



Artículo de revisión

Sitio web: www.igbmgenetica.com

Cáncer: Mecanismos moleculares y terapias emergentes Cancer: Molecular mechanisms and emerging therapies

Jovanka Gencil Augusto¹, Víctor Andrés Zegarra León²

1. Universidad Peruana Cayetano Heredia (UPCH), Lima, Perú. BSc en Biología, MSc(c) en Bioquímica y Biología Molecular.
2. Universidad Peruana de Ciencias Aplicadas (UPC), Lima, Perú. Estudiante de Nutrición y Dietética.

Corresponding authors: Jovanka Gencil Augusto en Av. Honorio Delgado 430. Urb. Ingeniería, SMP.
Laboratorio Pathoantigenos (302), LID-UPCH.
jovanka.gencil@upch.pe, victorzegarraleon@gmail.com

Recibido 3 enero 2017, Aceptado 19 enero 2017.

© 2017 Todos los derechos reservados

Resumen

El cáncer es una enfermedad que afecta a nuestra población en una tasa creciente. La incidencia de mortalidad por cáncer es bastante alta; sin embargo, los programas de prevención, así como de tratamiento e investigación, aún no son suficientes. En este artículo presentamos una breve descripción sobre el cáncer y los fundamentos biológicos de su inicio y progresión, así como de uno de los eventos más críticos, como es la metástasis. Finalmente, se revisarán algunos aspectos de las terapias actuales contra el cáncer: la quimioterapia convencional, sus inicios y los avances más recientes; así como nuevas terapias específicas y focalizadas que buscan evitar los efectos secundarios no deseados.

Palabras clave: Cáncer, metástasis, quimioterapia, Terapia Fotodinámica Focalizada Vascular (VTP), inmunoterapia.

Abstract

Cancer is a disease that affects our population at an increasing rate. The incidence-based mortality due to cancer is very high, however, prevention-oriented programs, and those dedicated to research and treatment advances, are still not enough. In this article we present a brief review on cancer and the biological basis of its origin and progression, as well as one of its most critical events, metastasis. Finally, we will review particular aspects of the current therapies for cancer: conventional chemotherapy, its beginnings and its more recent advances, as well as novel specific and focalized therapies that intend to avoid undesired secondary effects.

Key words: Cancer, metastasis, chemotherapy, Vascular Targeted Photodynamic Therapy (VTP), immunotherapy.

Introducción

El cáncer es un problema de salud pública a nivel mundial, y el Perú no es la excepción. Según el Instituto Nacional de Enfermedades Neoplásicas, en el año 2015 hubo 75,197 casos de cáncer, de los cuales los tipos más frecuentes corresponden a cáncer de cuello uterino, próstata, mama, estómago, colon-recto y pulmón (1). Asimismo, un reporte del 2013 de la Organización Mundial de la Salud en conjunto con la Organización Panamericana de la Salud muestra que en el 2010 se produjeron aproximadamente 30,000 muertes por cáncer en el Perú, siendo el cáncer de estómago el más prevalente en hombres y mujeres, seguido por cáncer de próstata y cuello uterino, respectivamente (2). A pesar de la notable problemática, los programas de prevención de cáncer, difusión de información, así como los esfuerzos para promover la investigación en cáncer en el Perú son muy escasos (3).

Esta enfermedad se caracteriza por la proliferación exacerbada de células, como producto de alteraciones en la composición y/o expresión de su genoma. Cuando ocurren mutaciones que son favorables para la supervivencia celular, estas células toman ventaja sobre las adyacentes, lo que ocasiona una colonización local del tejido por células malignas. Sin embargo, las mutaciones no son la única forma de contribuir a un crecimiento descontrolado. La inactivación o sobre activación de genes que participan en los procesos de proliferación celular, reparación de daños en el ADN, apoptosis, entre otros, puede deberse tanto a mutaciones como a mecanismos epigenéticos (tales como la metilación del ADN), promoviendo finalmente el fenotipo de división desmesurado (4).



