos de carcinomas papilares. Pérdidas en cromosomas 1, 2, 6, 10, 17 y Y son característicos de carcinomas cromóforos. La pérdida de 1 y Y ocurren en algunos oncocitomas.

Los estudios de CGH en RCC de CC (ccRCC) ha mostrado que la pérdida de 9p es un factor pronóstico adverso.

#### Factores pronósticos de ccRCC

Estadio  
Grado de Fuhrman  
Sarcomatoide  
Invasión vascular  
Necrosis

ccRCC Multifocal: 46% con patrón discordante

#### Carcinomas renales quísticos

1. 3-14%
2. Carcinoma "habitual" con variable componente quístico
3. Carcinomas sobre pared quística unilocular
4. Carcinomas necróticos con quistificación secundaria.

#### ccRCC, 3p- y VHL

La delección del 3p es considerada uno de los eventos primarios de la carcinogénesis de ccRCC, y se encuentra en 70-90% de los ccRCC, pero son raras en otros tipos de carcinomas renales. Las regiones frecuentemente perdidas o inactivadas incluyen 3p12-14, 3p21 y 3p25. La inactivación funcional de genes a través de la pérdida de fragmentos o mutación en estas regiones diferenciadas se observan tanto en tumores esporádicos como hereditarios. El gen que está involucrado en el desarrollo del ccRCC es el VHL que es un TSH que está ubicado en el 3p25 y está consistentemente inactivado tanto en los carcinomas esporádicos como los hereditarios. La proteína VHL está involucrada en el control del ciclo celular y regulación génica, y requiere de funciones de tráfico nucleo citoplasmático para funcionar. La proteína VHL es esencial para regulación del HIF, un factor de transcripción que es un regulador esencial de los genes inducidos por la hipoxia.

La inactivación del gen VHL se ha demostrado en 100% de los ccRCC familiares y en 57% de los ccRCC esporádicos. Debido a que la inactivación del VHL al nacimiento, los cánceres familiares requieren menos pasos para desarrollar tumores. Aunque la inactivación del VHL se asocia estrechamente a la carcinogénesis de las ccRCC, no está clara su significancia pronóstica. En un estudio, la expresión combinada citoplasmática y nuclear de pVHO se asocio a tumores de bajo grado, bajo estadio, con mejor pronóstico.

#### Carcinoma renal cromofílico (papilar)

El RCC papilar constituye el 15% de los cánceres renales, y se caracteriza por una arquitectura papilar, un bajo volumen citoplásmico, alta razón nuclear/citoplasmática y coloraciones variables. La inmunohistoquímica se caracteriza por la positividad difusa para CK7. Tinción positiva con Racemasa con tinción granular citoplasmática, CD10 usualmente positiva con una tinción membranosa luminal. El carcinoma papilar grado 4 tiene un pronóstico muy malo con una supervivencia mediana menor de 1 año. Existe tipo I y tipo II, por morfología. Hay evidencia de que los carcinomas renales papilares tipo I y II se originan de vías citogenéticas comunes, y que el tipo II puede evolucionar del tipo I que tienen menos alteraciones genómicas al adquirir más anormalidades cromosomales. Desde el punto de vista del DNA, la anomalía más frecuente es la ganancia en el número de copias de cromosomas 7 y 17 y pérdida del cromosoma Y en varones (Se asocia a trisomías del 7, 12, 13, 16, 17, 20, así como -21, -Y). El carcinoma papilar hereditario es causado por una mutación en la línea germinal del protooncogene c-MET ubicado en 7p31 (que también se observa en otros carcinomas papilares como tiroides, ovario y colon). La mutación c-MET incrementa su función y desencadena proliferación, neovascularización, motilidad celular y diferenciación morfológica. En la mayoría de los casos la activación constitutiva de c-MET ocurre por mutaciones sin sentido. En los casos familiares, la trisomía del cromosoma 7 se caracteriza por la duplicación no aleatoria de un alelo mutante de c-MET que explica el carcinoma papilar renal en estos pacientes. Las vías carcinogénicas del carcinoma renal papilar esporádico no han sido esclarecidas puesto que no se encuentran con frecuencia alteraciones del c-MET (sólo el 13%). Lo anterior sugiere que el c-MET no juega un papel importante en la variedad esporádica de los carcinomas renales papilares.

Siguen 3 diapositivas que no soy capaz de explicar sin el contexto de la clase:

1. Las ganancias de cromosomas 7, 17, 12, 16 y 20, así como la pérdida del cromosoma Y ocurren temprano en el carcinoma renal papilar.
2. La duplicación del cromosoma 1q adquirida durante la evolución del carcinoma papilar renal, es un marcador de progresión fatal.
3. Estudios de números de copias de DNA y estudios de expresión genética demuestran activación del MYC en carcinomas papilares de alto grado.

