



EDITORIAL

El largo camino de la biología molecular a la práctica clínica en el cáncer colorrectal



The long road from molecular biology to clinical practice in colorectal cancer

Introducción

El cáncer colorrectal (CCR) es un problema de salud pública global dada su elevada incidencia y mortalidad. Se ha estimado la aparición de más de 1,2 millones de nuevos casos y se han certificado 608.700 muertes por CCR en el año 2008¹. Solo en España, cada año son diagnosticados más de 25.000 nuevos casos, lo que representa el 15% del total anual de todos los diferentes tipos de tumores, y es la segunda causa de muerte por cáncer —después del de pulmón— con más de 13.000 fallecimientos anuales.

La etiología de esta enfermedad es compleja e implica una interacción de factores medioambientales y genéticos. La mayoría de los tumores (60%) tienen un origen esporádico con relación a factores ambientales²; un 27% de los casos parecen ser familiares, causados por alteraciones en genes de susceptibilidad conocidos, y el 10% de los casos son de tipo hereditario, cuyos principales ejemplos son la poliposis adenomatosa familiar (PAF) y el cáncer colorrectal hereditario no polipósico (síndrome de Lynch)^{3,4}.

Mecanismos de carcinogénesis y genes implicados

Desde la descripción de la vía supresora en 1990 por Fearon y Vogelstein correspondiente a la secuencia adenoma-carcinoma⁵, se han descrito 3 vías de carcinogénesis (fig. 1). En la *vía supresora* o de *inestabilidad cromosómica*, los tumores presentan con frecuencia alteraciones del cariotipo, con ganancias y pérdidas cromosómicas, así como translocaciones. El factor presumiblemente iniciador de esta vía sería la pérdida de un gen supresor, como es el gen *APC*. En este grupo de CCR se ubican la mayor parte de los casos de CCR esporádicos (cerca del 85%), pero también aquellos casos de poliposis adenomatosa familiar

que presentan mutaciones a nivel germinal del gen *APC* como base genética.

La *inestabilidad de microsatélites* (IMS) se produce por una inactivación heredada o adquirida en el sistema de reparación de errores de emparejamiento del ADN (dMMR). Este sistema está constituido por varios genes: *MLH1*, *MSH2*, *MSH6*, *PMS2*, entre otros. La alteración de este sistema conduce a la acumulación de alteraciones de los microsatélites, secuencias cortas y repetitivas de nucleótidos que están distribuidos a lo largo de todo el genoma⁶. Actualmente, se definen como tumores con IMS aquellos con alta inestabilidad o ausencia de expresión de una o más proteínas reparadoras de errores de emparejamiento del ADN en el estudio inmunohistoquímico realizado en la pieza tumoral⁷, y está presente en un 15% de los CCR⁸. La IMS se puede producir por mutaciones germinales en los genes reparadores (síndrome de Lynch) o por inactivación somática de los mismos con relación a mecanismos epigenéticos como la hipermetilación de los promotores de los genes reparadores (con mayor frecuencia a nivel de *MLH1*). Este mecanismo justifica los tumores esporádicos con IMS, que presentan un fenotipo clínico caracterizado por la localización en el colon derecho, un alto grado histológico y abundante infiltración linfocitaria en la pieza tumoral.

En los últimos años, se ha descrito la *vía de carcinogénesis* asociada a la metilación de las islas CpG (CIMP)⁹. Esta vía se caracteriza por la hipermetilación de la región promotora y los exones iniciales de un largo número de genes que contienen gran concentración de islas de di-nucleótidos citosina y guanina enlazados por fosfatos, produciéndose su inactivación. Esta vía se ha detectado hasta en un 35% de los pacientes con CCR¹⁰ y se denomina también *vía serrada*, puesto que sería la vía que justificaría la carcinogénesis de las lesiones serradas del colon¹¹.

