

## **La Patología Molecular y el Progreso de la Medicina**

Ilmo. Prof. Dr. Ricardo González Cámpora

Discurso de Investidura leído el día 18 de mayo de 2014.

Excmo. Sr. Presidente de la Real Academia de Medicina y Cirugía de Sevilla.

Excmas. e Ilmas. representaciones.

Excmos. e Ilmos. Sres. Académicos.

Sres. Académicos Correspondientes.

Señoras y señores.

Hoy se cumple una de las aspiraciones personales y profesionales de mi vida: ser Académico de Número de la Real Academia de Medicina y Cirugía de Sevilla. En este acto solemne me presento ante ustedes para dar lectura al preceptivo Discurso de Ingreso y expresarles mi más sincero sentimiento de gratitud y compromiso.

Gratitud hacia todos los miembros de esta Corporación por haber ampliado el estrado de la Academia con un nuevo sillón dedicado a la "Patología Molecular" y por la generosidad y benevolencia al distinguirme para su ocupación.

Muy especialmente quiero hacer público mi agradecimiento a los Ilmos. Sres. Académicos que gustosamente presentaron mi solicitud - los Dres. Bautista Alcañíz Folch, Ángel Martínez Sahuquillo y el Prof. José María Rubio Rubio - así como al Prof. Galera Davidson, mi maestro, que ha tenido el expreso deseo de realizar el Discurso de Contestación. Hago también extensivo este reconocimiento al presidente de la Real Academia, el Excmo. Sr. Prof. Jesús Castiñeiras, por sus palabras finales al acto.

Compromiso de colaboración con todos los académicos para mantener vivo el espíritu inicial de esta Institución, que comenzó su andadura en 1693, de la mano del Dr. Juan Muñoz y Peralta, y que durante más de 300 años ha dejado sentir su influencia científica y humanística en esta ciudad de Sevilla. Asumimos que es responsabilidad de quienes hoy ostentamos esta representación, conservar y engrandecer este legado, que nos han dejado quienes nos precedieron, y, en este empeño, contribuiremos con nuestro trabajo y esfuerzo.

Aunque vengo a ocupar una plaza de nueva creación, esto no quiere decir que la Academia no se haya ocupado por los aspectos moleculares de la enfermedad. Sin ánimo de querer ser exhaustivo, recordaré dos participaciones singulares que marcan el inicio y la permanente actualidad del tema. Me refiero especialmente al Discurso de Recepción del Prof. Eduardo Zamora Madaria sobre "*Biología Molecular y Medicina Interna*" leído en 1994 y el Discurso Protocolario sobre el "*Paradigma científico y social de una molécula*", pronunciado por el Prof. Galera con motivo de la apertura del 300 Año Académico.

Mi trayectoria profesional en el campo de la Medicina se inicia en 1968, cuando ingreso en la recién creada Facultad de Medicina de la Laguna de Tenerife. Aunque, en principio, mis preferencias iban encaminadas hacia la especialidad de Cirugía pronto, esta pretensión se quiebra al encontrarme con los profesores Galera Davidson y Matilla Vicente. Ellos supieron desvelarme, con gran ilusión y

conocimiento, los contenidos de sus asignaturas y mostrarme, con su ejemplo, el papel relevante que tiene el patólogo en la medicina moderna.

Toda mi actividad profesional y personal ha estado marcada por la impronta recibida de mi principal maestro, el Prof. Galera Davidson; con él di mis primeros pasos en Patología cuando aún era estudiante, posteriormente me inicia en la vida académica y me enseña a expresarme públicamente, a redactar artículos científicos, a ser perseverante en los objetivos y, sobretodo, a tratar de alcanzar siempre la excelencia en el trabajo. Desde entonces lo considero mi maestro y mentor y, también, uno de mis mejores amigos. Gracias, Hugo por todo ello y por el cariño y estima que nos dispensas tú y toda tu familia.

Desde esta tribuna, también quiero mostrar especial agradecimiento al fundador de nuestra Escuela, el Prof. Luís Zamorano Sanabria, que, además de enseñarnos el pragmatismo necesario que hay que tener en Medicina, siempre gustó de conocernos personalmente y preocuparse por nuestras inquietudes y problemas.

Mi orientación hacia el campo de la Patología Molecular es producto del propio devenir de la disciplina que cultivo, ya que la Patología, desde sus inicios, ha estado centrada en el conocimiento de la enfermedad a través de la utilización de nuevas técnicas de estudio. No olvidemos que Morgagni, en el siglo XVIII, al sistematizar la correlación clínicopatológica sienta las bases científicas de la enfermedad. Años después, y en plena efervescencia de la medicina de laboratorio de la segunda mitad del siglo XIX, Müller y su discípulo Virchow introducen el estudio microscópico y establecen los principios de la nueva patología celular. En el siglo pasado y, especialmente, en estos años que nos han tocado vivir, el desarrollo de la Biotecnología y de la Informática nos están permitiendo entrar en el interior de las propias moléculas y conocer con mayor intimidad las alteraciones que conducen a la enfermedad, sentando así las bases de un nuevo paradigma, en el más estricto sentido de Thomas Kuhn, que ha venido a denominarse Patología Molecular.