#### Carcinoma cromóforo

Explica el 5% de los cánceres renales. Se caracteriza por una arquitectura compacta, membranas citoplasmáticas prominentes, citoplasma pálido floculento, tamaño celular variable (principalmente grande), **coloración positiva para tinción de hierro coloidal de Hale**, y presencia de microvesículas evidenciadas por microscopía electrónica. La inmunohistoquímica muestra una expresión difusa de CK7 con acentuación membranosa, CD117 positiva difusa, CD10 negativa o positiva focal, Claudina-7 positiva,

KSP Cadherina positiva y CD82 positiva. Los cambios moleculares característicos son: hipodiploide con pérdidas no aleatorias de cromosomas 2, 10, 13, 17 (aproximadamente 90%, cada uno) y 21 (en el 70%). La presencia de microsatélites o BAC localizados en estos cromosomas pueden ser usados para evaluar el diagnóstico en caso de histologías inciertas. La mortalidad es de aproximadamente 10% y se asocia a factores pronósticos adversos como la invasión vascular, pT3 o pT4 (HR 3.4), necrosis tumoral (HR 3.5) y transformación sarcomatoide (HR: 4,7).

El carcinoma renal de células cromóforas se caracteriza por pérdidas múltiples complejas de cromosomas Y, 1, 2, 6, 10, 13q, 17 y 21. Esas pérdidas simultáneas de muchos cromosomas son un hallazgo relativamente único en tumores sólidos, y han sido demostradas por técnicas citogenéticas clásicas incluyendo FISH, CGH, RFLP y análisis de LOH en loci microsatelitales relacionados.

#### Carcinoma renal sarcomatoide

Todos los cánceres renales pueden evolucionar a la forma sarcomatoide, así: ccRCC en 8%, RCC papilar en 3%, RCC cromóforo en 9%, RCC de túbulo colector en 29%. En 95% los grados nucleares son 3 o 4. La desdiferenciación morfológica asociada al carcinoma renal sarcomatoide se traduce en una supervivencia mediana de aproximadamente de 1.4 años.

Los componentes sarcomatoides y de células claras del carcinoma renal se derivan de la misma célula progenitora, y las heterogeneidades citogenéticas indican una divergencia genética durante la evolución clonal. Los mecanismos moleculares responsables de la transformación sarcomatoides de un tumor renal son desconocidos. Sin embargo, algunos estudios sugieren una relación entre la mutación del p53 y la morfología sarcomatoide.

#### Patología molecular del cáncer renal de células claras – implicaciones terapéuticas.

La delección del cromosoma 3p es considerada uno de los eventos primarios en la carcinogénesis del ccRCC, y se encuentran entre 70-90%. Son raras en otros tipos de tumores renales. Las regiones frecuentemente inactivadas o perdidas en el cromosoma 3 incluyen 3p13-14, 3p21, y 3p25. El gen involucrado es el VHL ubicado en el 3p25 y está consistentemente inactivado en carcinomas renales de células claras esporádicos y hereditarios. La proteína VHL es importante en el control del ciclo celular y regulación genética y requiere de tráfico núcleo citoplásmico dependiente de transcripción. La proteína VHL es importante en la regulación del factor de transcripción HIF1 alfa que es un regulador clave de los genes inducidos por hipoxia (como VEGF-A, PDGF, TGF-Beta). La inactivación del VHL se ha demostrado en el 100% de las familias con carcinoma renal de células claras y en 57% de los cánceres renales de células claras esporádicos. Los carcinomas renales de células claras con mutación con pérdida de función del VHL tienen peor pronóstico (controvertido), que se evidencia con una mayor expresión tumoral del HIF1 alfa. La expresión de la anhidrasa carbónica IX (CA IX) está regulada por el HIF1 alfa. La CA IX no es un factor pronóstico independiente, sino subrogado a toda la vía VHL-HIF1 alfa. Otra vía clave para la patogénesis del cáncer renal de células claras es la activación de mTOR.

#### Expresión de los elementos de la familia VEGF en cánceres renales

Estudios que requieren de confirmación mostraron que la expresión de VEGFA y VEGFR2 están también aumentados en carcinomas renales papilares (más aún que en células claras, en un estudio). No se encontró diferencias en la expresión de VEGFR1. En la vía de la linfangiogénesis se encontró una expresión mayor de VEGF-D en el carcinoma renal de células claras, en tanto que hay una expresión levemente mayor de VEGFR3 en carcinomas de células papilares. Estos estudios mostraron importante expresión de estos marcadores no solo en el endotelio sino también en el epitelio tumoral. Estos estudios sugieren que la vía de VEGF-A es de importancia terapéutica potencial en carcinoma de células renales papilares.

#### La vía mTOR en cáncer de células renales

La vía mTOR se sobreexpresa en muchos tumores a través de la activación de genes como AKT y HIF que la activan. Estudios preclínicos sugieren que los agentes anti mTOR pueden ser más eficaces en tumores con inactivación del gene PTEN. En un estudio de microarray tisular se estableció que había silenciamiento del PTEN predominante en los tumores de células claras y en tumores sarcomatoides. La expresión de la kinasa S6 fue mayor también en tumores sarcomatoides, de células claras, en tumores de alto grado y de alto estadio. Akt es detectable por tinciones en carcinomas de conductos colectores (89%) y en carcinomas renales de células claras (58%), sugiriendo la activación de otras vías distintas a la pérdida de PTEN. La expresión de PTEN correlacionaba con pAKT y HIF. Tomando todos estos hallazgos en conjunto se sugiere que no todos los cánceres renales son igualmente susceptibles a terapia anti mTOR, pero la mayoría de los pacientes tienen alteraciones de algún componente de esta vía como PTEN, pAkt o HIF1 alfa.

