

LES METÀSTASIS O LA CLAU PER VÈNCER EL CÀNCER

ROGER R. GOMIS

Programa d'Oncologia, Institut de Recerca Biomèdica de Barcelona, Institut Català de Recerca i d'Estudis Avançats (ICREA)

Adreça per a la correspondència: Roger R. Gomis. Institut de Recerca Biomèdica de Barcelona. C. de Baldiri i Reixac, 10. 08028 Barcelona. Telèfon: 934 039 959.
Adreça electrònica: roger.gomis@irbbarcelona.org.

RESUM

En les últimes dècades s'ha observat un increment continuat dels nous casos de càncer a escala mundial. D'aquests pacients, fins a un 20 % desenvolupen formes metastàtiques de la malaltia que en tumors sòlids acabaran causant la mort del malalt. Per tant, la identificació i la introducció de teràpies més efectives per resoldre aquest problema han esdevingut prioritàries. El procés de metastasi consisteix en una sèrie d'interaccions dinàmiques entre les cèl·lules tumorals i el seu ambient que els permet sortir de l'entorn primari on s'ha desenvolupat la malignitat i establir una lesió distant. El procés de metastasi s'esdevé de manera no lineal, no és passiu i està ple de sistemes constants, retroalimentats entre les cèl·lules tumorals i les cèl·lules hoste del microambient tumoral. La qüestió que continua pendent és identificar la millor finestra o oportunitat terapèutica, quins gens o vies de senyalització estan implicats en el creixement metastàtic i com podem actuar contra aquestes vies en el context clínic en l'absència de bons marcadors predictius. Per tant, cal donar noves solucions a aquests nous reptes que es plantegen en un camp que està clarament en expansió.

Paraules clau: metastasi, càncer, càncer de mama, estroma tumoral.

METASTASIS OR THE KEY TO BEAT CANCER

SUMMARY

In the past decades, there has been a constant increase in cancer incidence worldwide. Among those patients, 20% of them will develop metastatic forms of the disease, which in solid tumors will eventually cause patients' death. To this end, the identification and implementation of more effective therapies to tackle this problem has become a priority. The

metastasis process is a multistep process based on a series of dynamic interactions between tumor cells and their environment, allowing them to exit the primary malignant site and develop a distant lesion. The metastatic process occurs in a non-linear fashion, is not passive and relies on several constant systems, including feedback-loops between tumor cells and the tumor host microenvironment cells. Among the remaining questions in the field, a better understanding of the therapeutic window opportunities and the genes and signaling pathways relevant for the metastatic process and how we can interfere with them in the clinical context in the absence of reliable predictive biomarkers are pending. In summary, new solutions are needed to address the challenges that arise in a field that is clearly in expansion.

Key words: metastasis, cancer, breast cancer, tumor stroma.

INTRODUCCIÓ

En les últimes dècades s'ha observat un increment continuat dels nous casos de càncer a escala mundial. D'aquests pacients, fins a un 20 % desenvolupen formes metastàtiques de la malaltia que en tumors sòlids acabaran causant la mort del malalt. Per tant, la identificació i la introducció de teràpies més efectives per resoldre aquest problema han esdevingut prioritàries. Durant la darrera dècada s'han concentrat grans esforços en el descobriment de gens diana que regulen la metastasi o actuen com a marcadors del procés. S'han generat diverses firmes gèniques per dividir els diferents tipus de càncer, inclosos els diferents subgrups de cadascun, associats a una resposta clínica concreta. Tanmateix, la rellevància funcional d'aquests gens i el seu paper en aquestes signatures en relació amb l'etiologia de la malaltia o la progressió metastàtica encara romanen en termes generals desconegudes, així com, en particular, les seves aplicacions terapèutiques potencials.

La progressió tumoral cap a la metastasi es retrata sovint com un procés de diverses etapes en les quals les cèl·lules malignes s'escampen des del tumor d'origen cap als òrgans distants que, finalment, se-

ran colonitzats. Tanmateix, els passos bàsics succeeixen en el context de diferents òrgans, apareixen amb cinètiques distintes i són clínicament gestionats de maneres diferents en funció del tipus de càncer. Per tant, actualment ens trobem davant del repte d'incorporar l'heterogeneïtat biològica del procés clínic en els models d'investigació del procés metastàtic.

Els esdeveniments recents indiquen que els gens que faciliten els processos de metastasi estan associats funcionalment a l'activació tant de l'estroma local (dintre del tumor) com del distant (per exemple, l'os), alhora que faciliten la progressió tumoral (Erler i Weaver, 2009). La interacció amb aquest entorn, entre d'altres, pot explicar en les metastasis l'habilitat de diferents tipus de tumors per colonitzar el mateix o diferents òrgans (Fidler, 2003; Paget, 1889). Aquest fet ha despertat un gran interès en la comunitat científica per donar resposta a això i tractar d'identificar aquells gens que afavoreixen les metastasis en òrgans concrets (Kang *et al.*, 2003; Minn *et al.*, 2007; Minn *et al.*, 2005; Yin *et al.*, 2003). Encara és poc clar com els diferents tumors utilitzen aquests gens per fer metastasi al mateix òrgan. Endemés alguns tumors tenen un espectre de metastasi més restringit que d'altres. Per exemple, en càncer de pròstata es

troben majoritàriament restringides a l'os (Edlund *et al.*, 2004) i les del melanoma ocular majoritàriament al fetge (Triozi *et al.*, 2008). Una segona dimensió clau en el procés metastàtic és la seva evolució temporal. Així, els adenocarcinomes de mama o pulmó acostumen a colonitzar el mateix tipus d'òrgans; per exemple, l'os, el pulmó, el fetge i el cervell (Hess *et al.*, 2006), encara que el procés temporal de les metàstasis entre els dos tipus de tumors és molt diferent. En el càncer de mama s'observen esdeveniments metastàtics al cap d'anys o dècades de l'esdeveniment primari (Schmidt-Kittler *et al.*, 2003) i, en canvi, en el de pulmó les metàstasis s'observen al cap de poc temps de la diagnosi (Hoffman *et al.*, 2000). Aquestes observacions clíniques indiquen que la competència de les cèl·lules canceroses per infiltrar-se en els òrgans distants no sempre va acompanyada d'una determinada competència per colonitzar-los. L'espai temporal que s'observa entre la infiltració de l'òrgan i la seva colonització s'ha definit com a període de latència.