Paul Berg, Premio Nobel de Química en 1980 por sus investigaciones sobre el ADN recombinante, señalaba por esos años que *“se aproxima el tiempo en que los médicos estarán familiarizados con la morfología molecular y la fisiología de los genes”*. Aunque somos de la opinión de que se ha progresado mucho en esta dirección, aún estamos lejos de comprender bien el funcionamiento del genoma y, por tanto, de controlar a la enfermedad.

Vale la pena recordar lo que ha sucedido con el cáncer. Hace sólo un poco más de una década los genetistas decían que lo único que necesitábamos para curar el cáncer era el análisis de la expresión génica; posteriormente, dijeron que esto se lograría con la secuenciación del genoma humano, hecho que se consiguió en el año 2003 y, ahora, en 2014, once años después y en pleno desarrollo de la secuenciación masiva, señalan que el objetivo se conseguirá con la secuenciación completa de un gran número de cánceres. Lo cierto es que esto último, lo podría hacer posible si aún existieran por descubrir muchos más genes responsables del cáncer, si se pudiera hacer mejor una distinción entre mutaciones *conductoras* y mutaciones *pasajeras* o si estos hallazgos condujeran al desarrollo de nuevas drogas contra las proteínas mutadas.

En este breve relato inicial no puede faltar una referencia a mi propia familia: mis

padres y hermanos, mi mujer, Concha, y mis cuatro hijos, Ricardo, Julio, Ramón y Alberto. Mis padres y hermanos han sido mis primeros y principales maestros, ya que marcaron mi vida con su constante magisterio y su recuerdo siempre está en mi memoria. Con mi mujer he compartido los últimos 35 años y a ella debo, en gran parte, los triunfos alcanzados. Con su cariño y consejos he olvidado los momentos difíciles de mi carrera profesional y ha sabido infundirme el apoyo moral y la confianza necesaria para poder conseguir los objetivos programados y, juntos, hemos formado una familia cuyo fruto mejor son nuestros hijos.

Por último, quiero destacar que la actividad docente, asistencial e investigadora que he llevado a cabo no se podría haber realizado sin la ayuda de mis maestros, compañeros y discípulos que se han formados bajo nuestra tutela. Con todos ellos tengo una deuda inolvidable y quiero mostrar mi reconocimiento por su contribución a la creación de mi propio curriculum y mi formación como persona. Y a todos vosotros, queridos amigos, también mi reconocimiento, porque con vuestra presencia en este acto me dais una nueva muestra de cariño y amistad.

En este discurso de recepción vamos a tratar del impacto que está causando la Patología Molecular en el progreso de la Medicina, pero visto desde nuestra óptica de patólogo y como testigo presencial del cambio de paradigma. En nuestra disciplina, este cambio ha sido lento y progresivo y se ha llevado a cabo a través de la implementación de distintas técnicas de estudio.

Cuando comienzo la especialidad de Patología en 1974, gran parte de la actividad diagnóstica e investigadora gira en torno al uso del microscopio electrónico, ya que aumenta el nivel de resolución del microscopio óptico y traslada el asiento de la enfermedad a estructuras intra o extracelulares; pero, pronto, esta herramienta comienza a pasar a un segundo plano, hasta casi su desaparición -como bien vaticinaba el Dr. Battifora- por el desarrollo de una nueva técnica que sobrepasa su capacidad resolutoria, al identificar moléculas mediante la utilización de anticuerpos específicos y cromógenos. Esta técnica, que se denomina genéricamente Inmunohistoquímica, constituye una de las mejores herramientas diagnósticas actuales y representa la primera aproximación de la patología estructural a la patología molecular, ya que permite conocer la expresión de genes, alterados o no, a través del reconocimiento de sus productos proteicos.

En este desarrollo evolutivo hay que mencionar también otras dos técnicas que tienen amplio eco en la década de los años 80 y 90 y que nuestro departamento tiene la ocasión de desarrollar con la colaboración de los Dres. Wied y la Dra. Bibbo de la Universidad de Chicago; se trata, por un lado, de la citometría estática, que pretende el reconocimiento de células malignas en base a características subvisuales de la cromatina y que pronto se desvanece debido a su limitada aplicabilidad y problemas técnicos y, por otro, nos referimos, a la punción aspiración con aguja fina, que junto con la citología exfoliativa constituyen el fundamento de la Citopatología actual y que, hoy, se considera el procedimiento más eficaz y barato para el estudio inicial de cualquier tipo de masa tumoral.

Las técnicas moleculares no comienzan a introducirse firmemente en Patología hasta principios de los 90 y lo hacen con dos objetivos principales: el

reconocimiento del virus del papiloma humano (HPV) en patología cervical uterina y como método predictivo de respuesta terapéutica al *Herceptin* en el carcinoma de mama, mediante la identificación del receptor HER2 amplificado.