#### Patología molecular de carcinomas renales

Hay un número importante de matrices de genes alterados en RCC que pueden ser utilizados con inmunohistoquímica para mejorar la calidad diagnóstica y pronóstica. Aunque deben considerarse e investigación la combinación Ki67/p53/Vim/Galsolina son de mal pronóstico. CAIX/PTEN, CAXII/EpCAM son de buen pronóstico. Los tumores cromóforos y sarcomatoides exhiben c-Kit (diana terapéutica?). El carcinoma medular tiene alta expresión de topoisomerasa IIA (diana terapéutica?).

#### Perfiles de expresión génica

En un estudio de 31 pacientes con diferentes tipos de cáncer renal a los que se le realizó un perfil de expresión génica se encontró que los carcinomas de células claras, papilares, y cromóforos expresaban diferentes paneles de genes (Shuetz JMD 2008). En otra serie de 65 pacientes se obtuvo una identificación precisa del subtipo específico en el 100% (Jones CCR, 2005). Sultman encuentra que la evaluación de la expresión de 80 genes es suficiente para realizar un diagnóstico preciso del tipo celular en cáncer de células renales.

La expresión de genes como CK7 y CK19 se asocian a estabilidad genómica, con mejor pronóstico (Mertz I Jour Cancer 2008). También se han encontrado miRNAs que se asocian a mal pronóstico en RCC.

#### **“Conclusiones**

1. *La clasificación histológica y genética es un factor importante en el cáncer renal.*
2. *Factores pronósticos convencionales con mayor relevancia en el momento actual.*

3. *Marcadores biológicos son importantes a nivel diagnóstico*
4. *La presencia de reacciones adversas con las medicaciones de diana justifica investigación de marcadores biológicos de respuesta. No hay una sola diapositiva que apoye esta conclusión en el documento suministrado.*
5. *La indicación de nuevas dianas terapéuticas en cáncer renal se realiza según criterios clínicos.*
6. *Papel del patólogo en relación a dianas terapéuticas es limitado.”*

# Hacia una clasificación molecular del cáncer colorrectal (Por Gabriel Capellá)

## Temario

1. Conceptos básicos de la carcinogénesis colorectal.
2. Ayudan a clasificar alteraciones específicas?
  - a. KRAS
  - b. P53
  - c. BRAF
  - d. PI3KCA
  - e. Hipermetilación p16/CDKN2A
3. Clasificación según el tipo de inestabilidad
  - a. Inestabilidad cromosómica
  - b. Inestabilidad en microsatélites
  - c. CIMP (CpG Island Methylation Phenotype)
4. Perfiles de expresión como clasificadores
5. Perspectivas de futuro
6. Conclusiones.

## Secuencia adenoma-carcinoma

Desde los adenomas tubulares y vellosos se procede a carcinoma invasor y metástasis hepáticas. Desde el punto de vista biológico se considera que la secuencia que va desde el epitelio normal al cáncer atraviesa varias fases: normal, iniciado, precancerosa (leve, moderado, severo), carcinoma in-situ y carcinoma invasor. Los tiempos estimados de cada una de estas fases en diversas neoplasias se ilustra en la diapositiva 4. Se puede resumir que el intervalo entre normal – iniciación, con la formación de adenoma colónico es de 5-20 años, seguido por una fase precancerosa de 5-15 años hasta el desarrollo de cáncer. En cáncer de cabeza y cuello el intervalo entre epitelio normal y cambios displásicos/leucoplasia es de 4-10 años, y la evolución subsecuente hasta carcinoma invasor se estima en 6-8 años. En el carcinoma de cérvix uterino se estima el intervalo entre CIN1 a CIN3 en 9-13 años, con una evolución posterior a cáncer invasor de 10-20 años. En cáncer de pulmón la evolución hasta carcinoma invasor requiere de 20-40 paquetes/año. En mama el tiempo entre el desarrollo de una hiperplasia atípica y DCIA es variable. La evolución entre DCIS y carcinoma invasor se estima en 6-10 años. En carcinoma de próstata se estima un intervalo de 20 años entre epitelio normal y PIN (lesión precancerosa leve), y más de 10 años hasta cáncer latente (lesión precancerosa o carcinoma in-situ), con evolución subsecuente a carcinoma invasor de unos 3-15 años.

La carcinogénesis secuencial implica **la acumulación de nuevas mutaciones somáticas** que se inician con la mutación del gen APC (gen portero), seguida por sobreexpresión de COX2, mutaciones de KRAS-SMAD en pequeños adenomas, pérdida del 18q en adenomas más grandes, y mutación del p53 para la transición a carcinoma invasor. El orden en el que se acumulan las mutaciones puede tener impacto en la clínica. Por ejemplo, cuando se activa KRAS se generan adenomas vellosos voluminosos. **Las alteraciones en la vía Wnt/Beta catenina (como inactivación de APC) son necesarias y suficientes para la formación de adenomas. La**

## **inactivación del p53 o su equivalente son importantes para la transición de adenoma a carcinoma.**

La progresión tumoral afecta la capa colónica, se extiende a ganglios linfáticos regionales, seguido por metástasis a distancia. Los sistemas de clasificación de TNM se basan en el concepto de que a más avanzada la enfermedad peor el pronóstico. Eso ha dado origen al sistema de clasificación TNM que estipula que los tumores confinados a las capas internas del colon tienen una supervivencia por encima del 90%. Los que afectan capas más profundas del colon, sin compromiso de ganglios linfáticos regionales, tienen una supervivencia a largo plazo de 80%. Los que afectan ganglios regionales tienen una probabilidad de supervivencia a largo plazo del 50%, y los que tienen metástasis a distancia van a fallecer de su enfermedad a menos que pertenezcan al selecto grupo que son operables.