Por otra parte, la activación o inactivación de oncogenes o genes supresores juega un papel fundamental en el

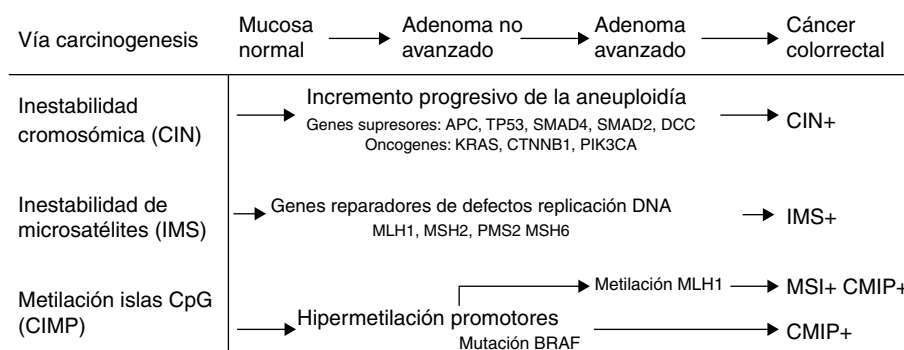


Figura 1 Vías moleculares de carcinogénesis en el cáncer colorrectal.

desarrollo del CCR. Así, los oncogenes *Ras* (*HRAS*, *NRAS*, *KRAS*) codifican proteínas de membrana con actividad guanosa trifosfatasa implicadas en la señalización intracelular de señales extracelulares, entre las que destacan diversos factores de crecimiento. Aproximadamente, en el 40% de los CCR se detectan mutaciones en los codones 12 y 13 del exón 2 del gen *KRAS*. Más recientemente, se han descrito mutaciones del gen *KRAS* fuera del exón 2 y también en el gen *NRAS* (codón 61), aunque estas son menos frecuentes. El gen *BRAF* constituye un miembro de la familia quinasa Raf que se encarga de regular la vía de señalización MAP quinasa/ERK. La mutación más frecuente se detecta en el codón V600E (exón 15) del oncogén *BRAF* y se evidencia hasta en un 30-40% de los CCR¹². Estas mutaciones se asocian con frecuencia a IMS en ausencia de historia familiar de CCR¹³. En la mayoría de los tumores no coexisten mutaciones en *KRAS* y *BRAF*, por lo que se consideran mutuamente excluyentes¹⁴. La función del gen supresor *TP53* consiste en bloquear la proliferación celular ante la presencia de ADN dañado, promueve la reparación del ADN y es capaz de dar lugar a apoptosis celular en el caso de que dicha reparación sea insuficiente. En CCR se han detectado mutaciones en *TP53* hasta en un 70% de los casos¹⁵.

Clasificación molecular y pronóstico

En 2007, Jass¹⁶ formuló una clasificación del CCR en base al estado de IMS, al perfil metilador CIMP, a los genes supresores *APC* y *TP53* y a los oncogenes *KRAS* y *BRAF*; en función de estas alteraciones moleculares, subclasificó al CCR en 5 tipos (tabla 1) y encontró una correlación con diversas características clinicopatológicas: lesión precursora, histología, edad al diagnóstico, sexo y ubicación. Recientemente, 2 artículos publicados han profundizado más en este tema, determinando una asociación entre esta clasificación y el pronóstico de los pacientes, tanto de forma global como en el estadio III^{17,18}.

El estudio de Phipps et al¹⁷ incluyó 2.706 pacientes con CCR diagnosticados entre 1998 y 2007, que fueron clasificados en los 5 subtipos descritos previamente por Jass¹⁶. Así, los pacientes con perfil metilador CIMP (1 y 2) tenían una edad más avanzada al diagnóstico y solían ser mujeres. Las lesiones tumorales de los pacientes con IMS alta o perfil metilador (1, 2, 5) se ubicaron predominantemente proximales al ángulo esplénico. Por otra parte, en el tipo 2 (IMS baja, CIMP alta, mutación *BRAF*) se diagnosticaron en un estadio más avanzado, con una supervivencia a los 5 años

Tabla 1 Clasificación molecular del cáncer colorrectal e implicaciones pronósticas

Clasificación		Tipo 1	Tipo 2	Tipo 3	Tipo 4	Tipo 5
Genotipo	IMS	Alta	Baja/estable	Baja/estable	Baja/estable	Alta
	<i>BRAF</i>	Sí	Sí	No	No	No
	CIMP	Alta	Alta	Baja	No	No
	<i>KRAS</i>	No	No	Sí	No	No
Fenotipo		IMS esporádico/serrado	Serrado	Inestabilidad cromosómica	Inestabilidad cromosómica	IMS familiar
Frecuencia ^{17,18}		6,8-7%	4-6,9%	26-35%	47-49%	2,6-4%
Supervivencia libre enfermedad 5 años (todos) ¹⁷		89,5%	49,2%	72,4%	82,5%	93,1%
Supervivencia libre enfermedad 5 años (estadio III) ¹⁸		71%	49,2%	57,7%	65,3%	70,9%
Localización proximal ¹⁸		95,1%	75,3%	58,1%	33,2%	86,4%
Edad (< 50 años) ¹⁸		4,3%	7,9%	21,7%	25,8%	63,4%
Sexo femenino ¹⁸		69%	58,7%	48,6%	41,9%	38%