Posteriormente, y ya, en estas dos últimas décadas, la cartera de servicios de Patología Molecular se ha ido ampliando notablemente, tanto en su faceta diagnóstica como predictiva del tratamiento, hasta llegar a la situación actual en la que las técnicas moleculares, en sus diferentes modalidades de hibridación in situ (HIS) o PCR, son herramientas de uso cotidiano y habitual.

Esperamos que en un futuro próximo se puedan constituir unidades específicas, interdisciplinarias, en donde sea posible la implantación de la nueva tecnología de la secuenciación masiva, que tantas expectativas está abriendo en el conocimiento, diagnóstico y tratamiento de la enfermedad.

La Patología Molecular es una rama de la Medicina que centra su atención en el estudio de la enfermedad a través del examen de moléculas en órganos, tejidos y fluidos corporales. Aunque se considera una rama de la Patología, comparte ciertos aspectos con la Patología Clínica, Biología Molecular, Bioquímica, Farmacología, Proteómica y Genética, por lo que en realidad se trata de una disciplina híbrida, cuyos límites con otras materias afines no están bien definidos.

Su ámbito de actuación va más allá del diagnóstico de la enfermedad, abarcando también el diseño y validación de biomarcadores, el estudio de la susceptibilidad a padecer enfermedades y el diseño de nuevas drogas.

Aunque para algunos, pueda parecer una novedad, sus orígenes se remontan a principios del siglo pasado cuando Archibald E. Garrod (1857-1936) postula el principio de "defecto enzimático debido a mutación genética"; pero el concepto actual comienza a tomar cuerpo definitivamente cuando el grupo de Linus Pauling demuestra que la deformidad en hoz de los hematíes de la anemia falciforme está relacionada con la existencia de una hemoglobina anómala. Varios años más tarde, Vernon Ingram descubre que la alteración fundamental reside en la sustitución del ácido glutámico por valina en el puesto número 6 de las cadenas  $\beta$  de la hemoglobina, todo ello como consecuencia de una mutación puntiforme en el codón 6 de dicho gen. La nueva forma de hemoglobina pasa a denominarse, hemoglobina S.

Este descubrimiento tiene gran impacto en toda la Medicina de la época, puesto que viene a demostrar que los genes determinan la naturaleza y estructura de las proteínas, y permite establecer, por primera vez y con claridad, la relación entre ADN-proteína-enfermedad. Años después, comienza a vislumbrarse que un mismo gen puede estar en relación con la síntesis de varias proteínas, de tal modo que el número total de proteínas es mucho mayor que el de los propios genes. Hecho se confirma posteriormente con El "*Proyecto del Genoma Humano*", al identificarse en el ADN cerca de 30.000 genes codificadores de proteínas, cifra muy inferior al de las propias proteínas, que oscila entre 250.000 y 300.000, sin contar un número ingente de polimorfismos de nucleótidos únicos, los denominados SNP.

Es interesante señalar que este *Proyecto del Genoma Humano*, liderado por Francis

Collins y Craig Venter, es un ejemplo de colaboración entre la industria privada, representada por Celera Genomic, e instituciones públicas agrupadas en el *Consortio internacional para la secuenciación del genoma humano*. El proyecto comienza en 1990 y tarda 13 (1990-2003) años en completarse. Su coste económico es de 3.000 millones de dólares y sólo consigue mapear y secuenciar el ADN relacionado con la codificación de proteínas, que representa, sólo, el 1,5% de la totalidad del genoma.

El siguiente proyecto, el denominado *Proyecto ENCODE/La enciclopedia de los elementos del ADN*, ha permitido la identificación de las restantes secuencias de ADN, los denominados “*genes basura*”; de tal modo que ha sido, a partir de su finalización, en 2012, cuando estamos comenzando a comprender mejor el papel de los genes en el desarrollo de la enfermedad y se ha descifrado también el denominado “*segundo código genético*”, -el código de splicing o de corte y empalme- tan necesario para comprender el desarrollo de varias proteínas a partir de un único gen y explicar también, las diferencias existentes entre organismos que contienen un número parecido de genes.

El gran desarrollo experimentado en los últimos años por la patología molecular descansa, en gran medida, en las nuevas técnicas de secuenciación masiva y en la bioinformática. La tecnología de la secuenciación ha evolucionado de forma tan rápida que ya se habla de tres generaciones diferentes. Los primitivos secuenciadores, que se utilizaron en el *Proyecto Genoma Humano* y que permitían lecturas de fragmentos largos, han sido sustituido por otros nuevos, más rápidos, capaces de leer cientos de miles o incluso millones de fragmentos pequeños en paralelo; todo ello, con menor coste y mayor versatilidad, de tal modo que permiten realizar estudios de secuenciación global o limitada a exomas, metilomas o transcriptomas con mucha mayor rapidez y precisión.