El procés de latència metastàtica és un fenomen clínic que ha estat reconegut des de fa molts anys. Aquest fenomen és responsable de la natura indestructible dels processos malignes associats amb els tumors sòlids, atès que els facilita un mecanisme per tal que escapin dels tractaments que curen els tumors primaris detectats des de l'inici. En els últims anys, i amb l'aparició de tractaments menys tòxics i més específics contra les cèl·lules tumorals, que poden ser utilitzats durant períodes més llargs de temps, s'ha introduït el concepte de la teràpia llarga, per tal de prevenir recurrències tardanes del càncer. Simultàniament, els investigadors s'esforcen a definir i conèixer els mecanismes que permeten l'existència de les cèl·lules tumorals en estat latent i que finalment poden tornar a créixer. Ens trobem en una nova era on cal

considerar conceptes que permetin identificar dianes terapèutiques per controlar els processos de latència i potenciar les estratègies clíniques.

EL PROCÉS DE METÀSTASI

El procés de metàstasi consisteix en una sèrie d'interaccions dinàmiques entre les cèl·lules tumorals i el seu ambient que els permet sortir de l'entorn primari on s'ha desenvolupat la malignitat i establir una lesió distant. El procés de metàstasi s'esdevé de manera no lineal, no és passiu i està ple de sistemes constants, retroalimentats entre les cèl·lules tumorals i les cèl·lules hoste del microambient tumoral.

Una vegada s'inicia el creixement tumoral, aquest és comparable al que succeeix en un procés de cicatrització crònic pel fet que la proliferació il·limitada de les cèl·lules tumorals desregula l'homeòstasi local, com una situació d'acidosi, d'hipòxia, d'alteració sistèmica i pressió local (Fidler *et al.*, 2007). En un intent per compensar aquests canvis, l'hoste activa mecanismes de reparació i cicatrització que inclouen la vascularització, per facilitar a la neoplàsia l'accés a nutrients, l'eliminació dels residus i, indirectament, una via d'escapada per a les cèl·lules metastàtiques. Simultàniament, l'estrès físic de les lesions creixents inicia un procés de resposta inflamatòria que mobilitza les cèl·lules derivades del moll de l'os i d'altres leucòcits cap al tumor primari i als òrgans receptors potencials de les metàstasis. Aquesta barreja no natural de cèl·lules crea un microambient reactiu amb deposició d'un ampli espectre de factors de creixement, citocines i proteïnes de matriu extracel·lular (Liotta i Kohn, 2001). La inflamació en processos aguts es resol ràpidament. Tanmateix, en un tumor no es produeix estimulant la implicació de

les cèl·lules del sistema immunitari, que fracassen en la resposta antitumoral immunitària.

La remodelació de la matriu extracel·lular de l'espai intersticial és necessària entre els càncers invasius (Iacobuzio-Dona-hue *et al.*, 2002). L'activació de proteases i oxidoreductases, entre altres, altera la topologia de la matriu extracel·lular i ajuda en la invasió de la cèl·lula tumoral via l'alliberació de pèptids estimuladors de la migració i de l'exposició de llocs que faciliten l'adhesió i la migració (Werb, 1997). La combinació de la interacció entre els receptors d'adhesió de les cèl·lules tumorals i la matriu extracel·lular modificada facilita l'activació de les vies de senyalització intracel·lular i indueix la invasió a través de l'estroma i, finalment, l'arribada al sistema de circulació limfàtic o sanguini.

Una vegada en circulació, les cèl·lules canceroses han de resistir l'estrès físic causat per la pèrdua d'adhesió i les fortes turbulències vasculars abans de poder aferar-se al llit dels capil·lars distants. Durant aquest trànsit, les cèl·lules tumorals poden formar agregacions juntament amb plaquetes que les protegeixen de la pressió externa i en faciliten la resposta a gradients de quimiocines (McCarty *et al.*, 2000; Muller *et al.*, 2001). Mitjançant una combinació d'obstrucció física, adhesió a través de contactes complementaris i gradients de quimiocines atractius, el bolus tumoral queda atrapat als capil·lars dels llocs metastàtics distants. A partir d'aquest punt, les cèl·lules tumorals atrapades poden créixer a la manera d'una metastasi intravascular (un tumor metastàtic que s'inicia en l'espai intersticial de la vasculatura del teixit diana) o poden reactivar un mecanisme migratori i proteolític per extravasar i colonitzar el teixit.