El uso de marcadores tumorales no han sido útiles en cáncer de colon por: series pequeñas, retrospectivas, gran heterogeneidad, no estandarización técnica, no reproducibles, diseño y análisis estadísticos pobres, alto riesgo de sesgo y azar, muy pocos asociados a ensayos clínicos o validaciones independientes, no comparados con factores clínico patológicos específicos en estadios II en análisis multivariados.

Análisis genético de las células tumorales: pueden ser específicas o globales.  
Vamos a iniciar con las determinaciones específicas.

### **Mutaciones de Ras y carcinoma de colon**

La mutación del Ras es muy común en tumores humanos, como en los cánceres de páncreas colangiocarcinoma en los que ocurre en aproximadamente el 90% de los pacientes (KRAS). En el caso del carcinoma colorrectal y endometrio, la frecuencia es del 40% (KRAS). En el cáncer de tiroides se encuentran mutaciones en el 50% (todos los tipos de Ras). En el carcinoma del pulmón se encuentra mutación del KRAS en el 30% de los pacientes (KRAS, pero de una naturaleza algo distinta a la observada en cáncer colorrectal). En el síndrome mielodisplásico hay mutación del NRAS en 25%.

Las mutaciones activantes del KRAS tienden a ocurrir en los codones 12 y 13 que codifican los sitios de unión al GTP. Se explican los tipos de mutaciones. Cambiando cada una de las bases del codón 12 y 13 pueden dar origen a 6 aminoácidos distintas. Qué implicaciones pronóstica tiene el tipo de mutación? Pues no parece haber ninguna importancia en el tipo de mutación, tal vez con la excepción de la mutación Valina del codón 12 (G12V) parece conferirle un pronóstico adverso. El efector principal del KRAS es el BRAF. El BRAF se encuentra mutado en el 20% de los tumores sin mutación del KRAS (las mutaciones del BRAF son mutuamente excluyentes con el KRAS). La mutación del V600E lo activa constitutivamente estimulando la progresión celular (aumente la inestabilidad microsatelital). Cuando se encuentra, prácticamente se puede descartar un síndrome heredofamiliar. La mutación del BRAF cambia los perfiles de expresión genética, con implicaciones clínicas inciertas.

### Activación de la PI3K

También se ha descrito mutación del PI3KCA (hotspots: exones 10 y 20) en carcinoma de colon, pero en baja proporción (8-10%), y confiere mal pronóstico (Kato et al, IJC, 2007), pero no ha podido ser validado en estudios adicionales. Parece ser que **algunas** mutaciones del PI3KCA predicen pobre respuesta a terapia anti EGFR. La vía de transmisión de señales PI3K está implicada en tumores de colon y mama, aunque los genes diana varían (Wood et al, Science 11 Oct 2007).

### Alteraciones en la metilación en el cáncer

Las alteraciones epigenéticas son muy frecuentes en el cáncer. Un patrón muy común es la hipometilación generalizada combinada con hipermetilaciones localizadas en las islas CpG que inactivan la transcripción de genes. Las hipermetilaciones localizadas de las zonas promotoras causan inactivación de genes supresores de tumores como el APC, hMLH1, p16, etc. Por otro lado, las hipometilaciones generalizadas causan alteraciones en la defensa e integridad genómica, con aumento de la retrotransposición y recombinación mitótica. Para la expresión del fenotipo oncológico de los genes supresores de tumores se requiere de su inactivación (casi) total. Ello ocurre cuando hay mutaciones de los dos alelos (raro); o cuando el alelo mutado está acompañado de la pérdida de la heterocigocidad, conocida como LOH, que puede ocurrir por varios mecanismos que incluyen: pérdida del cromosoma, deleción, translocación no equilibrada, pérdida y reduplicación del gen mutado, recombinación mitótica, y silenciamiento del promotor del gen normal. La prevalencia de las alteraciones epigenéticas en cáncer colorrectal se observa en mucha mayor frecuencia que con el tejido normal, como se evidencia cuando se estudian genes importantes como CRBP1, RARB2, p16, MGMT, RASSF1A, APC. La supervivencia de los pacientes con estadios tempranos que no tienen mutaciones del KRAS, ni p16 es significativamente mayor, sugiriendo que cuando el mecanismo neoplásico es de naturaleza epigenética su pronóstico es menor grave (no validado). No hay alteraciones de la metilación que nos permitan hacer una valoración pronóstica.

### p53: sensor del daño genómico

El p53 es un factor de transcripción que se activa en respuesta a diferentes noxas, y está mutado en aproximadamente el 50% de los cánceres de colon. El gen que lo codifica está en el brazo corto del cromosoma 17, y tiene 11 exones. Los exones 2-3 son importantes para la unión a MDM2 y la activación de la transcripción. Los exones 5-8 son importantes para la unión a una secuencia específica del DNA y los exones 9-10 son importantes para la tetramerización. Los hotspots están ubicados en los exones 5-8 como 175, 245, 248, 273 y 282.