CIMP: CpG island methylator phenotype; IMS: inestabilidad de microsatélites.

inferior al resto de los subtipos. En cambio, la supervivencia fue superior en los CCR con IMS alta (subtipos 1 y 5). Finalmente, la mortalidad fue significativamente inferior en el subtipo 3 (IMS baja, CIMP negativa, mutación *KRAS*), cuando se comparó con el subtipo 4 (IMS baja, CIMP negativa, no mutaciones) con una razón de riesgos proporcionales de 1,32.

Estos resultados fueron corroborados por el grupo de Sinicrope¹⁸ en un estudio análogo en el que se analizaron las características moleculares (mutaciones *BRAF* y *KRAS*, IMS y metilación del promotor *MLH1*) de 2.720 CCR en estadio III tratados con quimioterapia adyuvante (tabla 1). En este trabajo, las características clínicas de cada uno de los diferentes subtipos fueron consistentes con los resultados descritos en el estudio de Phipps et al.¹⁷, tal como se muestra en la tabla 1. Los pacientes con IMS baja y con mutaciones en *BRAF* (Hazard Ratio [HR] 1,43; intervalo de confianza [IC] 95% 1,11-1,85) o *KRAS* (HR 1,48; IC 95% 1,27-1,47) tenían peor supervivencia a los 5 años que aquellos sin mutaciones en dichos genes. Por otra parte, la supervivencia libre de enfermedad de los pacientes con IMS baja sin mutaciones en *BRAF* o *KRAS* es similar a la de los pacientes con IMS alta.

Cabe destacar la diferencia entre las supervivencias detectadas entre los 2 subtipos con perfil metilador (1 y 2). Aunque estos 2 subtipos son similares respecto a las características clínicas (edad avanzada, predominio de sexo femenino y ubicación proximal), la presencia de IMS alta incrementa la probabilidad de supervivencia. La mayoría de los estudios previos que habían evaluado la importancia pronóstica de IMS, CIMP y mutaciones en *BRAF* y *KRAS* habían evaluado estos marcadores de forma individual. Un metaanálisis reciente ha asociado una IMS alta a un incremento de la supervivencia global del 40% (IC 95% 31-47%)¹⁹ y la mutación *BRAF* V600E se ha asociado con una peor supervivencia. Por su parte, los estudios de supervivencia en relación con el perfil metilador y las mutaciones en *KRAS* y *NRAS* no se habían mostrado consistentes, probablemente porque no se habían tomado en consideración el resto de características moleculares.

La base biológica de las diferencias observadas en la supervivencia CCR subtipo específico sigue siendo un tema importante para la investigación futura. De hecho, aunque los subtipos 2 y 3 fueron diagnosticados en una etapa avanzada en el estudio de Phipps et al., los autores indican que este peor pronóstico está relacionado con una historia natural más agresiva, tal como se confirma en el estudio de Sinicrope et al.^{17,18}.

Implicaciones terapéuticas de la clasificación molecular

Los resultados de los 2 artículos son una base para establecer un valor pronóstico de la clasificación molecular en el CCR. Sin embargo, estos estudios no fueron diseñados para analizar diferencias de respuesta al tratamiento en función del subtipo. En este sentido, es ampliamente conocida la ausencia de respuesta al 5-fluorouracilo en monoterapia en pacientes con IMS alta o perfil metilador^{20,21}. Por este motivo, en estadios intermedios (TNM II) con mejor pronóstico se debe evaluar la IMS antes de plantear la necesidad y

el tipo de quimioterapia adyuvante^{22,23}. Asimismo, el estado mutacional del gen *KRAS/NRAS* es un factor predictivo de respuesta a terapias específicas frente al receptor del factor de crecimiento epidérmico como el cetuximab y el panitumumab. Cabe destacar que no solo los pacientes con el gen *KRAS/NRAS* mutado no responden a estos tratamientos, sino que los pacientes con *KRAS/NRAS* nativo, pero con mutación en el gen *BRAF*, tienen un intervalo libre de enfermedad y una supervivencia global inferior²⁴. Por este motivo, parece necesaria la determinación de mutaciones en *KRAS/NRAS* y se recomienda, también en el gen *BRAF*, en todo paciente con CCR metastásico para la correcta elección del tratamiento antineoplásico.