Molts estudis han demostrat que en la majoria de pacients, algunes cèl·lules tumorals tenen la capacitat d'acomplir els passos

descrits anteriorment; tanmateix, moltes altres cèl·lules moriran en poc temps (MacDonald *et al.*, 2002). Ara bé, la llarga latència entre les primeres intervencions terapèutiques i l'aparició de formes de metastasi avançades de la malaltia, que representa un comportament típic del càncer de mama positiu per a receptors d'estrògens (ER), demostra que algunes cèl·lules tumorals poden resistir en estat latent durant molts anys o dècades. Per exemple, en un estudi concret una tercera part dels pacients amb càncer de mama sense evidència clínica de la malaltia, que eren examinats entre set i vint-i-dos anys després de la diagnosi, tenen cèl·lules tumorals circulants (CTC) que segueixen en estat quiescent (1-2 cèl·lules per 12 ml de sang) (Uhr i Pantel, 2011). Aquestes cèl·lules circulants tenen un temps de vida mitjà no superior a les tres hores, la qual cosa suggereix que les cèl·lules tumorals disseminades (DTC) són responsables de propagar lentament aquesta població. La latència tumoral ha estat reconeguda com un fenomen clínic en nombrosos tipus de càncers. Aquest terme ha estat utilitzat de manera laxa durant molts anys per descriure l'estat hipotètic en què les cèl·lules canceroses resten entre el període posterior al tractament del tumor primari, el creixement subsegüent i la recurrència clínica. Un fenomen que és responsable de la naturalesa intractable de moltes malignitats i és el mecanisme pel qual molts càncers són capaços de vèncer els tractaments contra el tumor primari. Per això, els especialistes clínics han intentat actuar contra aquest fenomen allargant els tractaments contra el càncer mitjançant l'ús de les noves teràpies menys tòxiques i més específiques que poden ser usades durant períodes de temps més llargs, i la idea d'allargar les teràpies per tal de prevenir les recurrències ha començat a guanyar predicament. De manera paral·lela, la recerca ha facilitat

tat la definició i la comprensió de la biologia de les cèl·lules canceroses. Entre d'altres, ara podem afirmar que existeix l'estat dorment o latent i el seu creixement subseqüent és el que fa les metàstasis clínicament detectables.

El procés metastàtic implica múltiples etapes i, entre aquestes, algunes de comunes com les descrites anteriorment. Ara bé, els últims d'aquests passos bàsics s'esdevenen en un context propi de diferents òrgans, emergeixen en diferents cinètiques i són gestionats clínicament d'una manera diferent segons el tipus de càncer, la qual cosa ratifica l'heterogeneïtat de la biologia del procés de metàstasi.

Una propietat intrínseca dels diferents tipus de tumors és la seva capacitat per colonitzar un mateix o diferents òrgans. Encara que aquesta habilitat ha estimulat la identificació de gens que faciliten processos de metàstasi específiques de teixit (Paget, 1889), no queda clar si diferents tumors, que colonitzen el mateix teixit, utilitzen els mateixos mediadors. Un altre aspecte important del procés metastàtic és l'evolució temporal d'aquest. Per exemple, els adenocarcinomes de mama o de pulmó típicament colonitzen el mateix ventall d'òrgans, inclosos l'os, el pulmó, el cervell i el fetge. Ara bé, la cinètica de colonització d'ambdós tumors és diferent. El càncer de mama presenta un patró de recurrències que normalment es detecten al cap d'anys o de dècades des de la detecció de la malaltia (Schmidt-Kittler *et al.*, 2003), mentre que el càncer de pulmó estableix metàstasis mesurables al cap de pocs mesos després de la diagnosi. Per tant, la competència per infiltrar els teixits distants no sempre està lligada a la competència per colonitzar-los. El temps establert entre el procés d'infiltració dels teixits i la colonització és el que coneixem com a latència metastàtica.

En resum, la seqüència d'esdeveniments

que se succeeixen per colonitzar un òrgan representa la primera dimensió del procés de metàstasi, la cinètica d'aquesta progressió metastàtica la segona, i l'òrgan diana a colonitzar i les seves barreres d'entrada en defineixen la tercera. Les barreres per infiltrar cadascun dels teixits i la composició del seu microambient són únics per a cada òrgan. Per això els passos del procés metastàtic poden ser els mateixos per a tots els tumors, però les metàstasis en diferents teixits requereixen diferents conjunts de funcions específiques per tal d'infiltrar-los i colonitzar-los, les quals poden ser requerides de manera temporal.

La infiltració d'òrgans distants de les cèl·lules canceroses circulants també implica activitats especialitzades que requereixen que les cèl·lules tumorals passin a través de les parets capil·lars i sobrevisquin en el nou parènquima. Les cèl·lules malignes alliberades del tumor han de ser capaces d'infiltrar els teixits distants i, per tant, han d'explotar funcions que fins aquell moment podien no necessitar. Aquestes funcions poden ser exercides a través de l'adquisició de gens en el tumor primari que poden tenir una funció rellevant en el tumor o només en la metàstasi distant. També en el tumor primari aquests gens poden desenvolupar funcions diferents de les que tindran en el teixit secundari. Per exemple, l'estructura i composició de les parets dels capil·lars sanguinis i del parènquima subjacent pot ser diferent en funció del teixit metastàtic diana. Per tant, l'expressió de gens concrets en el tumor primari pot ser responsable de les metàstasis de manera específica per a òrgan i esdevenir marcadors que prediguin, en funció de la seva expressió en el tumor primari, una metàstasi específica per a teixit. Finalment, també trobem una tercera categoria de gens que confereixen activitats essencials per a la colonització de determinats òrgans, l'expres-

sió dels quals només és detectable en cèl·lules canceroses que metastatitzen en aquests teixits. La seva expressió accentua la tendència de les cèl·lules disseminades que han superat els múltiples passos, descrits més amunt, de colonitzar un determinat teixit. Un exemple, podria ser l'expressió del factor mobilitzador d'osteoclasts, PTHRP (Kang *et al.*, 2003; Yin *et al.*, 2003), que no dóna cap avantatge a les cèl·lules de càncer de mama en el tumor primari, però facilita l'establiment de metàstasis osteolítiques a l'os. L'expressió d'aquest tipus de gens metastàtics resulta d'alteracions estocàstiques en el context propi de la inestabilitat genòmica de la cèl·lula transformada, i en conseqüència l'expressió d'aquest gen esdevé un avantatge selectiu a les cèl·lules malignes en un microambient particular.