En condiciones normales, el daño genómico activa las grandes quinasas tipo ATM que a su vez activa el p53 (o la P14 que activa la MDM2) causando paro del ciclo celular (por la activación de inhibidor de kinasas dependiente de ciclinas p21) y apoptosis (por activación del BAX, TRAILR DR5, CD95R, P53AIP1).

La mutación del p53 no se asocia a una disminución en la supervivencia global, ni libre de progresión en carcinoma colorrectal. Sin embargo, hay mutaciones específicas ubicadas en puntos calientes (HotSpots, ver arriba) que sí se asocia a una supervivencia libre de

progresión inferior y una tendencia a una supervivencia global inferior. Aunque tampoco está plenamente validado como clasificador.

#### Vías de señalización en cáncer de colon y recto

Como se observa en la diapositiva 33, hay múltiples vías de señalización afectadas en cáncer de colon: desde la activación de la vía Wnt por la inactivación de APC en la transición epitelio normal – adenoma temprano. Posteriormente, hay activación de la señalización de la vía EGFR, inactivación del TGF beta que culmina con una disminución de SMAD3/4 y SMAD2 que hace que se pierda la capacidad de inhibición de crecimiento. Así mismo, la supresión de la molécula proapoptótica DCC estimula la proliferación. En forma comparativamente tardía hay mutación del p53, estableciendo el fenotipo oncológico completo, aumentando la supervivencia y la proliferación celular. Posteriormente, se activan los mecanismos de EMT, MMPs e ICAMS que dan el fenotipo metastásico.

#### Huella de activación de EGFR y cáncer colorrectal

Estudios de microarreglos tisulares han mostrado que aproximadamente 2/3 de los pacientes con cáncer de colon y recto muestran una huella de activación de la vía EGFR, evidenciada por alteraciones en sus componentes como KRAS, BRAF, PI3KCA. No sabemos que implicaciones tiene desde el punto de clasificación.

### **Inestabilidad genética – otro Hallmark of Cancer que se afecta en cáncer de colon y recto**

“Premisas

1. La inestabilidad genética acelera la progresión tumoral.
2. El tipo y grado de inestabilidad genética condiciona la evolución tumoral (comportamiento clínico y biológico).
3. Hay diferentes tipos de inestabilidad genética que posiblemente representan vías genéticas alternativas para progresión tumoral.
4. Diferentes mecanismos para la inestabilidad genética produce diferentes tipos de daños genéticos (huellas): inestabilidad cromosomal vs inestabilidad microsatelital.”

Se postulan por lo tanto, dos vías moleculares para la formación de cáncer colorrectal: la vía supresora (que es la que acabamos de ver... APC, seguido por KRAS, DCC, p53, etc); y la vía mutadora que incluyen defectos en la reparación de los pares que no cuadran de DNA (Mismatch Repair, o MMR), seguido por alteración de la vía Wnt, TGFbeta, KRAS, antiapoptosis, p53, etc.

### **Inestabilidad genética: índice de aneuploidía**

El índice de aneuploidía se establece por citometría de flujo (tiene en cuenta la proporción de células diploides, y las otras). Los cánceres de colon con un índice de aneuploidía (AI) en su margen invasor que es mayor de 1.14 tienen peor pronóstico que los diploides y los AI menores de 1.14 (no validado). La medición de inestabilidad genética no ha tenido impacto clínico, hasta la fecha.

### **La hipótesis del fenotipo mutador**

Cuando hay alteraciones en la reparación de bases que no cuadran durante la recombinación homóloga se facilita el fenotipo oncológico pues la mucosa del colon queda en desventaja para evitar las lesiones inducidas por exposición a carcinógenos. Eso se evidencia con la formación de muchos microsatélites de DNA en una célula diploide (pseudodiploide), que ocurre cuando hay alteraciones en los genes encargados con el MSH2/MLH1 en el HNPCC (síndrome de Lynch), o silenciamiento epigenético del MLH1. En condiciones normales, los sistemas de reparación de DNA permite que el grado de mutación no sea excesivo. **La hipótesis del fenotipo mutador dice que todos los tumores (TODOS) tienen que ocurrir y tienen que acumular esas células tumorales algún tipo de alteración que permita la acumulación de mutaciones.** El cáncer de colon fue el primer ejemplo del fenotipo mutador. Los defectos del sistema de reparación MMR son los responsables de la inestabilidad microsatelital (añadido de repeticiones). La selección de las secuencias repetidas (Poli A) ubicadas en secuencias codificantes ocurre y dan ventaja de crecimiento (TGFBR2, IGFR2R, BAX, E2F-4, caspasa 5), y se asocian a mayor inestabilidad genética (hMSH3, HMSH6). En los análisis exhaustivos se ha logrado establecer que los tumores hipermutados se pueden explicar por inestabilidad microsatelital.

**La inestabilidad microsatelital (MSI+) confiere un mejor pronóstico** (validado). Existe la sospecha de que la terapia con Fluoruracilo es perjudicial en pacientes estadio II con MSI+, por el estudio QUASAR (No validado en el estudio PETACC 3).