Otro avance significativo en el tratamiento del CCR ha sido publicado recientemente. La *vía de muerte programada 1* (PD-1) es un sistema de retroalimentación negativo que controla la respuesta inmune citotóxica Th1. En muchos tumores, esta vía está activa, produciendo una inactivación de los linfocitos T supresores y por lo tanto la ausencia de respuesta inmune. El bloqueo con anticuerpos dirigidos produce respuestas clínicas relevantes en diversos tumores. Sin embargo, en el estudio de Topalian et al. se demostró que solo uno de 33 pacientes con CCR respondía al bloqueo de PD-1, y esta respuesta se asoció a la presencia de IMS alta²⁵. Por este motivo, Le et al. han llevado a cabo un estudio fase II para evaluar la actividad clínica de pembrolizumab en 41 pacientes con cánceres metastásicos refractarios a tratamiento en función de la IMS. En este estudio, los pacientes con CCR IMS alta tratados con pembrolizumab tuvieron una mayor tasa de respuesta (40% vs. 0%), supervivencia libre de progresión (78% vs. 11%) y un menor riesgo de progresión de la enfermedad (HR 0,04; IC 95% 0,01-0,21) o muerte (HR 0,18; IC 95% 0,03-1,01) respecto a los pacientes con IMS baja. Por otra parte, los pacientes con cánceres no colorrectales con IMS alta tuvieron respuestas similares a aquellos con CCR con IMS alta²⁶.

En conclusión, los últimos hallazgos obtenidos, junto a la información ya conocida, ponen de relieve que la clasificación molecular del CCR es relevante a la hora de establecer y comunicar el pronóstico de esta enfermedad a los pacientes. De igual forma, a la hora de decidir el curso terapéutico (tratamiento adyuvante, quimioterapia en CCR metastásico en primera línea y tras progresión) se requiere conocer las alteraciones moleculares implicadas en el desarrollo del tumor. Por lo tanto, en un futuro cercano, la toma de decisiones en los pacientes con CCR se verá determinada no solo por el estadio tumoral, sino también por los diferentes subtipos moleculares descritos en la literatura.

Financiación

Joaquín Cubiella ha recibido una beca de intensificación a través del programa «BIOCAPS» financiado por la Comisión Europea (FP-7-REGPOT 2012-2013-1, Grant agreement núm. FP7- 316265).

Bibliografía

1. Jemal A, Bray F, Center MM, Ferlay J, Ward E, Forman D. Global cancer statistics. *CA Cancer J Clin.* 2011;61:69-90.
2. DeVita VT Jr, Hellman S, Rosenberg SA. *Cancer: Principles and Practice of Oncology*. 8th ed Lippincott-Raven; 2008.