Mecanismos para la progresión del cáncer

Si bien definimos al cáncer como la enfermedad en la que las células se dividen sin control, el resultado que observamos puede tener múltiples causas, precisamente por haber muchos protagonistas en el proceso de proliferación celular. A continuación, intentaremos resumir algunas de las más conocidas hasta el momento.

Para mantener una proliferación sostenida, es necesario que las vías de señalización que permiten la división celular estén activadas. Para esto, las células cancerosas presentan múltiples adaptaciones. Pueden producir factores de crecimiento que estimulen su propia proliferación; sobreexpresar receptores de superficie para los factores de crecimiento generados en la misma célula o provenientes de otras células (5); asimismo, algunas células cancerosas tienen la capacidad de estimular a las células normales adyacentes para la producción de factores de crecimiento que usan a su favor (6). También, existen mecanismos de proliferación independientes de un ligando (factores de crecimiento), debidos a mutaciones en los componentes que están más abajo en la cascada de señalización. Por ejemplo, alteraciones estructurales en los receptores pueden comunicar señales de activación de la vía sin necesidad de unión del ligando. De igual manera, mutaciones en los efectores de las vías de señalización, como en la subunidad catalítica p110 α de la fosfoinositol 3-quinasa (PI3K) que la mantiene activa, generan una señalización constitutiva de esta vía, promoviendo la proliferación celular descontrolada (7). Los reguladores negativos de las vías de señalización también son blancos de mutaciones que contribuyen al desarrollo del cáncer. Cuando la fosfatasa PTEN, cuyo rol es degradar el producto de la PI3K, sufre mutaciones o modificaciones en el promotor que inactivan su función, exagera la señalización por PI3K, promoviendo la tumorigénesis (8).

Es cierto que mantener vías de señalización que promuevan la proliferación celular es importante en el desarrollo del cáncer, pero también es necesario cierto grado de evasión de aquellos mecanismos que impiden o regulan negativamente la proliferación celular. Aquí, el rol de los genes supresores de tumores es vital, ya que están involucrados en procesos como detección de daño del ADN, reparación de daños en el ADN o en la intercepción de moléculas antes de que ejerzan acciones que amenazan la integridad del ADN (9). Se ha visto que estos genes están generalmente inactivados en distintas formas de cáncer. Probablemente, el efector más conocido sea la proteína tumoral p53, cuyo rol en conservar la estabilidad del genoma mediante la prevención de mutaciones es crucial, lo cual influye en la decisión de una célula de activar programas de proliferación o apoptosis, según sea el caso. P53 recibe señales de estrés (tales como baja concentración de glucosa, de oxígeno, falta de nucleótidos o ausencia de factores de crecimiento) y daño celular, que, en caso de ser muy pronunciado o irreparable, desata una serie de señales que frenan el ciclo celular o llevan a apoptosis (10).

Cuando hablamos de apoptosis, existen diversos mecanismos por los cuales una célula inicia este proceso y otros más por los cuales no lo realiza. Los tumores evolucionan estrategias que les permitan evitar desatar una señal que los conduzca hacia la muerte celular programada. Como ya mencionamos, la falla en la expresión de la proteína P53 es uno de estos. Sin embargo, no es el único. Los tumores también pueden evitar la apoptosis mediante la sobreexpresión o sobre activación de efectores anti-apoptóticos, tales como Bcl-2, o mediante la expresión incrementada de señales de supervivencia, como el Igf1/2 (11).

Si miramos el cáncer de una forma más amplia, notamos que hay mecanismos naturales que regulan el grado de proliferación de las células, ya que estas son capaces de censar cuando hay una población mayor a la que se puede mantener en el ambiente disponible, lo que permite la activación de mecanismos que suprimen la proliferación celular. Se ha determinado que las células cancerígenas pierden esta capacidad de "inhibición por contacto" *in vitro*. Algunos de los mecanismos por los cuales funciona la inhibición por contacto incluyen el secuestro de factores de crecimiento, así como el refuerzo de moléculas de adhesión de célula-célula como las cadherinas (12). Así, la alteración de la función de aquellas moléculas que participan en este proceso estaría contribuyendo al desarrollo de la enfermedad.