### **Aberraciones en la metilación en el cáncer colorrectal**

Puede haber hipometilación global unida a hipermetilación localizada con patrones tumor-específicos. El metiloma del cáncer de colon muestra hipo- e hipermetilaciones similares en islas y playas de CpG tejidos específicos. La metilación de islas de CpG causa silenciamiento de genes. La mayoría de las regiones CpG no son islas convencionales de CpG. La metilación en cáncer corresponde a la metilación con un patrón tejido específico. Se describe el CpG Islands Methylation Phenotype (CIMP) que se caracteriza por la hipermetilación de MLH1, p16, MINT1, MINT2, MINT3, en ausencia de mutaciones del p53, BRAF. Tiende a ser esporádico y de localización proximal (colon derecho). Sin embargo, estudios adicionales ponen en duda la existencia de CIMP. En el cáncer genome atlas de 2012 se identifica un subgrupo de CIMP. Sus implicaciones clínicas son desconocidas. En la historia natural del cáncer de colon las alteraciones esporádicas del MSI-H (CIMP) se asocian a la formación de pólipos serrados sésiles (en contraposición con los pólipos adenomatosos que son típicos de la vía supresora y del síndrome de Lynch).

### **Perfiles de expresión como clasificadores**

La hipótesis subyacente de los perfiles de expresión genética es que el análisis genético exhaustivo de la biopsia inicial establece el pronóstico del paciente (es como una tragedia griega... Edipo matará al papá y se casará con su mamá). Los estudios con microarrays en cáncer de colon se han desarrollado para satisfacer las siguientes expectativas: que es posible la identificación de genes que jueguen un papel importante en la enfermedad, encontrar marcadores pronósticos y predictivos, y posibles dianas terapéuticas. Varios estudios han demostrado que la expresión diferencial de 18 genes (ColoPrint) tiene valor

pronóstico con una supervivencia libre de metástasis distantes de 82% vs 50% para bajo riesgo y alto riesgo, respectivamente (HR de 3.41, plataforma Agilent) (Salazar R, et al. *J Clin Oncol* 28, 2010). Confirmado en validación en el Institut Català d'Oncologia. Al comparar contra los datos clínicos habituales, el clasificador molecular ofrecía información clínica adicional. Se está validando en el estudio SPARK.

### **El futuro**

El número mediano de mutaciones por tumor aumenta. Por ejemplo, en cáncer de mama hay 122 genes candidatos, 12 por tumor, 17% CpG, 35% C:G T:A y 22 reguladores transcripcionales. En cáncer de colon hay 69 genes, 9 por tumor, 44% CpG, 59% C:G T:A y 13 reguladores transcripcionales (Sjoblom T et al, *Science*, 2006). Comparar con las anomalías publicadas en el Cancer Genome Atlas Network de 2012 (*Nature*) en donde se especifican decenas de mutaciones (genes potencialmente relevantes mutados, en promedio, por cada cáncer de colon: 58 para los no hipermutados, y 728 para los hipermutados). ARID1A, número de copias de EGFR.

No todas las mutaciones son mutaciones puntuales. De hecho, se ha descrito una fusión recurrente VTI1A-TCF7L2.

### **Conclusiones**

El uso de tecnologías de análisis está refinando nuestro conocimiento de las bases moleculares de cáncer colorrectal. La clasificación de tumores a nivel genético y epigenético revela un escenario cada vez más complejo que necesita ser combinado con data clínico-patológica.

### **Referencia**

The Cancer Genome Atlas Network. Comprehensive molecular characterization of human colon and rectal cancer. *Nature* 487, 330-337 (2012).

## Cáncer gástrico (por C. Gomez-Martin)

### Temario

1. Introducción
2. La situación insatisfactoria actual
3. Alteraciones moleculares comunes y significativas en cáncer gástrico.
4. El futuro: análisis génico total para una medicina personalizada
5. Resumen y conclusión

### Introducción

1. Cuarto cáncer en frecuencia
2. Segunda causa de muerte relacionada al cáncer en el mundo
3. Incidencia global en el mundo en 2002: 1 millón (con aproximadamente 700.000 muertes)
4. Disminución en la mortalidad.
5. Incremento en la incidencia de adenocarcinoma de la unión gastroesofágica.
6. 96 mil casos en Europa en 2006
7. Incidencia en España 23/100.000 habitantes
8. 40%-50% presentan con enfermedad irreseccable.
9. Después de la cirugía, la supervivencia a 5 años es menor del 50%.
10. Todos los cánceres gástricos se tratan en forma uniforme, a pesar de su heterogeneidad anatómica e histopatológica.
11. El tratamiento paliativo incluye quimioterapia basada en Fluoropirimidinas, Platinos (cisplatino u oxaliplatino), y otros agentes como taxanos, antraciclinas o irinotecán.
12. Los pacientes con cáncer gástrico que sobreexpresan HER2 derivan beneficio de la adición de trastuzumab (con una supervivencia mediana de 15 meses, en contraposición con la supervivencia mediana de 10 meses con otros agentes).
13. La supervivencia a 5 años es inferior de 30%.
14. Es una MALA ENFERMEDAD

El cáncer gástrico es una enfermedad compleja y heterogénea con epidemiología diferente entre la enfermedad proximal y distal, variaciones de la patología y en localizaciones anatómicas distintas. El carcinoma gástrico proximal tiene como factores importantes el reflujo ácido, obesidad, dieta y el tabaquismo. El cáncer gástrico distal tiene como factores de riesgo la infección por *H. pylori*, gastritis atrófica y la dieta. En cuanto a la patología Lauren la clasifica en: 1. Intestinal: que ocurre en pacientes mayores, usualmente varones, con una disminución en la incidencia en todo el mundo, con tendencia a metástasis hematógenas, y 2. Difuso: que ocurre en pacientes jóvenes, usualmente mujeres, con cierta predisposición familiar y genética, así como diseminación peritoneal. La WHO reconoce a partir de 2010 dos nuevas variantes de carcinoma gástrico: carcinoma de cohesión pobre (incluyendo el carcinoma con células en anillo de sello) y el carcinoma mixto.