3. Piñol V, Andreu M, Castells A, Payá A, Bessa X, Rodrigo J, et al. Frequency of hereditary non-polyposis colorectal cancer and other colorectal cancer familial forms in Spain: A multicentre, prospective, nationwide study. *Eur J. Gastroenterol Hepatol.* 2004;16:39–45.
4. Lynch HT, de la Chapelle A. Hereditary colorectal cancer. *N Engl J Med.* 2003;348:919–32.
5. Fearon ER, Vogelstein B. A genetic model for colorectal tumorigenesis. *Cell.* 1990;61:759–67.
6. Grady WM. Genomic instability and colon cancer. *Cancer Metastasis Rev.* 2004;23:11–27.
7. Thibodeau SN, Bren G, Schaid D. Microsatellite instability in cancer of the proximal colon. *Science.* 1993;260:816–9.
8. Peltomäki P. Role of DNA mismatch repair defects in the pathogenesis of human cancer. *J Clin Oncol.* 2003;21:1174–9.
9. Ogino S, Kawasaki T, Kirkner GJ, Kraft P, Loda M, Fuchs CS. Evaluation of markers for CpG island methylator phenotype (CIMP) in colorectal cancer by a large population-based sample. *J Mol Diagn.* 2007;9:305–14.
10. Boland CR, Thibodeau SN, Hamilton SR, Sidransky D, Eshleman JR, Burt RW, et al. A National Cancer Institute Workshop on Microsatellite Instability for cancer detection and familial predisposition: Development of international criteria for the determination of microsatellite instability in colorectal cancer. *Cancer Res.* 1998;58:5248–57.
11. Snover DC. Update on serrated pathway to colorectal carcinoma. *Hum Pathol.* 2011;42:1–10.
12. Ogino S, Meyerhardt JA, Irahara N, Niedzwiecki D, Hollis D, Saltz LB, et al. KRAS mutation in stage III colon cancer and clinical outcome following intergroup trial CALGB 89803. *Clin Cancer Res.* 2009;15:7322–9.
13. Niault TS, Baccarini M. Targets of Raf in tumorigenesis. *Carcinogenesis.* 2010;31:1165–74.
14. Bos JL. The ras gene family and human carcinogenesis. *Mutat Res.* 1988;195:255–71.
15. Lane DP. Cancer. p53, guardian of the genome. *Nature.* 1992;358:15–6.
16. Jass JR. Classification of colorectal cancer based on correlation of clinical, morphological and molecular features. *Histopathology.* 2007;50:223–30.
17. Phipps AI, Limburg PJ, Baron JA, Burnett-Hartman AN, Weisenberger DJ, Laird PW, et al. Association between molecular subtypes of colorectal cancer and patient survival. *Gastroenterology.* 2015;148:77–87.
18. Sinicrope FA, Shi Q, Smyrk TC, Thibodeau SN, Dienstmann R, Guinney J, et al. Molecular markers identify subtypes of stage III colon cancer associated with patient outcomes. *Gastroenterology.* 2015;148:88–99.
19. Guastadisegni C, Colafranceschi M, Ottini L, Dogliotti E. Microsatellite instability as a marker of prognosis and response to therapy: A meta-analysis of colorectal cancer survival data. *Eur J Cancer.* 2010;46:2788–98.
20. Jover R, Nguyen TP, Pérez-Carbonell L, Zapater P, Payá A, Alenda C, et al. 5-Fluorouracil adjuvant chemotherapy does not increase survival in patients with CpG island methylator phenotype colorectal cancer. *Gastroenterology.* 2011;140:1174–81.
21. Jover R, Zapater P, Castells A, Llor X, Andreu M, Cubiella J, et al. The efficacy of adjuvant chemotherapy with 5-fluorouracil in colorectal cancer depends on the mismatch repair status. *Eur J Cancer.* 2009;45:365–73.
22. Tejpar S, Bosman F, Delorenzi M, Fiocca P, Yan D, Klingbiel D, et al. Microsatellite instability (MSI) in stage II and III colon cancer treated with 5-FU-LV or 5FU-LV and Irinotecan (PETACC 3-EORTC 40993-SAKK 60/00 trial). *Proc ASCO Meeting Abstract.* 2009;27:4001.
23. Ribic CM, Sargent DJ, Moore DJ, Thibodeau SN, French AJ, Goldberg RM, et al. Tumor microsatellite-instability status as a predictor of benefit from fluorouracil-based adjuvant chemotherapy for colon cancer. *N Engl J Med.* 2003;349:247–57.
24. Di NF, Martini M, Molinari F, Sartore-Bianchi A, Arena S, Saletti P, et al. Wild-type BRAF is required for response to panitumumab or cetuximab in metastatic colorectal cancer. *J Clin Oncol.* 2008;26:5705–12.
25. Topalian SL, Hodi FS, Brahmer JR, Gettinger SN, Smith DC, McDermott DF, et al. Safety, activity, and immune correlates of anti-PD-1 antibody in cancer. *N Engl J Med.* 2012;366:2443–54.
26. Le DT, Uram JN, Wang H, Bartlett BR, Kemberling H, Eyring AD, et al. PD-1 blockade in tumors with mismatch-repair deficiency. *N Engl J Med.* 2015;372:2509–20.

María Carmen Areses Manrique^a, Leticia Iglesias Rey^a
y Joaquín Cubiella^{b,*}

^a Servicio de Oncología Médica, Complejo Hospitalario Universitario de Ourense, Ourense, España

^b Servicio de Aparato Digestivo, Complejo Hospitalario Universitario de Ourense, Instituto de Investigación Biomédica Ourense, Pontevedra y Vigo, Ourense, España

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: joaquin.cubiella.fernandez@sergas.es
(J. Cubiella).