El diferent comportament temporal de les metàstasis en els diversos tipus de càncer i poblacions és un fet. La cinètica de la progressió de la malaltia i les distintes barreres fisiològiques dicten la latència entre les etapes d'infiltració i la colonització de la metàstasi. Cada procés clínic té diferents implicacions per a l'evolució selectiva d'òrgan de les poblacions metastàtiques. En càncer de mama positiu per a receptor d'estrògens, en el càncer de pròstata, en el melanoma ocular, la metàstasi es pot manifestar dècades després de l'extirpació de la petita lesió maligna primària. L'absència de recurrència clínica immediata implica que aquestes cèl·lules tumorals no són completament competents per colonitzar els òrgans immediatament després de la infiltració. Un període de latència pot facilitar la futura evolució maligna de la població de cèl·lules metastàtiques disseminades, del seu microambient, i ambdues com a elements necessaris perquè la colonització continuï. En altres tipus de càncer, la metàstasi segueix un curs expansiu molt més ràpid i pliotròpic, que deixa molt poc espai per a la selecció de

poblacions metastàtiques específiques per a teixit, com és el cas del càncer de pulmó, el càncer de pàncrees i altres. En tumors de ràpida progressió, l'adquisició de trets metastàtics en el tumor primari obvia la necessitat d'una adaptació extensiva ulterior en els diferents òrgans distants durant el procés de disseminació. Per exemple, s'estima que en el càncer de còlon la majoria d'alteracions per a la metàstasi són adquirides durant la progressió a l'estadi de carcinoma invasiu, i pocs esdeveniments genètics addicionals són requerits per a la formació de metàstasis distants al fetge. Per tant, els càncers de còlon i recte progressen de manera lenta cap a carcinomes invasius, però de manera molt ràpida des d'aquest estadi fins a la fase metastàtica.

RELACIÓ AMB L'HOSTE

La metàstasi és un procés amb múltiples etapes, incloses interaccions dinàmiques entre les cèl·lules i les cèl·lules hoste tumorals. Encara que aquest procés es pot definir de manera lineal, aquest és clarament no lineal, no és passiu i està integrat per una sèrie de processos de retroalimentació entre les cèl·lules tumorals i les cèl·lules hoste pròpies del microambient tumoral.

Les cèl·lules tumorals no funcionen com a unitats autònomes; al contrari, requereixen interaccions dinàmiques amb l'estroma per créixer i fer metàstasi. L'estroma inclou diferents tipus de cèl·lules hoste que resideixen en el microambient del tumor, i que inclouen cèl·lules endotelials dels sistemes vascular i limfàtic, fibroblasts, cèl·lules neuronals i leucòcits. Morfològicament, l'estroma que infiltra els tumors s'ha definit com a desmoplàsia. Les cèl·lules estromàtiques es troben barrejades i disposades en un complex de proteïnes fibril·lars i glicoproteïnes que formen la matriu extracel·lu-

lar. Les cèl·lules del tumor són capaces d'activar els components cel·lulars estromàtics, la qual cosa resulta en un procés d'inflamació crònic. L'alliberament de citocines i proteases de les cèl·lules estromàtiques activades promou el creixement dels tumors i ajuda en el procés de metastasi. Una vegada les cèl·lules tumorals han metastatitzat, desenvolupen resistència a les quimioteràpies convencionals, i amb això contribueixen a la pobre prognosi en el cas dels pacients amb malaltia disseminada.

Quan es pensa en les noves teràpies és, doncs, pertinent considerar les cèl·lules hoste més enllà de les cèl·lules tumorals, ja que és menys probable que els teixits hoste desenvolupin resistència als fàrmacs, a causa de la seva estabilitat genòmica. A mesura que el nostre coneixement de la contribució estromàtica creix (Calon *et al.*, 2012), els gens diana per a la teràpia, propis de l'estroma, comencen a ser aparents, però cal tenir present que probablement seran diferents del tumor primari i de les metastasis als òrgans distants.

Angiogènesi i limfoangiogènesi

El requisit dels processos d'angiogènesi i limfoangiogènesi per promoure el creixement tumoral i facilitar una ruta que n'afavoreixi la disseminació és ben coneguda i ha estat objecte de molts estudis (Carmeliet i Jain, 2011). Actualment tenim molts compostos farmacèutics l'eficàcia dels quals es fonamenta en el procés d'angiogènesi —bevacizumab, etc. (Folkman, 2007). L'objectiu d'aquests fàrmacs és bloquejar el procés que coneixem com a *angiogenic switch*, pel qual el tumor és capaç d'activar els processos de neovascularització d'una massa que altrament esdevindria necròtica i indirectament facilitaria el creixement tumoral descontrolat i la progressió i disseminació.

Fibroblasts

Els fibroblasts són el tipus cel·lular més representatiu implicat en el dipòsit de proteïnes de matriu extracel·lular i de proteases que les poden remodelar. Com a tal, els fibroblasts tenen un paper prominent en els processos de cicatriçació, on s'activen per assistir a la reparació de l'àrea lesionada. Molts estudis han demostrat que els fibroblasts o els precursors de les cèl·lules mesenquimàtiques activades faciliten el procés de progressió tumoral i metastasi. Per exemple, la signatura genètica derivada dels gens de resposta al sèrum en fibroblasts pot predir el comportament clínic dels pacients amb un tumor de mama (Chang *et al.*, 2005) o de còlon (Calon *et al.*, 2012). Per tant, els fibroblasts poden ser una bona diana per a la teràpia, tot i que els nostres rudimentaris coneixements d'aquests i dels factors involucrats en la seva relació amb les cèl·lules tumorals encara són una limitació per al desenvolupament.