Hasta ahora, hemos mencionado distintos mecanismos por los cuales las células adquieren una capacidad proliferativa excesiva, importante en la progresión del cáncer. Sin embargo, no hemos mencionado aún cómo es que estas modificaciones del genoma estarían ocurriendo. Un mecanismo recientemente estudiado es el acortamiento de los telómeros, repeticiones de nucleótidos en tándem que normalmente se acortan progresivamente en las células tras cada división, lo cual impide la protección de los extremos del cromosoma y hace susceptible a la célula a aberraciones cromosómicas. La telomerasa es una enzima cuya principal función es la de extender los telómeros, de modo que esto permita a la célula tener más divisiones sin dañar el ADN ni activar la vía de apoptosis. Se ha visto que la telomerasa está expresada en niveles altos en células cancerígenas, mientras que aquellas células que no tienen capacidad proliferativa indefinida no tienen una telomerasa funcional. Se hipotetiza que, en la progresión hacia el cáncer, sería necesario el acortamiento de los telómeros para dar lugar a mutaciones que otorguen alguna ventaja de supervivencia a estas células. Es a partir de la sobreexpresión de la telomerasa, que estos cambios se fijan y son transmitidos a su descendencia, confiriéndoles capacidad de replicación ilimitada (13).



Metástasis

Si bien el cáncer, incluso siendo diagnosticado en estadios tempranos, ya es una enfermedad bastante compleja, es aún más difícil cuando las células cancerosas han hecho metástasis, la cual es causante del 90% de muertes por tumores sólidos. La metástasis es el término usado para el proceso que siguen las células cancerosas al alterar su microambiente, entrar a la circulación y colonizar un órgano distante (14). Aunque esto no ocurre en todos los casos clínicos, las células que lo logran deben superar muchas barreras. La metástasis es vista como un proceso compuesto por varias etapas: primero, es necesaria la pérdida de la adhesión celular; luego, las células deben aumentar su motilidad y tener la capacidad de invadir tejidos; esto seguido de la entrada y supervivencia en la circulación; así como la salida hacia el nuevo tejido y su colonización (15).

La alteración mejor caracterizada en la metástasis es la pérdida de E-cadherina, principalmente por metilación del promotor, una molécula importante para la unión célula-célula cuya función normal es formar uniones adherentes entre células epiteliales adyacentes, ayudando al ensamblaje y mantenimiento de las capas epiteliales. Se ha demostrado que la sobreexpresión de esta molécula es un factor protector para el desarrollo de metástasis, mientras que una inhibición en su expresión, potencia este fenotipo (16). Un proceso regulatorio del desarrollo embrionario conocido como transición epitelio-mesénquima (TEM) ocurre también en las células cancerígenas, modificando las moléculas de adhesión expresadas por la célula, permitiéndole adoptar un comportamiento migratorio e invasivo. En este proceso están involucrados algunos factores de transcripción conocidos como Snail, Zeb, Slug, entre otros (17). La alteración en la expresión de estos factores de transcripción ha sido asociada con fenotipos como la pérdida de adherencia celular, cambio en la morfología, expresión de enzimas que degradan la matriz, motilidad aumentada y resistencia a apoptosis. Asimismo, algunos de estos pueden reprimir directamente la expresión de E-cadherina (18, 19).

Igualmente, se ha determinado que las células no tumorales adyacentes a las cancerígenas pueden ser estimuladas por el tumor para liberar moléculas que finalmente ayudan a incrementar la capacidad del tumor para la invasión, tales como proteasas para la degradación de la matriz (20). El modelo de metástasis es muy sofisticado y, como podemos ver, implica muchos pasos y protagonistas a nivel celular y molecular.