Los factores ambientales como la infección por *H. Pylori*, dieta, tabaquismo, interactúan con factores genéticos y epigenéticos como el polimorfismo del gen IL-1, genes de mucina, genes proinflamatorios. Además hay un componente familiar. Se considera que 90% de los cánceres gástricos son esporádicos, hay agregación familiar en 10% (cáncer gástrico familiar o FGC, cáncer gástrico e intestinal familiar o FIGC, cáncer gástrico familiar difusos

o FDGC). Aproximadamente 1% de los cánceres gástricos son hereditarios (cáncer gástrico difuso hereditario o HDGC, que se explican por alteraciones en la E-Cadherina).

### **Alteraciones genéticas frecuentes en cáncer gástrico**

Para efectos prácticos el cáncer gástrico se divide en dos enfermedades según la histología intestinal o difusa.

### **Cáncer gástrico de tipo intestinal**

El carcinoma gástrico intestinal se caracteriza por CIN y aneuploidía, #3p, 7q, 13q (LOH), #6q (LOH), #1q, 5q, 17p (LOH). Alteraciones en oncogenes como: KRAS, HER2, TPR-MET, c-MET, EGFR, TGF alfa. Alteraciones en genes supresores de tumores como p53, APC, DCC, p16. También exhibe MSI, y otras alteraciones en la diapositiva 15.

### **Inestabilidad microsatelital (MSI) en cáncer gástrico**

La MSI en cáncer gástrico ocurre por el silenciamiento epigenético del gen hMLH1. Las mutaciones somáticas son raras en los genes de MMR en cáncer gástrico esporádico. Las alteraciones en MSI son más comunes en el cáncer de tipo intestinal (40%) que en el difuso (5-10%). Los tumores que exhiben una alta MSI se caracterizan por una localización antral, fenotipo intestinal, patrón de crecimiento expansivo, y mejor pronóstico.

### **Amplificación o sobreexpresión de HER2 en cáncer gástrico**

El oncogen HER2 se ubica en el cromosoma 17q12-21.32 que codifica una glicoproteína de transmembrana de 185 kDa expresada en células epiteliales que pertenece a la familia de receptores tirosina quinasa HER que se activa tras la dimerización con un receptor de su familia estimulando el crecimiento y desarrollo celular. Aproximadamente 20% de los cánceres gástricos sobreexpresan HER2, particularmente los de la unión gastroesofágica (33%) y los de histología intestinal (32%). Esta sobreexpresión es rara en los carcinomas difusos (6%). La importancia pronóstica de la sobreexpresión de HER2 en cáncer gástrico no está definida pues hay resultados conflictivos. Sin embargo, la sobreexpresión del HER2 es un factor predictivo de respuesta a trastuzumab, como fue demostrado en el estudio ToGA que incrementó la supervivencia mediana en un 35% de 11.8 meses a 16 meses. Otras estrategias anti HER2 están siendo estudiadas.

### **Alteraciones en la vía del EGFR en cáncer gástrico**

Las mutaciones del EGFR son raras en el cáncer gástrico (2.5%), la amplificación ocurre en 10%, y su sobreexpresión ocurre con mucha frecuencia (35-81%). En pacientes con MSI alto hay repeticiones 3'-UTR EGFR A13 en 31% de los casos. Hay varios estudios que usan Cetuximab (anticuerpo monoclonal anti EGFR) con resultados lo suficientemente interesantes como para proceder con estudios fase III como el EXPAND o REAL3 (con Panitumumab, el anticuerpo humano anti EGFR) cuyos resultados están pendientes. En forma similar, los resultados con inhibidores de tirosina quinasa anti EGFR como gefitinib y erlotinib han sido negativos con tasas de respuesta que oscilan entre 0 y 9%.

### **KRAS y BRAF**

Las mutaciones del KRAS son raras en cáncer gástrico. Las mutaciones de KRAS no están ubicadas en los dominios típicos, y son más frecuentes en los carcinomas intestinales con alto MSI. Recientemente, se han descrito amplificaciones de KRAS que confieren un mal

pronóstico. Las mutaciones del BRAF son raras en cáncer gástrico. Se ha descrito recientemente un gen de fusión BRAF con el gen del AGTRAP (gen de la proteína asociada al receptor tipo I de angiotensina II).

### **HGF/c-MET en cáncer gástrico**

La vía HGF/c-MET media mitogénesis, morfogénesis y motogénesis. La expresión aberrante o sobreexpresión de HGF o c-MET se ha reportado en varios cánceres, incluyendo el cáncer gástrico.

La sobreexpresión de MET se observa en 24-7% de los cánceres gástricos, amplificación de MET en 15-20%, mutación de MET en 3-4%. Confiere un pronóstico pobre. Algunos estudios preclínicos indican que algunas líneas celulares son susceptibles a inhibición del MET. El c-MET puede activar la señalización HER y viceversa por crosstalk.