Cèl·lules del sistema immunitari

Inicialment es va assumir que les cèl·lules del sistema immunitari, incloses les cèl·lules inflamàtores, com els monòcits i macròfags, tenien un paper com a agents antitumorals. Tanmateix, encara que les cèl·lules T CD4⁺ i CD8⁺ i les cèl·lules NK (*natural killers*) tenen activitat antitumoral, moltes altres cèl·lules del sistema immunitari tenen activitat promotora del creixement tumoral. De fet, molts tipus de càncer (per exemple, el d'estómac o cèrvix) són causats en gran mesura per una infecció crònica i per la inflamació que l'afecta. Monòcits, neutròfils, cèl·lules T regulatòries i cèl·lules supressores, derivades mieloides, són atretes als tumors, on segreguen diferents citocines que activen el creixement tu-

moral i suprimeixen l'activitat antitumoral d'altres cèl·lules immunitàries com els limfòcits T citotòxics (Coussens i Werb, 2002). De fet, hi ha molts tipus de leucòcits que són necessaris en tots els passos de la progressió tumoral, des de la invasió, la supervivència en circulació i la colonització de nous òrgans distants (Erez i Coussens, 2011).

El nínxol premetastàtic

Hi ha cada vegada més evidències que suggereixen que les cèl·lules derivades del moll de l'os tenen un paper en la promoció de la metastasi via l'establiment del que coneixem com el nínxol premetastàtic. Diferents estudis recents han reforçat el concepte que determinades línies cellulars de l'hoste, en resposta a factors segregats pel tumor primari, tenen el potencial d'establir-se anticipadament en els llocs de metastasi i creen un microambient receptiu per a les DTC (Erler i Weaver, 2009; Kaplan *et al.*, 2005) i que factors derivats de tumors com el VEGFA, el PGF, el TNE, el TGFb i la lisil-oxidasa estimulen l'expressió de proteïnes com la S100A8, S100A9, MMP9 i la fibronectina en teixits distants com el pulmó, i això afavoreix l'atracció de les cèl·lules progenitores hematopoètiques i mieloides CD11b+ de la medulla òssia. Les cèl·lules tumorals poden activar l'expressió de CCL17 o CCL21 en el pulmó de manera anticipada per facilitar l'atracció de les cèl·lules immunitàries i tumorals a través de la quimiotaxi ajudada pel receptor CXCR4 (DD73).

TERÀPIES CONTRA EL CÀNCER METASTÀTIC: CÀNCER DE MAMA

Les estratègies principals per tractar el

càncer metastàtic es focalitzen a atacar el tumor en diferents etapes de la seva progressió. Més enllà de la resecció mitjançant cirurgia, les teràpies les podem classificar d'ampli espectre o específiques de diana i en alguns pacients aquestes són efectives. Per continuar la discussió ens centrarem en el càncer de mama.

Les teràpies d'ampli espectre (per exemple la quimioteràpia) són dissenyades per tal de prevenir el recreixement del tumor, una vegada extirpat, mitjançant la mort de les cèl·lules que es divideixen activament, i, per exemple, són l'única teràpia sistèmica possible en determinats tipus de càncer de mama, com és el cas dels tipus triple negatiu (ER, PR i HER2 negatius), per als quals les teràpies contra una diana no existeixen. L'ús d'aquest tipus de teràpia és efectiu, com ho demostra l'increment en un 15 % que s'observa en l'índex de supervivència dels pacients tractats amb aquesta teràpia en comparació amb els no tractats. Ara bé, les metastasis encara ocorren en un grup rellevant de pacients. Això indica que aquests fàrmacs ajuden a prolongar la supervivència dels pacients de càncer de mama, però encara no tenen cap capacitat de prevenir metastasis secundàries d'una manera sistemàtica. L'èxit limitat d'aquestes teràpies contra la proliferació per prevenir les metastasis es pot explicar per l'habilitat de les cèl·lules metastàtiques de mantenir-se latents o en estat dorment en lloc de fer metastasis distants, i esquiven així el principi terapèutic del tractament.

Diverses són les oportunitats potencials, terapèutiques i específiques d'una diana molecular descrites en els últims anys. Algunes d'aquestes dianes que faciliten la invasió i la intravasació estan presents en el tumor primari; en canvi, d'altres dianes — moltes relacionades amb l'estroma— estan presents en els llocs tumorals secundaris. Actualment les úniques teràpies de càncer

específiques de cèl·lula que s'utilitzen en la rutina clínica són contra el receptor d'estrógen (ER), contra el factor de creixement epidèrmic 2 (ERBB2 o també conegut com a HER2) i contra l'aromatasa. Endemés, hi ha diverses teràpies contra línies cel·lulars de l'estroma en desenvolupament que poden bloquejar la dispersió del tumor i que en controlen la metastasi. En són un exemple el bevacizumab (que uneix el VEGF), que bloqueja l'angiogènesi del tumor primari i prevé la disseminació, o el denosumab (que uneix el lligand del receptor activat per NF-kB), que s'ha mostrat com el fàrmac més potent en el control de processos metastàtics a l'os àmpliament utilitzat en la pràctica clínica. D'altres fàrmacs es troben en aquests moments en desenvolupament preclínic o en etapes primerenques d'assajos clínics, i és ben cert que ens trobem en una època prometedora per l'existència d'una fornada de nous compostos amb l'objectiu de controlar la disseminació i l'expansió de la malaltia metastàtica.

La inhibició de la poli-ADP-ribosa-polimerasa (PARP) representa una altra diàna prometedora. Fins avui, s'ha demostrat efectiva en un petit grup de pacients de càncer de mama amb mutacions de la proteïna tipus 1 (BRCA1) o en la BRCA2 (Iglehart i Silver, 2009). Cal tenir present que aquest tipus de mutacions són freqüents en els pacients amb un fenotip triple negatiu. Tanmateix, en els pacients triple negatiu que no tenen aquesta mutació l'eficàcia d'aquests inhibidors no és clara, ni la seva combinació amb altres agents citotòxics (Gelmon *et al.*, 2011). Per tot plegat, aquest darrer grup de pacients darrerament s'ha convertit en un àmbit molt actiu d'investigació.