Para hacernos una idea del progreso y del impacto económico de esta nueva tecnología, baste señalar que hoy es posible secuenciar todo el genoma en menos de 24 h. a un coste aproximado de 1.000 dólares y que algunos autores sugieren que para el año 2020 en todos los hospitales del mundo desarrollado la secuenciación total del genoma será un test de rutina. Es decir, en menos de 14 años hemos pasado de un coste de 100 millones a 1000 dólares por genoma.

La carrera por la aplicación de las técnicas de secuenciación masiva no acaba más que empezar. Cada día se publican numerosos artículos sobre los más variados campos: medicina prenatal, envejecimiento, cáncer, hipertensión, diabetes, enfermedades raras, etc. o incluso sobre aspectos diferentes, como es el estudio de poblaciones o la selección de personas para tareas específicas.

Aparte del interés científico y práctico de este tipo de estudios, hay que tener en consideración que la información proporcionada puede llegar a vulnerar aspectos éticos y derechos individuales importantes, si no se atiende a estrictas normas de uso y se señalan bien los límites de actuación. En los últimos años, son muy variados los temas que han centrado la atención de los científicos y del público en general y, como botón de muestra, solo quisiera comentar brevemente lo sucedido con las patentes de genes.

Este problema surge en 1995, a propósito de la concesión de una de ellas a la compañía *Myriad Genetics*, para la comercialización de la prueba BRCA1 y BRCA2,

como test diagnóstico para la detección del carcinoma de mama familiar. A pesar del gran revuelo despertado en los medios de comunicación y en las revistas científicas, han sido necesarios 18 años para su resolución.

En el pasado mes de junio, la Corte Suprema de EE.UU. se pronuncia definitivamente señalando que *“los segmentos de ADN que conforman los genes humanos no son patentables porque son productos de la naturaleza; sin embargo, las moléculas resultantes de la transcripción inversa del ARN mensajero (ARNm) - denominado ADN complementario (cADN)- si puede serlo.*

Sin lugar a dudas, una de las áreas de mayor interés en el campo de la Patología Molecular es el estudio del cáncer, y toda la información publicada hasta la fecha está disponible libremente en el catálogo COSMIC, publicado por Instituto Sanger.

Una de las conclusiones más relevantes que se ha podido obtener en los estudios de secuenciación masiva es que el número de mutaciones existentes en un tumor está en función del número de divisiones somáticas que ha tenido la célula precursora o fundacional, antes de que sobre ella haya actuado el agente desencadenante de la neoplasia. Por tanto, se trata de un factor dependiente de la edad del individuo y del tipo de células. Esto nos explica el por qué en un tumor infantil existe un número muy escaso de mutaciones y el por qué en un carcinoma de un paciente con 90 años hay el doble de alteraciones genéticas que en el de otro, de 45 años, con el mismo tipo histológico de tumor.

Si se agrupan los tumores en orden decreciente de mutaciones, tenemos que en el extremo de la derecha están los tumores pediátricos, seguidos de las leucemias, ambos con muy escaso número, y, a continuación, están con los tumores sólidos del adulto, con una media de mutaciones que oscila entre 33 y 66. Los tumores que acumulan mayor número son los carcinomas de pulmón y melanomas, lesiones relacionados con mutágenos bien conocidos, y que presentan alrededor de 200 mutaciones por tumor.

Para hacernos una idea del papel que desempeñan los carcinógenos en el desarrollo de las alteraciones genéticas, basta con señalar que en un carcinoma de pulmón de un fumador existen 10 veces más de mutaciones que en el de otro no-fumador.

Los carcinomas que acumulan mayor número de mutaciones son los carcinomas de colon asociados a inestabilidad de microsatélites; es decir, los carcinomas relacionados con defectos en los genes encargados de la reparación del genoma, donde con facilidad se puede sobrepasar el millar.

Otro aspecto realmente interesante de estos nuevos estudios es que cada tipo tumoral, e incluso cada tumor, tiene un perfil mutacional característico, resultante de la acumulación de alteraciones en dos categorías de genes diferentes: los genes *conductores* o iniciadores del crecimiento tumoral y los genes *pasajeros*, no determinantes de la supervivencia celular ni del crecimiento acelerado.

La mayor parte de la información que disponemos sobre genes conductores corresponde a mutaciones activadoras en protooncogenes o a mutaciones inactivadoras en genes supresores, siendo, en cambio, muy escasa, la referente al tercer tipo de genes conductores, los llamados genes epi-conductores.

Los genes epi-conductores se encuentran en el ADN no codificante y su función se altera principalmente, a través de cambios en la metilación o modificaciones de la cromatina que persisten, a medida que las células tumorales se dividen.

Recientemente, estos genes están recibiendo especial atención, porque se han descrito mutaciones constantes, capaces de alterar la expresión de genes codificantes de proteínas, tal y como sucede el promotor del gen de la transcriptasa inversa de la telomerasa (TERT), que está mutado en más del 70% de los melanomas.