Historia y avances de la quimioterapia

La quimioterapia se basa en la aplicación de sustancias químicas para suprimir el tumor canceroso (21). Los inicios de esta terapia se remontan a 1942, cuando se utilizó por primera vez la mostaza de nitrógeno, también conocida como clormetina, para tratar a un paciente con linfoma no Hodgkin y mostrar que el uso de ciertos químicos puede inducir a la regresión tumoral (22). Posteriormente, entre 1967 y 1970, algunas de las sustancias químicas que habían demostrado tener un efecto positivo en la lucha contra el cáncer, empezaron a usarse en conjunto, práctica que es también conocida como terapia combinada (22). El fundamento detrás de este enfoque terapéutico es que el cáncer, al ser una enfermedad en la cual distintas vías convergen, no puede ser afrontado tan eficientemente con un solo agente terapéutico. Fue así como se llevaron a cabo estudios que verificaban la eficacia del uso cíclico pero combinado de ciclofosfamida, vincristina, metotrexato y prednisona en pacientes con la enfermedad de Hodgkin (23, 24). Los resultados fueron asombrosos, el uso combinado de estos fármacos incrementaba la incidencia de una remisión total en los pacientes a comparación del uso individual de cada uno (23). Además, a pesar de contar con una muestra reducida de 43 pacientes, el 81% logró una remisión total que duró no menos de 2 años y medio, mejorando la tasa de supervivencia de estos pacientes (24).

Hoy en día, la quimioterapia combinada tiene un mayor sustento científico, articulándose bajo tres pilares principalmente: la combinación de distintos fármacos no debe presentar toxicidad superpuesta, debe evitar la resistencia cruzada y debe mejorar la eficacia con la cual se eliminan las células cancerosas (25). Además, como menciona Hu y colaboradores, los avances más recientes no se basan solamente en el descubrimiento de nuevas sustancias quimioterapéuticas, sino más bien el enfoque más novedoso es desarrollar nuevos mecanismos o vías de suministrar dichos compuestos (21). Es así como el avance exponencial que la nanotecnología ha experimentado en los últimos años ha permitido el uso de nanopartículas para encapsular fármacos hidrofóbicos e hidrofílicos de forma conjunta y, por otro lado, tener un control más preciso tanto espacialmente como temporalmente sobre la liberación de estas sustancias químicas (21, 26, 27).

Otro avance relativamente moderno es el desarrollo de las terapias dirigidas contra el cáncer, es decir, aquellas cuyo objetivo es interferir con moléculas específicas que estén asociadas a la progresión de la enfermedad. En un gran número de cánceres se ha visto que las tirosina-quinazas se ven altamente desreguladas, afectando no solo su actividad sino además alterando la función, usualmente regulada, de distintas vías de señalización (28). Es por este motivo que moléculas específicas como estas se están volviendo blancos terapéuticos cada vez más atractivos. En ciertos cánceres, como en la leucemia mieloide crónica, se ha visto que la proteína de fusión BCR-ABL, ausente en células normales, mantiene su actividad de tirosina-quinasa constantemente activada (29). Así, fármacos como el Imatinib, son capaces de inhibir específicamente a este tipo de moléculas uniéndose al sitio activo de la tirosina-quinasa y restaurando el funcionamiento regulado de esta enzima. Si bien se ha visto que el Imatinib también regula la acción de la proteína ABL, presente en células normales, éstas células presentan vías de señalización redundantes capaces de suplir la inhibición de la actividad de ABL (30).



Nuevos alcances de la terapia anti-tumoral

Es importante recalcar que la principal característica subyacente a las nuevas propuestas para manejar o erradicar el cáncer debe ser una capacidad más eficiente de ser selectivamente tóxica frente a células cancerosas y no frente a células no-cancerosas (31). Es por esto que, hoy en día, la especificidad terapéutica que se le puede brindar a los pacientes oncológicos para evitar efectos secundarios es cada vez más valorada y perseguida desde un ámbito biotecnológico. Es en este sentido que presentaremos algunas de las técnicas o descubrimientos más recientes para tratar el cáncer con una especificidad más sofisticada.