La inhibición de c-MET funciona en líneas celulares de cáncer gástrico y de esófago. Ejemplos de agentes anti MET son Onartuzumab, Rilotumumab, Cabozantinib, Tivantinib, Foretinib y Crizotinib, entre otros. Desde el punto de vista clínico hay un estudio de Rilotumumab +/- ECX en primera línea que aumenta la supervivencia libre de progresión, supervivencia global y la tasa de respuesta (Iveson T, ESMO 2011). La expresión alta de MET predice la respuesta de Rilotumumab en cáncer gastroesofágico con una supervivencia mediana de 5.7 vs 11 meses en los grupos IHC+ para MET en más del 50% cuando no recibieron o recibieron Rilotumumab, respectivamente (HR: 0.29, p=0.012) (Oliner KS, et al. ASCO 2012, Abstract 4005). La amplificación de MET identifica un subgrupo agresivo de cáncer de la unión gastroesofágico sensible a Crizotinib.

### **Alteraciones en el FGFR2 en cáncer gástrico**

FGFR2 o K-SAM o el factor de crecimiento queratinocítico es un receptor tirosina kinasa. La mutación del FGFR2 causa varios desórdenes craneofaciales congénitos. Hay amplificación del FGFR2 en 10% de los cánceres gástricos. No hay relación con la histología o estadio tumoral. La amplificación FGFR2 se asocia a una supervivencia pobre. El Divitinib es un antagonista del FGFR2.

### **Cáncer gástrico difuso**

El carcinoma gástrico difuso es diploide, con alteraciones cromosomales como #3p, 7q, 13q (LOH), #6q (LOH); activación del oncogén c-MET; alteraciones en los genes supresores de tumores como p53, TGF-Beta, K-SAM; pérdida o mutación de la E-Cadherina, etc.

### **E-Cadherina**

Las alteraciones somáticas del gen de E-Cadherina (CDH1) se encuentran en la mayoría de los cánceres gástricos difusos (50-70%). Hay expresión reducida de E-Cadherina en 90% de los casos (por IHC). Se observa hipermetilación del promotor de E-Cadherina en 83% de los pacientes con cáncer gástrico de histología difusa. De acuerdo con la hipótesis de 2 hits, el primer Hit es la mutación y el segundo Hit es LOH o hipermetilación del promotor.

### **Cáncer gástrico hereditario**

Explica el 1% de los cánceres gástricos. En el síndrome de cáncer gástrico difuso hereditario (HDGC) casi siempre es causado por mutación en la línea germinal de la E-Cadherina. También hay cáncer gástrico hereditario en la Poliposis Adenomatosa Familiar,

en el HNPCC y en el síndrome de Li-Fraumeni. Las mutaciones en el HDGC son diferentes a las mutaciones somáticas, pero ambos comprometen el dominio extracelular de la E-Cadherina. En general, las mutaciones de la línea germinal del gen CDH1 son truncantes en un 80% y sin sentido en 20%. Se ha postulado un modelo de desarrollo de cáncer gástrico en el síndrome HDGC que inicia con la mutación de la línea germinal del CDH1 caracterizada por una mucosa no neoplásica con hiperplasia foveolar. Cuando hay la inactivación del segundo alelo, se inicia el carcinoma gástrico in-situ con células en anillo de sello, seguido por diseminación pagetoide, seguido por invasión.

Para diagnosticar el HDGC se debe demostrar mutaciones patogénicas del gen CDH1 en la familia. Desde el punto de vista clínico se debe sospechar HDGC en familias con 2 familiares de primer/segundo grado con cáncer gástrico difuso, con al menos uno de ellos diagnosticados antes de los 50 años de edad, o tres familiares de primer o segundo grado con cáncer gástrico difuso independiente de la edad. Posible HDGC en cáncer gástrico en 3 familiares de primer o segundo grado con al menos un cáncer difuso; cáncer gástrico difuso en un paciente menor de 40 años; cáncer gástrico difuso o carcinoma lobular de mama en un paciente; cáncer gástrico difuso en un paciente y cáncer lobulillar de mama en un familiar de primer o segundo grado. Se recomienda gastrectomía profiláctica desde los 18 años en pacientes portadores de la mutación de CDH1 (entre otras recomendaciones).

#### **Drivers moleculares y dianas terapéuticas**

El cáncer gástrico tiene alta frecuencia de amplificación y deleciones. Los análisis de expresión de cDNA muestra disminución en la PSCA, y downregulación del PL2GA2. El análisis genómico completo de 233 cánceres gástricos encontraron 22 alteraciones recurrentes: 13 amplificaciones, 9 deleciones. Dentro de las alteraciones se incluyeron dianas conocidas y nuevas. Se establecieron exclusividad mutua de las alteraciones identificadas, con 5 subgrupos distintos definidos por las alteraciones específicas (Den N, et al. Gut. 2012; 61: 673-684). En este estudio se hicieron hallazgos que sugieren que más de 37% de los cánceres gástricos pueden responder a terapias contra RTK/Ras.

#### **Resumen y conclusión**

En la era terapias dirigidas racionales crecientes, el cáncer gástrico debería ser clasificado Y TRATADO por los eventos moleculares que lo mueven, y no por el sitio de origen (conclusión NO sustanciada por la conferencia, sin embargo). El papel de los microarreglos de alto desempeño van a cambiar nuestra comprensión de esta enfermedad y también nuestra practica clínica.