La secuenciación genómica también ha proporcionado importante información sobre la naturaleza del crecimiento tumoral y de las metástasis y, en este sentido, el estudio de las mutaciones en tumores avanzados de colon y páncreas, interpretadas en función del “*reloj evolutivo*” de Zuckerkandl y Pauling, ha permitido obtener dos conclusiones importantes:

La primera de ellas indica que para que se produzca un cáncer florido con capacidad metastatizante son necesarias décadas de crecimiento celular, de tal modo que el estado incurabilidad con metástasis sólo se presenta unos meses antes de la muerte; para darnos una idea de ello en este gráfico el lapso de tiempo transcurrido desde el primer cambio en un alelo del gen APC y el desarrollo del carcinoma infiltrante es de 20 años.

La segunda conclusión importante es que las mutaciones presentes en un tumor metastático lo están también en el tumor primario; es decir, no hay mutaciones específicas de metástasis.

Las metástasis son el resultado final de una cascada de acontecimientos en los que progresivamente, un grupo determinado de células va adquiriendo ventaja selectiva; de tal modo que el clon que acumula más alteraciones es el más apto para crecer a distancia. Una posible explicación a este hecho podría residir en la existencia de cambios epigenéticos aún no identificados con la metodología actual, o bien que estos genes no hayan sido dilucidados por dificultades en su estudio, pero también cabe la posibilidad de que realmente no existan dichos genes.

Uno de los aspectos más sorprendentes, y que llama poderosamente la atención, es que, a pesar de la inmensa cantidad de alteraciones moleculares descritas, en la mayoría de los cánceres existe conservación de las vías normales de señalización intracelular hasta sus últimas fases.

En la actualidad, se reconocen 12 vías de señalización, a través de las cuales actúan los productos codificados por los “*genes conductores-mutados*”. Estas vías intervienen en tres procesos celulares claves: diferenciación, supervivencia y mantenimiento del genoma, y, aunque en principio son independientes, muestran entre sí una estrecha relación, de tal modo que genes de distintas vías pueden contribuir a la producción del mismo efecto.

La translación a la clínica de los conceptos de genes con *mutaciones conductoras* y de vías de señalización, ha permitido la aplicación de tratamientos dirigidos contra las proteínas mutadas y el desarrollo de una nueva forma de tratamiento que ha venido a denominarse medicina personalizada, o mejor, aún, individualizada, como señala Craig Venter.

El término de medicina personalizada hace referencia al tratamiento médico ajustado a las características particulares de cada paciente. No significa literalmente que se utilicen drogas o dispositivos médicos exclusivos para cada enfermo, sino la posibilidad de clasificarlos en subgrupos, que difieren entre sí en relación con la respuesta a un fármaco específico, o bien en seleccionar individuos,

en función de la susceptibilidad a padecer enfermedades. De este modo, todas las actuaciones terapéuticas o preventivas se concentran específicamente en aquellos pacientes que realmente pueden beneficiarse, evitándose gastos superfluos y efectos secundarios indeseables.

Con la medicina personalizada también se está entrando en otro nuevo concepto de la práctica médica, que es la Medicina de las 4P, caracterizada por predicción, prevención, personalización y participación del paciente. A esta relación habría que añadir otra P más, que es la de precisión, ya que es posible identificar la alteración hasta su nivel más íntimo, el nucleótido o proteína alterada.

Aunque algunos autores consideran que la era de la Medicina Personalizada se inicia en el año 2000, a propósito de las declaraciones de Bill Clinton sobre las repercusiones terapéuticas del proyecto genoma humano, lo cierto es que esta nueva forma de medicina comienza a aplicarse con anterioridad, en la década de los años 70-80, y en el tratamiento de pacientes con carcinoma de mama; inicialmente, mediante la identificación de receptores de estrógenos para la posterior aplicación de antiestrógenos (tamoxifeno) y, posteriormente, con la caracterización del receptor HER2 y el uso del anticuerpo *trastuzumab*, conocido comercialmente como herceptin.

Pero no cabe duda que es, en el curso de los últimos 10 años, cuando realmente se han desarrollado con mayor profusión los estudios moleculares y los nuevos ensayos terapéuticos.

El reconocimiento de que ciertos tumores contienen mutaciones activadoras, identificables mediante el uso de biomarcadores, ha permitido el desarrollo de moléculas inhibitoras de la actividad tirosín quinasa y de anticuerpos monoclonales contra receptores de superficie. Hasta el momento, la FDA ha aprobado un total de 39 fármacos de uso en tratamientos oncológicos y, al menos, otros 45 están en fase de preparación con ensayos clínicos.

Cabe señalar que estas dianas moleculares pueden ser comunes a tumores histológicamente diferentes y, por tanto, ser subsidiarias del mismo tratamiento farmacológico, pero también puede suceder lo contrario; es decir, en un mismo tipo histológico de tumor pueden existir pacientes con dianas diferentes.