LLIÇONS APRESES DE LES TERÀPIES DIRIGIDES EN CÀNCER I METÀSTASI

També apareixen múltiples teràpies prometedores o se n'estan provant d'altres en nous assajos clínics. Per desgràcia l'eficàcia de molts d'aquests agents s'ha demostrat només en el tumor primari; en canvi la seva utilitat en el càncer metastàtic és limitada. Cal, doncs, identificar aquells pacients que podran beneficiar-se de tractaments farmacològics específics per a dianes moleculars a llarg termini si ens volem assegurar que siguin efectius més enllà del tumor primari. Per descobrir noves dianes moleculars o utilitzar teràpies existents per prevenir el creixement de tumors metastàtics en càncer de mama, serà imperatiu que es conegui, a més de la biologia del procés de metastasi, les diferències entre aquest i el que és propi de la iniciació tumoral. Avui dia, és clar que les anàlisis dels tumors primaris no han estat suficients per predir i monitorar els beneficis de les teràpies específiques de metastasi.

Durant el procés de metastasi, pot aparèixer una població de cèl·lules que tenen un genotip i un fenotip diferent d'aquelles del tumor primari (Welch, 2004). Per exemple, cèl·lules DTC que poden residir al moll de l'os i expressar menys anormalitats que aquelles que podem trobar en el tumor del qual deriven (Poplawski *et al.*, 2010). Per això és important d'assegurar que qualsevol diàna terapèutica que seleccionem està basada en característiques del tumor primari presents en les metastasis finals o en les DTC, i que és requerida per al creixement metastàtic, així com per al procés de latència (propi del context de tractament adjuvant).

CAP A ON ANEM?

Atesa la relativa facilitat d'accedir al seu perfil d'expressió i monitorar-ne el creixement, la majoria de les teràpies moleculars són, normalment, més efectives contra els tumors primaris que contra les metastasis. La qüestió que continua pendent és identificar la millor finestra o oportunitat terapèutica, quins gens o vies de senyalització estan implicats en el creixement metastàtic i com podem actuar contra aquestes vies en el context clínic en l'absència de bons marcadors predictius.

En funció del paper que tinguin en la cascada metastàtica, les proteïnes i els gens que les codifiquen són catalogats en diferents grups, segons si actuen en processos d'iniciació, de progressió o d'estímul del creixement, tal com ja hem establert a l'inici d'aquest assaig. Els gens importants en etapes primerenques del procés, quan les cèl·lules no han sortit del tumor primari, no són dianes vàlides per bloquejar la metastasi si no tenen una altra funció més tardana i pròpia del procés metastàtic. Cal pensar que l'eliminació del tumor feta pel cirurgià farà inútil qualsevol tractament contra aquest escenari. En canvi, sí que poden ser una bona diana aquells gens que fomenten la infiltració, supervivència i la colonització dels òrgans distants encara que s'expressin en el tumor primari, i per tant, puguin esdevenir marcadors predictius de metastasis específiques de teixit (Nguyen *et al.*, 2009).

En l'altre extrem trobem gens que són específics del procés de metastasi en un teixit concret. Molts d'aquests gens no són necessaris en el context del tumor primari i per tant no contribueixen a la predicció dels esdeveniments, ni tampoc no formen part de les signatures que tan àmpliament han estat publicades a la bibliografia. Un bon exemple d'aquest tipus de gens pot ser la

proteïna relacionada amb l'hormona paratiroidal (PTHrP). Aquesta hormona està expressada en metastasi a l'os, on estimula la reabsorció d'aquest i el creixement tumoral. En canvi, la seva expressió en tumors primaris està associada a una bona prognosi (Fleming *et al.*, 2009).

La rellevància dels gens i els corresponents marcadors predictius depenen de manera primordial del context del tractament clínic. En el context neoadjuvant els gens de progressió metastàtica són els més indicats com a diana, especialment pel fet que el tumor encara es troba present i sobretot en el cas dels gens que poden tenir un paper clau en la supervivència de les DTC. La capacitat d'eliminar les cèl·lules DTC latents o, almenys, de poder-les mantenir en un estat de latència indefinida, seria un gran avenç amb vista a prevenir el creixement dels tumors després dels tractaments intensius, a fi que les DTC no proliferin ni, per tant, escapin probablement de les quimioteràpies convencionals. A la pràctica, és important utilitzar gens diana que estiguin involucrats en la progressió tumoral i en el creixement metastàtic distant. Per exemple, l'os és un lloc recurrent de metastasi en els casos de càncer de mama. El bloqueig de funcions pròpies de la interacció de les cèl·lules tumorals amb aquest teixit podria prevenir-ne el creixement en l'os. Ara bé, caldria veure si això també evita el creixement de metastasis secundàries en altres teixits tous. Per exemple, les CTC disseminades des de l'os podrien accedir a un fenotip metastàtic específic d'un altre teixit i acabar-lo colonitzant. En aquest cas, com que la majoria de les metastasis no s'operen, disposar d'un mecanisme per mesurar-ne l'evolució fóra un pas endavant. Aquest escenari és útil en càncers amb una llarga latència (anys o fins i tot dècades), però cal recordar que en alguns càncers, com els de pulmó o còlon,

amb una latència curta en què la metàstasi succeeix mesos o pocs anys després de la detecció del tumor primari, l'efectivitat es redueix. En aquests últims, la relació lineal que es pot establir entre el tumor primari i la metàstasi permet de pensar que l'ús de tècniques per identificar els patrons genètics dels tumors pot servir per revelar dianes terapèutiques capaces de bloquejar les metàstasis. En tumors amb llarga latència, l'ús de cèl·lules circulants (CTC) o disseminades (DTC) pot esdevenir un marcador pronòstic important (REF Uhr Pantel). La caracterització molecular de les DTC i la seva correlació amb la prognosi pot oferir una important informació mecanística de la progressió metastàtica i permetre el desenvolupament de noves teràpies moleculars. Per això cal que es facin estudis a gran escala per investigar la biologia de les micrometàstasis i així poder identificar noves dianes terapèutiques, capaces de prevenir el creixement metastàtic.