Si bien la metformina ha sido utilizada con bastante efectividad en el tratamiento de la diabetes tipo 2, su aplicación como agente terapéutico en la prevención y el tratamiento del cáncer está siendo prometedor (32). Particularmente, se ha visto que este tipo de fármacos (biguanidas) son capaces de inhibir el crecimiento celular de dos cánceres, melanoma y cáncer pancreático (32, 33, 34). Se sabe que la metformina, a través de una inhibición a nivel mitocondrial, es capaz de generar estos cambios positivos, sin embargo, aún no se tenía tan claro como ocurría esto. Es a partir del trabajo en *Caenorhabditis elegans*, realizado por Wu y colaboradores, que dos elementos han sido identificados como indispensables para posibilitar los mecanismos inhibitorios de la metformina a nivel celular: el complejo del poro nuclear y la acil-CoA deshidrogenasa 10 (32). Aparentemente, una vía altamente conservada entre la mitocondria y el complejo proteico mTORC1, el cual es un sensor de estrés y regula la síntesis proteica, explicaría por qué la metformina inhibe el crecimiento celular al producir cambios conformacionales del complejo del poro nuclear restringiendo así el transporte molecular (32). Asimismo, se descubrió que la inhibición de mTORC1, a partir de las restricciones inducidas por la metformina en el poro nuclear, aumenta la transcripción del gen *ACAD10* (acil-CoA deshidrogenasa) y que este sería un paso requerido para la actividad anti-tumoral del fármaco (32). De esta forma, el descubrimiento de estos nuevos elementos en el entendimiento del cáncer podría generar potenciales blancos terapéuticos más específicos.

Es en esta línea que un nuevo tratamiento para el cáncer de próstata de bajo riesgo, denominado Terapia Fotodinámica Focalizada Vasculosa (VTP por sus siglas en inglés) acaba de ser publicado en un ensayo clínico randomizado de fase 3 (35). Antes de iniciar el estudio de esta terapia en humanos, el desarrollo de esta nueva técnica se remonta a inicios del año 2000 con estudios in vivo en caninos como una manera alternativa y novedosa de tratar el cáncer de próstata (36). La principal ventaja de este avance tecnológico es que permite, de manera no quirúrgica, eliminar células cancerosas sin dañar el tejido sano, además de evitar, al largo plazo, efectos secundarios comunes del enfoque terapéutico actual como lo son la incontinencia urinaria y la disfunción eréctil (35). Esta nueva metodología terapéutica consiste en inyectar, de manera intravenosa, un fármaco sensible a la luz que circulará sistemáticamente por el torrente sanguíneo del paciente y será absorbido por los distintos tejidos. Lo que es interesante acerca de este fármaco llamado **TOOKAD® Soluble** (WST11 o palediporfina) es que fue sintetizado a partir de bacterioclorofilas correspondientes a bacterias que se encuentran en el fondo del mar y que, al verse expuestas a una luz láser de 730nm, producen radicales libres capaces de inducir muerte a las células cercanas (37, 38). Es por esto que luego de administrar este fármaco, se ilumina focalmente el área de la próstata que ha sido previamente identificada como cancerosa a través de resonancia magnética nuclear (37). El resultado del daño vascular provocado precisamente en el tumor produce una serie de eventos en cascada tales como trombosis, oclusión de vasos y finalmente la necrosis del tumor (37). Al comparar los efectos de esta nueva terapia con el tratamiento actual, la vigilancia activa del tumor, se encontró que el 49% de los pacientes entraron a una remisión total mientras que del grupo control solo el 13.5% lograron eliminar por completo el tumor (35). Esta técnica está en evaluación para el tratamiento de otros tipos de cánceres, incluso en etapas más avanzadas de la enfermedad. Sin embargo, cuestiones como cuáles serán los efectos de este tratamiento en las tasas de control de cáncer de próstata al largo plazo o la estabilidad de los tejidos subyacentes al área de tratamiento, urgen la necesidad de evaluar este nuevo enfoque en un marco temporal más amplio (35).