En la actualidad, ha quedado claro que el enfoque tradicional "*mismo fármaco para todos los tumores con el mismo tipo histológico*", que se ha venido utilizando con la quimioterapia citotóxica, ya no es sostenible y la estrategia droga-paciente ha sido sustituida por la de paciente-droga, en la que se administra la droga apropiada, a un individuo concreto, en su dosis adecuada, por la ruta correcta, y en el momento oportuno". Las llamadas 5R de los anglosajones. En un futuro muy próximo, a esto habría que añadir otra característica relacionada con el propio paciente, como es la farmacogenómica, que determina los niveles de drogas circulantes durante el tratamiento.

El principal caballo de batalla con que se encuentra esta nueva forma de terapia es la heterogeneidad tumoral, verdadera responsable de que las respuestas tumorales, hasta ahora alcanzadas, sean transitorias.

Las técnicas de secuenciación masiva nos han enseñado que los tumores están constituidos por subclones celulares con diferentes perfiles genómicos y que cuando se reduce significativamente el subclón predominante, por bloqueo de una



vía de señalización, comienzan a crecer otros, con distintos perfiles genéticos, resistente a dicha droga.

Es decir, las células cancerosas siguen las normas de la propia naturaleza, de tal modo que “la vida siempre encuentra un camino para la supervivencia”.

Teóricamente, la aproximación terapéutica más idónea para combatir la heterogeneidad debería estar basada en la reconstrucción de la propia arquitectura tumoral mediante el estudio de diversas zonas del tumor y de sus metástasis, con el fin de identificar mutaciones comunes, localizadas en el tronco del árbol filogenético; pero, por ahora, esto no es factible en la gran mayoría de centros hospitalarios, porque el número de biomarcadores investigados es muy limitado y los fondos disponibles para hacerlo muy escasos.

Como alternativas a esta solución, se han señalado varias estrategias. Vogelstein sugiere que, como en la mayoría de los casos se extirpa el tumor primario, sólo hay que fijarse en la heterogeneidad intratumoral e intermetastásica y, puesto que algunos pacientes presentan afectación de dos o más vías de señalización, debería emplearse combinaciones de inhibidores o bien inhibidores asociados a drogas citotóxicas u otras, que actúen sobre los mecanismos implicados en la transición epitelio-mesénquima, junto con inhibidores del factor de crecimiento transformante beta.

Por otro lado, Gatenby (195) ha apuntado una forma más radical, la denominada “*terapia adaptativa*”, en la que la finalidad no es erradicar la enfermedad sino aumentar la supervivencia del paciente. Gatenby parte del hecho de que, hasta la fecha, los éxitos conseguidos en la erradicación total de células tumorales son muy escasos y se limitan a un número reducido de tumores, tales como linfoma de Hodgkin, carcinoma de testículo y leucemia mieloide aguda, y que cuando se administra quimioterapia agresiva, las células resistentes proliferan de modo incontrolado. Por tanto, la estrategia más adecuada debería ir dirigida a mantener un equilibrio de convivencia estable, entre células sensibles y células resistentes. Las lecciones aprendidas con los análisis matemáticos sobre la evolución dinámica de los tumores, indican que el cáncer una vez diseminado es imposible erradicar e intentarlo podría ser aún más perjudicial.

Quisiera destacar que, en este proceso de medicina personalizada, es particularmente llamativo el hecho de que todo el esfuerzo realizado se ha centrado exclusivamente en tumores avanzados, donde ya no es posible la curación, y no se está haciendo un esfuerzo equivalente en el diagnóstico precoz, o en el tratamiento de tumores en estadios localizados que, precisamente, son los tumores con menor grado de heterogeneidad y, por tanto, más potencialmente curables.

En esta última parte del discurso, quisiera hacer algunas consideraciones sobre cómo la implementación de la Patología Molecular está cambiando la forma de proceder y actuar en los servicios de Patología.

Desde la década de los años ochenta, en los servicios de Patología se viene asistiendo a un cambio progresivo en la forma de emitir los informes, especialmente de enfermedades neoplásicas, donde la morfología se complementa con datos moleculares, orientados a proporcionar información predictiva de respuesta al tratamiento farmacológico.

Esto ha conducido a una nueva situación, no solo en la composición de las plantillas asistenciales, en las que hay integración de biólogos moleculares, sino

también en el propio equipamiento de la unidad, de tal modo que los utensilios tradicionales, como el microscopio o el microtomo, aparecen conjuntamente con la nueva maquinaria necesaria para la extracción, procesamiento y secuenciación de ADN.

Uno de los mejores ejemplos de la integración de la morfología con las alteraciones moleculares ha sido el desarrollo del concepto actual de tumores del estroma gastrointestinal, los denominados GISTs, a los cuales hemos prestado especial atención en los últimos años.

Hasta los años 80, la gran mayoría de los tumores mesenquimales del tubo digestivo eran considerados como leiomiomas y la única terapia eficaz era la cirugía si la tumoración estaba localizada.