CONCLUSIONS

Si volem enfrontar-nos al repte que suposa desenvolupar noves teràpies per controlar i evitar els processos metastàtics és clau el fet de tenir una comprensió detallada de com i on s'adquireixen o s'activen els gens que afavoreixen la progressió metastàtica. Entre els grans esculls que encara hi ha amb vista a entendre el procés biològic de la metàstasi hi ha la formació dels nínxols premetastàtics i el concepte de latència metastàtica. Aquest darrer és decisiu per entendre com pot ser que s'observi una metàstasi en un pacient que va patir un càncer de mama fa més de vint anys. L'ús de les teràpies actuals i de les noves que puguin sorgir requereix un monitoratge més efectiu, el qual probablement s'assolirà mesurant l'existència de CTC en pacients in-

dividuals al principi del tractament, i per mitjà de l'aplicació en una sèrie de mesures ràpides de funcionament i, del canvi, en cas que fos necessari. Tanmateix, és molt important que es tingui clar que les estratègies clíniques utilitzades per a l'aprovació de fàrmacs actuals només són útils per a molècules que actuen en el tumor primari, però no ho són a l'hora de tractar o prevenir les metàstasis. Per tant, caldrà donar noves solucions a aquests nous reptes que es plantegen en un camp que està clarament en expansió.

BIBLIOGRAFIA

- CALON, A. [et al.] (2012). «Dependency of colorectal cancer on a TGF-beta-driven program in stromal cells for metastasis initiation». *Cancer Cell*, 22: 571-584.
- CARMELIET, P.; JAIN, R. K. (2011). «Molecular mechanisms and clinical applications of angiogenesis». *Nature*, 473: 298-307.
- CHANG, H. Y. [et al.] (2005). «Robustness, scalability, and integration of a wound-response gene expression signature in predicting breast cancer survival». *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 102: 3738-3743.
- COUSSENS, L. M.; WERB, Z. (2002). «Inflammation and cancer». *Nature*, 420: 860-867.
- EDLUND, M.; SUNG, S. Y.; CHUNG, L. W. (2004). «Modulation of prostate cancer growth in bone microenvironments». *J. Cell. Biochem.*, 91: 686-705.
- EREZ, N.; COUSSENS, L. M. (2011). «Leukocytes as paracrine regulators of metastasis and determinants of organ-specific colonization». *Int. J. Cancer*, 128: 2536-2544.
- ERLER, J. T.; WEAVER, V. M. (2009). «Three-dimensional context regulation of metastasis». *Clin. Exp. Metastasis*, 26: 35-49.
- FIDLER, I. J. (2003). «The pathogenesis of cancer metastasis: the 'seed and soil' hypothesis revisited». *Nat. Rev. Cancer*, 3: 453-458.
- FIDLER, I. J.; KIM, S. J.; LANGLEY, R. R. (2007). «The role of the organ microenvironment in the biology and therapy of cancer metastasis». *J. Cell Biochem.*, 101: 927-936.
- FLEMING, N. I.; TRIVETT, M. K.; GEORGE, J.; SLAVIN, J. L.; MURRAY, W. K.; MOSELEY, J. M.; ANDERSON, R. L.; THOMAS, D. M. (2009). «Parathyroid hormone-re-