Inmunoterapia en cáncer

El sistema inmune es la defensa del organismo frente a cualquier ataque. Últimamente, se está investigando el potencial de este sistema para el desarrollo de terapias contra el cáncer. Algunas estrategias para potenciar la actividad de las células T contra tumores han sido descritas. En primer lugar, la gran ventaja de incrementar la capacidad de las células T para atacar tumores es su especificidad. Estas células son capaces de expresar receptores que reconocen péptidos presentados por el complejo mayor de histocompatibilidad, de una gran mayoría de las proteínas en una célula. Otra característica importante es la habilidad de memoria. Una vez que se da una respuesta primaria mediada por células T, se promueve la producción de células T de memoria cuya acción es bastante rápida una vez que hay un segundo encuentro con el antígeno en cuestión. Finalmente, las células T tienen el potencial de generar hasta 10^{15} diferentes receptores (39), lo cual es una gran ventaja frente a la alta tasa de mutación que poseen los tumores. Las células T tienen programas tanto de activación como de represión de su respuesta. Una de las moléculas involucradas en el proceso de inhibición de la respuesta es CTLA-4 (Cytotoxic T-lymphocyte Antigen 4), la cual compite con CD28 por su unión a una molécula presente en la célula presentadora de antígenos, B7, necesaria para el reconocimiento del antígeno (40). El rol de esta molécula es evitar respuestas exacerbadas frente a tejidos normales en el organismo. Sin embargo, cuando una respuesta inmune mediada por células T está en el proceso de erradicación de un tumor, si el programa de inhibición de la respuesta se enciende (mediado por CTLA-4) antes de que el tumor haya sido eliminado por completo, quedarán remanentes y al sistema inmune no le será posible eliminar el tejido maligno. Tomando esta idea, la producción de un anticuerpo, Ipilimumab, que bloquea CTLA-4



Conclusiones

El cáncer es una enfermedad que afecta a nuestra población, con una alta tasa de mortalidad y un creciente número de nuevos casos por año. Esta enfermedad está caracterizada por la proliferación exacerbada de células, como producto de alteraciones en la composición y/o expresión de su genoma, debido a distintos mecanismos. Entre estos destacan la capacidad para mantener activas aquellas vías de señalización que llevan hacia la proliferación descontrolada, así como aquellos mecanismos que la inhiben. También, estrategias que les permitan evitar la apoptosis, la pérdida de la capacidad de "inhibición por contacto", así como el acortamiento de los telómeros que genera alteraciones en el ADN y la sobreexpresión de la telomerasa para la fijación de estas. Durante la metástasis, las células logran colonizar otros tejidos gracias a la pérdida de la adhesión celular, un aumento de motilidad celular, así como la capacidad de invasión de un nuevo ambiente.

En cuanto a los tratamientos anti-tumorales, el progreso de estos ha tenido avances cada vez más favorables para los pacientes. Si bien la quimioterapia, tanto monoterapéutica como combinada, ha contribuido enormemente en la batalla contra el cáncer, el nuevo horizonte biotecnológico se basa en el desarrollo de terapias más focalizadas y que evitan, en un mayor grado, efectos secundarios negativos. Es así como, hoy en día, las terapias dirigidas contra el cáncer, el uso de fármacos como la metformina, la Terapia Fotodinámica Focalizada Vasculosa y los esfuerzos más recientes en inmunoterapia, indican un futuro bastante prometedor. En definitiva, al promover la investigación del cáncer y estudiar los mecanismos moleculares que subyacen a su origen y su evolución, tenemos una mayor probabilidad de desarrollar tecnologías cada vez más eficientes y menos perjudiciales para el paciente.

Declaración de conflicto de intereses

Los autores de este artículo declaran no tener ningún conflicto de interés.