Esta concepción comienza a cambiar en 1983, cuando Mazur y Clark caracterizan un grupo de lesiones mesenquimales gástricas, que no expresan marcadores musculares o neurales, y que denominan tumores del estroma gastrointestinal.

Varios años más tarde, en 1998, el interés por estos tumores comienza a cambiar. El grupo de Hirota describe por primera vez la existencia de mutaciones específicas en el gen *KIT* en más del 90% de los GIST y elaboran un anticuerpo específico capaz de reconocer, mediante técnicas de IHQ, a estos tumores.

Como la célula intersticial de Cajal es la única célula normal de la pared del tubo digestivo que expresa constitutivamente el receptor KIT y esta célula tiene funciones de marcapasos del peristaltismo intestinal, comienza a hablarse de diferenciación hacia la célula intersticial de Cajal e incluso se llega a proponer el término alternativo de “Tumores de las células marcapasos gastrointestinales” (GIPACT).

Pero estos tumores toman, aún, mayor relevancia, varios años más tarde, cuando el grupo de Joensuu, en el 2001, describen por primera vez una regresión tumoral importante en un paciente con GIST diseminado, tras la administración del inhibidor de tirosín-quinasa, *mesilato de imatinib*, fármaco que venía empleándose eficazmente en el tratamiento de la leucemia mieloide crónica.

Esta publicación marca un hito en Oncología porque constituye el primer ejemplo de respuesta tumoral importante en un tumor sólido a los inhibidores de tirosin quinasa y abre, definitivamente, la puerta a la utilización de estos nuevos fármacos en el tratamiento de los tumores sólidos.

A partir de entonces comienza a llevarse a cabo la caracterización molecular de todos los GISTs y, en tumores KIT-no mutados, se describe la existencia de un segundo gen afectado: el gen PDGFRA.

El estudio sistemático de estos dos genes ha revelado que los tumores portadores de determinadas mutaciones no responden al tratamiento con *imatinib*, como es el caso de la mutación D842V en el exón 18 del gen PDGFRA, o la del exón 9 del gen KIT en la que sólo se consigue respuesta si se duplica la dosis.

En nuestra serie más reciente, estas alteraciones representan aproximadamente el 13% y 9% de los casos estudiados, respectivamente.

Hoy sabemos que bajo el término de GIST, existe un grupo de tumores, aún más heterogéneo que el señalado, ya que se han descrito casos, con mutaciones en otros genes diferentes, tales como NF1, BRAF y SDH.

Aún queda por caracterizar un grupo residual, que representa aproximadamente el 5% de casos, en los que no se han detectado mutaciones en ninguno de los genes señalados; algunos de estos casos son lesiones esporádicas solitarias, pero también

hay otros que forman parte de la triada de Carney, síndrome que combina la presencia metacrónica de GIST gástricos, paraganglioma extraadrenal y condroma pulmonar y cuyas bases genéticas no están aún bien establecidas.

Estos mismos acontecimientos que hemos relatado, u otros muy parecidos, han sucedido con otros tipos de tumores, como los carcinomas de pulmón, colon y melanomas, por citar los más comunes.

Y la conclusión final es que la caracterización morfológica, e incluso inmunohistoquímica, ya no es suficiente para la selección de la terapia; es necesario, el estudio molecular. Es decir, el diagnóstico histológico debe considerarse como el comienzo de un proceso, que proporciona datos predictivos sobre la necesidad de un tratamiento, pero que da poca información sobre el tipo de terapia a emplear

Recientemente, al Dr. Stacey Mills, editor de la revista más importante de patología quirúrgica (American Journal of Surgical Pathology), le hicieron la siguiente pregunta:

¿Cree usted que llegará el día en el que a nadie le preocupe la morfología o incluso el origen anatómico de un tumor y sólo esté interesado en las alteraciones genéticas? Y su respuesta fue la siguiente:

Si me hubiesen preguntado esto hace 10 años me hubiera reído y de malos modos hubiera dicho ¡NO! Ahora, no estoy tan seguro. Probablemente, no, en el resto de mi vida profesional o de la suya, pero decir NUNCA es un periodo de tiempo demasiado largo.

No sabemos si en el futuro los tumores se clasificarán exclusivamente en función de sus anomalías moleculares pero, por ahora, la pauta mostrada y recomendada por la OMS es hacia una integración total de toda la información disponible, siendo la histopatología convencional el “gold standard” para el desarrollo de las nuevas técnicas diagnósticas.

En estos gráficos que aparecen en la pantalla a la derecha, les muestro los hallazgos moleculares útiles para el tratamiento del adenocarcinoma de pulmón con fármacos dirigidos. Esta relación, que recoge 8 alteraciones diferentes, en absoluto es una lista cerrada, ya que en más de 1/3 de los adenocarcinomas aún no se han identificado alteraciones; la última en añadirse, que no está incluido en esta relación, es la del gen ROS1, que responde específicamente al *crizotinib*, al igual que lo hacen los tumores con mutaciones en el gen ALK.