- lated protein protects against mammary tumor emergence and is associated with monocyte infiltration in ductal carcinoma in situ». *Cancer Res.*, 69: 7473-7479.
- FOLKMAN, J. (2007). «Angiogenesis: an organizing principle for drug discovery?» *Nat. Rev. Drug. Discov.*, 6: 273-286.
- GELMON, K. A. [et al.] (2011). «Olaparib in patients with recurrent high-grade serous or poorly differentiated ovarian carcinoma or triple-negative breast cancer: a phase 2, multicentre, open-label, non-randomised study». *Lancet Oncol.*, 12: 852-861.
- HESS, K. R.; VARADHACHARY, G. R.; TAYLOR, S. H.; WEI, W.; RABER, M. N.; LENZI, R.; ABBRUZZESE, J. L. (2006). «Metastatic patterns in adenocarcinoma». *Cancer*, 106: 1624-1633.
- HOFFMAN, P. C.; MAUER, A. M.; VOKES, E. E. (2000). «Lung cancer». *Lancet*, 355: 479-485.
- IACOBUZIO-DONAHUE, C. A.; ARGANI, P.; HEMPEN, P. M.; JONES, J.; KERN, S. E. (2002). «The desmoplastic response to infiltrating breast carcinoma: gene expression at the site of primary invasion and implications for comparisons between tumor types». *Cancer Res.*, 62: 5351-5357.
- IGLEHART, J. D.; SILVER, D. P. (2009). «Synthetic lethality—a new direction in cancer-drug development». *N. Engl. J. Med.*, 361: 189-191.
- KANG, Y.; SIEGEL, P. M.; SHU, W.; DROBNJAK, M.; KAKONEN, S. M.; CORDON-CARDO, C.; GUISE, T. A.; MASSAGUE, J. (2003). «A multigenic program mediating breast cancer metastasis to bone». *Cancer Cell*, 3: 537-549.
- KAPLAN, R. N. [et al.] (2005). «VEGFR1-positive haematopoietic bone marrow progenitors initiate the pre-metastatic niche». *Nature*, 438: 820-827.
- LIOTTA, L. A.; KOHN, E. C. (2001). «The microenvironment of the tumour-host interface». *Nature*, 411: 375-379.
- MACDONALD, I. C.; GROOM, A. C.; CHAMBERS, A. F. (2002). «Cancer spread and micrometastasis development: quantitative approaches for in vivo models». *Bioessays*, 24: 885-893.
- MCCARTY, O. J.; MOUSA, S. A.; BRAY, P. F.; KONSTANTOPOULOS, K. (2000). «Immobilized platelets support human colon carcinoma cell tethering, rolling, and firm adhesion under dynamic flow conditions». *Blood*, 96: 1789-1797.
- MINN, A. J. [et al.] (2007). «Lung metastasis genes couple breast tumor size and metastatic spread». *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 104: 6740-6745.
- MINN, A. J.; GUPTA, G. P.; SIEGEL, P. M.; BOS, P. D.; SHU, W.; GIRI, D. D.; VIALE, A.; OLSHEN, A. B.; GERALD, W. L.; MASSAGUE, J. (2005). «Genes that mediate breast cancer metastasis to lung». *Nature*, 436: 518-524.
- MULLER, A. [et al.] (2001). «Involvement of chemokine receptors in breast cancer metastasis». *Nature*, 410: 50-56.
- NGUYEN, D. X.; BOS, P. D.; MASSAGUE, J. (2009). «Metastasis: from dissemination to organ-specific colonization». *Nat. Rev. Cancer*, 9: 274-284.
- PAGET, S. (1889). «The distribution of secondary growths in cancer of the breast». *Lancet*, 1: 571-573.
- POPLAWSKI, A. B. [et al.] (2010). «Frequent genetic differences between matched primary and metastatic breast cancer provide an approach to identification of biomarkers for disease progression». *Eur. J. Hum. Genet.*, 18: 560-568.
- SCHMIDT-KITTLER, O. [et al.] (2003). «From latent disseminated cells to overt metastasis: genetic analysis of systemic breast cancer progression». *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 100: 7737-7742.
- TRIOZZI, P. L.; ENG, C.; SINGH, A. D. (2008). «Targeted therapy for uveal melanoma». *Cancer Treat. Rev.*, 34: 247-258.
- UHR, J. W.; PANTEL, K. (2011). «Controversies in clinical cancer dormancy». *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 108: 12396-12400.
- WELCH, D. R. (2004). «Microarrays bring new insights into understanding of breast cancer metastasis to bone». *Breast Cancer Res.*, 6: 61-64.
- WERB, Z. (1997). «ECM and cell surface proteolysis: regulating cellular ecology». *Cell*, 91: 439-442.
- YIN, J. J.; MOHAMMAD, K. S.; KAKONEN, S. M.; HARRIS, S.; WU-WONG, J. R.; WESSALE, J. L.; PADLEY, R. J.; GARRETT, I. R.; CHIRGWIN, J. M.; GUISE, T. A. (2003). «A causal role for endothelin-1 in the pathogenesis of osteoblastic bone metastases». *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 100: 10954-10959.

SOBRE L'AUTOR

Roger R. Gomis dirigeix des del 2007 la seva pròpia línia de recerca a l'Institut de Recerca Biomèdica de Barcelona (IRB) com a investigador i professor de la Institució catalana de Recerca i Estudis Agraris (ICREA). Mogut pel seu interès en el problema de la metastasi, causa del 90 % de les morts per càncers sòlids, va abraçar la possibilitat de crear un laboratori multidisciplinari dedicat a la recerca de la metastasi a l'IRB Barcelona. Utilitzant noves metodologies que va desenvolupar durant la se-

va estada postdoctoral al Memorial Sloan-Kettering Cancer Center (MSKCC, EUA). El treball de Roger Gomis persegueix la comprensió dels mecanismes moleculars i genètics de les metàstasis. En particular, Roger Gomis es focalitza en la identificació i la validació funcional de gens i mecanismes que faciliten la colonització de llocs metastàtics clínicament rellevants de les cèl·lules de càncer de mama i la seva organització en pautes coordinades. Part dels seus estudis inicials a Catalunya deriven dels seus treballs anteriors en el camp del TGF β . En concret, dedica amplis esforços a l'anàlisi del programa citostàtic del TGF β i la seva evasió en el càncer de mama metastàtic. Els seus treballs mostren com canvis en les isoformes de factor de transcripció C/EBP β són clau per entendre el canvi de la resposta cel·lular al TGF β , que facilita l'evasió de la parada de cicle cel·lular induïda per la citocina, així com l'evasió de processos de control de la progressió tumoral com la senescència induïda per oncogens. L'aprofundiment en aquesta temàtica va permetre mostrar com la perversió de l'ús del TGF β en el tumor primari és clau per explicar

mecanismes de metàstasi com l'extravasació en el pulmó. Actualment, la seva recerca es concentra en l'estudi dels processos de metàstasi específiques de teixit del càncer de mama i colon, així com en els processos de latència metastàtica. Tècnicament, Roger Gomis aplica una aproximació científica àmplia i diversa al problema: combina models cel·lulars *in vitro*, anàlisis bioinformàtiques, bioquímica, i biologia molecular amb tècniques de bioimatge en models animals. També té una vasta experiència en l'anàlisi de perfils d'expressió gènica i la comparació de poblacions metastàtiques, canceroses i sanes, així com en la purificació i caracterització de poblacions de cèl·lules metastàtiques de càncer de mama. Conceptualment, aquesta recerca s'aixeca en la confluència entre les àrees de la biologia i la genètica del càncer. A causa de la naturalesa clínica del seu projecte, el seu grup té estrets lligams amb diversos oncòlegs clínics. Aquesta aproximació innovadora del laboratori per entendre la metàstasi del càncer de mama ha permès progressos importants per desemascarar els mecanismes que la dirigeixen.