Referencias bibliográficas

1. Instituto Nacional de Enfermedades Neoplásicas (INEN). Resumen de indicadores de salud [Internet]. Lima: INEN; 2016 [citado el 01 de julio de 2016]. Disponible en: http://www.inen.sld.pe/portal/documentos/pdf/estadistica/datos_estadisticos/29032016_RESUMEN%20INDICADORES%20INTRANET.pdf
2. Pan American Health Organization (PAHO). Cancer in the Americas: Country Profiles 2013; 2013. Disponible en: <http://www.uicc.org/sites/main/files/private/Cancer-Country-Profiles-2013-ENG.pdf>
3. Rolfo C, Caglevic C, Bretel D, Hong D, Raza L, Cardona A et al. Cancer clinical research in Latin America: current situation and opportunities. Expert opinion from the first ESMO workshop on clinical trials, Lima, 2015. ESMO. 2016; 1 (4)
4. Jones PA, Baylin SB. The epigenomics of cancer. *Cell*. 2007; 128: 683–692
5. Witsch E, Sela M, Yarden Y. Roles for growth factors in cancer progression. *Physiology (Bethesda)*. 2010; 25: 85–101.
6. Cheng N, Chytil A, Shyr Y, Joly A, Moses HL. Transforming growth factor-beta signaling-deficient fibroblasts enhance hepatocyte growth factor signaling in mammary carcinoma cells to promote scattering and invasion. *Mol. Cancer Res*. 2008; 6: 1521–1533.
7. Yuan TL, Cantley LC. PI3K pathway alterations in cancer: variations on a theme. *Oncogene*. 2008; 27 (41): 5497-510.
8. Jiang BH, Liu LZ. PI3K/PTEN signaling in angiogenesis and tumorigenesis. *Adv. Cancer Res*. 2009; 102: 19–65.
9. Ciccio A, Elledge SJ. The DNA damage response: making it safe to play with knives. *Mol. Cell*. 2010; 40: 179–204.
10. Juntila MR, Evan GI. P53 a Jack of all trades but master of none. *Nat Rev Cancer*. 2009; 9(11): 821-9.
11. Trisciuglio D, Desideri M, Ciuffreda L, Mottolise M, Ribatti D, Vacca A, et al. Bcl-2 overexpression in melanoma cells increases tumor progression-associated properties and in vivo tumor growth. *J Cell Physiol*. 2005; 205(3):414-421.
12. Curto M, Cole BK, Lallemand D, Liu CH, McClatchey AIJ. Contact-dependent inhibition of EGFR signaling by Nf2/Merlin. *Cell Biol*. 2007; 177: 893–903.
13. Raynaud CM, Hernandez J, Llorca FP, Nuciforo P, Mathieu MC, Commo F, et al. DNA damage repair and telomere length in normal breast, preneoplastic lesions, and invasive cancer. *J. Clin. Oncol*. 2010; 33: 341–345.
14. Gupta G, Massagué J. Cancer Metastasis: Building a Framework. *Cell*. 2006; 127(4): 679-695.
15. Chambers AF, Groom AC, MacDonald IC. Dissemination and growth of cancer cells in metastatic sites. *Nat. Rev. Cancer*. 2002; 2: 563–572.
16. Cavallaro U, Christofori G. Cell adhesion and signalling by cadherins and Ig-CAMs in cancer. *G.Nat. Rev. Cancer*. 2004; 4: 118–132.
17. Thiery JP. Epithelial-mesenchymal transitions in tumour progression. *Nat. Rev. Cancer*. 2002; 2: 442–454.
18. Cano A, Pérez-Moreno MA, Rodrigo I, Locascio A, Blanco MJ, del Barrio MG, et al. The transcription factor Snail controls epithelial-mesenchymal transitions by repressing E-cadherin expression. *Nat. Cell Biol*. 2000; 2: 76-83.
19. Peinado H, Marin F, Cubillo E, Stark HJ, Fusenig N, Nieto MA, et al. Snail and E47 repressors of E-cadherin induce distinct invasive and angiogenic properties in vivo. *Cell*. 2004; 117: 2827–2839.