Un aspecto importante en el estudio de los biomarcadores predictivos de respuesta terapéutica es que la presencia de mutaciones en algunos genes, por ejemplo KRAS, constituyen una contraindicación para la administración de determinados fármacos dirigidos contra proteínas receptoras, como sucede en el carcinoma de pulmón con EGFR-mutado o bien en el caso del carcinoma de colon metastásico.

La experiencia con los inhibidores de tirosín quinasa puede servir de ejemplo de los éxitos y los desafíos que aún tiene la Medicina personalizada del cáncer.

El hallazgo de que los inhibidores de EGFR son eficaces en pacientes con mutaciones en el dicho receptor, supuso un avance importante, a pesar de que al cabo del año de iniciarse el tratamiento, la mayoría presentan resistencia al fármaco. En la actualidad, aunque el problema está lejos de tener una solución

completa, se han identificado diversas causas relacionadas con dicha resistencia, tales como la proliferación de subclones con nuevas mutaciones, bien en el propio gen del EGFR o en otros genes, como el MET, el PIK3CA, o el gen del receptor AXL y el de su ligando GAS6. Pero, a pesar de todos estos hallazgos, aún queda más un 30% de casos en los que el mecanismo de resistencia está aún por descubrir.

Quisiera destacar que a pesar de la extraordinaria información que tenemos sobre el cáncer, con la tecnología actual disponible es muy difícil, por no decir que imposible, capturar los acontecimientos iniciales del desarrollo tumoral, de tal modo que el diagnóstico se realiza cuando la lesión ya está plenamente constituida y es visible, bien directamente o con métodos radiológicos o endoscópicos.

Recientemente, la llamada “biopsia líquida” se ha presentado como alternativa eficaz al estudio de muestras tisuales. En sangre, es posible identificar células tumorales o ADN tumoral circulante (ctADN) en donde es factible reconocer su firma molecular. Este tipo de “biopsia” puede hacerse extensiva al estudio de otros líquidos corporales, como orina, en casos de tumores urogenitales, esputos, en carcinomas de pulmón o, incluso, heces en carcinomas colorrectales.

Los resultados obtenidos hasta la fecha han revelado que la presencia de células y ADN tumoral circulante es un hallazgo frecuente (50-70% de casos) en carcinomas colorrectales, gastroesofágicos, mama, cabeza y cuello, hígado y melanoma. En cambio, son hallazgos inusuales en tumores gliales y carcinomas mucoscretorios.

Este método, no solo sirve para diagnosticar muchos tipos de tumores, según su firma molecular, también permite monitorizar la respuesta al tratamiento, detectar la enfermedad mínima residual, la aparición de resistencias a terapias dirigidas y, potencialmente, también, para realizar un screening en cánceres no invasivos.

Por último, señalar que las técnicas moleculares que se utilizan en los servicios de Patología no solo se aplican para identificar biomarcadores de valor terapéutico, también se usan, y con gran profusión, con otros fines, tales como estudio de clonalidad de las poblaciones linfoides, confirmación de diagnósticos, especialmente en casos de sarcomas y linfomas, estudio de inestabilidad de microsatélites en carcinomas de colon, en la identificación de micrometástasis ganglionares en pacientes con carcinoma de mama y para el reconocimiento de diversos microorganismos, especialmente víricos, y del bacilo tuberculoso.

En la utilización diagnóstica de estas técnicas, y muy especialmente en Oncología, hay que tener en consideración que su contribución diagnóstica es simplemente la de un dato, un dato adicional importante, que debe integrarse y valorarse con los restantes hallazgos clínicos, morfológicos e inmunohistoquímicos del tumor, y nunca considerarse individualmente, como hallazgo diagnóstico definitivo. Hasta la fecha la única alteración molecular específica en un tumor sólido es la translocación del sarcoma sinovial, los otros tipos de translocaciones pueden verse en muy distintos tipos de tumores. Incluso la tan comentada clonalidad para el estudio de los linfomas no es indicativa de tumor; hay proliferaciones benignas monoclonales y linfomas que no presentan reordenamientos.

A modo de EPÍLOGO, termino esta disertación con una simple reflexión sobre a dónde va la Patología.

Todos sabemos que la Patología se inicia como una ciencia básica encaminada al

conocimiento de la enfermedad, y así ha permanecido hasta mediados del siglo pasado cuando, de modo acelerado, comienza a convertirse en una especialidad clínica y el objetivo principal se desplaza hacia el diagnóstico, dejando a un lado la faceta investigadora básica.

A nuestro modo de ver, el desarrollo de la Patología Molecular en los servicios de Patología ha supuesto el establecimiento de un puente de unión entre estas dos facetas de la Patología que, irremediablemente y por imperativos prácticos y asistenciales, estaban condenadas a la separación, ya que es muy difícil ser, a la vez, buen patólogo diagnóstico y buen investigador básico, con la dedicación, profundidad y conocimiento que ambas facetas requieren.

He dicho.