Referencias bibliográficas

20. Kessenbrock K, Plaks V, Werb Z. Matriz metalloproteinases: regulators of tumor microenvironment. *Cell*. 2010; 141:52-67.
21. Hu Q, Sun W, Wang C, Gu Z. Recent advances of cocktail chemotherapy by combination drug delivery systems. *Adv Drug Deliv Rev*. 2016 Mar 1; 98:19-34.
22. Chabner BA, Roberts TG Jr. Timeline: Chemotherapy and the war on cancer. *Nat Rev Cancer*. 2005; 5(1):65-72.
23. De Vita VT Jr, Serpick AA, Carbone PP. Combination chemotherapy in the treatment of advanced Hodgkin's disease. *Ann Intern Med*. 1970; 73(6):881-95.
24. Moxley JH, De Vita VT, Brace K, Frei E. Intensive Combination Chemotherapy and X-irradiation in Hodgkin's Disease. *Cancer Research*. 1967; 27:1258-1263.
25. Mayer LD, Janoff AS. Optimizing combination chemotherapy by controlling drug ratios. *Mol Interv*. 2007; 7(4):216-23.
26. Aryal S, Hu CM, Zhang L. Polymeric nanoparticles with precise ratiometric control over drug loading for combination therapy. *Mol Pharm*. 2011; 8(4):1401-7.
27. Kolishetti N, Dhar S, Valencia PM, Lin LQ, Karnik R, Lippard SJ, et al. Engineering of self-assembled nanoparticle platform for precisely controlled combination drug therapy. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2010; 107(42):17939-17944.
28. Takeuchi K, Ito F. Receptor tyrosine kinases and targeted cancer therapeutics. *Biol Pharm Bull*. 2011; 34(12):1774-80.
29. An X, Tiwari AK, Sun Y, Ding PR, Ashby CR Jr, Chen ZS. BCR-ABL tyrosine kinase inhibitors in the treatment of Philadelphia chromosome positive chronic myeloid leukemia: a review. *Leuk Res*. 2010; 34(10):1255-68.
30. Iqbal N, Iqbal N. Imatinib: A breakthrough of targeted therapy in Cancer. *Chemother Res Pract*. 2014; 2014: 357027.
31. Luo J, Solimini NL, Elledge SJ. Principles of cancer therapy: oncogene and non-oncogene addiction. *Cell*. 2009; 136(5):823-37.
32. Wu L, Zhou B, Oshiro-Rapley N, Li M, Paulo JA, Webster CM et al. An Ancient, Unified Mechanism for Metformin Growth Inhibition in *C. elegans* and Cancer. *Cell*. 2016; 167(7):1705-1718.
33. Yuan P, Ito K, Perez-Lorenzo R, Del Guzzo C, Lee JH, Shen CH et al. Phenformin enhances the therapeutic benefit of BRAF(V600E) inhibition in melanoma. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2013; 110(45):18226-31.
34. Kordes S, Pollak MN, Zwinderman AH, Mathôt RA, Weterman MJ, Beeker A et al. Metformin in patients with advanced pancreatic cancer: a double-blind, randomised, placebo-controlled phase 2 trial. *Lancet Oncol*. 2015; 16(7):839-47.
35. Azzouzi AR, Vincendeau S, Barret E, Cicco A, Kleinclauss F, van der Poel HG et al. Padeliporfin vascular-targeted photodynamic therapy versus active surveillance in men with low-risk prostate cancer (CLIN1001 PCM301): an open-label, phase 3, randomised controlled trial. *Lancet Oncol*. 2016.
36. Chen Q, Huang Z, Luck DL, Beckers J, Brun PH, Wilson BC et al. WSTO9 (TOOKAD) mediated photodynamic therapy as an alternative modality in the treatment of prostate cancer. *Proc. SPIE 4612, Optical Methods for Tumor Treatment and Detection: Mechanisms and Techniques in Photodynamic Therapy XI*, 29. 2002; 4612.
37. Azzouzi AR, Barret E, Bennet J, Moore C, Taneja S, Muir G et al. **TOOKAD® Soluble focal therapy: pooled analysis of three phase II studies assessing the minimally invasive ablation of localized prostate cancer.** *World J Urol*. 2015; 33(7): 945-953.
38. Koudinova NV, Pinthus JH, Brandis A, Brenner O, Bendel P, Ramon J et al. Photodynamic therapy with Pd-bacteriopheophorbide (TOOKAD): successful in vivo treatment of human prostatic small cell carcinoma xenografts. *Int J Cancer*. 2003; 104:782-789.
39. Davis MM, Bjorkman PJ. T-cell antigen receptor genes and T-cell recognition. *Nature*. 1988; 334: 395-402.
40. Walunas TL, Lenschow DJ, Bakker CY, Linsley PS, Freeman GJ, Green JM, et al. CTLA-4 can function as a negative regulator of T cell activation. *Immunity*. 1994; 1: 405-413.
41. Sharma P, Allison J. Immune checkpoint targeting in Cancer Therapy: Toward combination strategies with curative potential. *Cell*. 2015; 161(2): 205-214.