

INHIBIDORES DE mTOR EN EL TRATAMIENTO DE LOS TUMORES NEUROENDOCRINOS GASTROENTEROPANCREÁTICOS

JUAN J. DíEZ

Académico Correspondiente de la Real Academia de Doctores de España

INTRODUCCIÓN

La proteína mTOR recibe este nombre por ser la diana de los mamíferos para la rapamicina. La rapamicina es un antibiótico macrólido que se ha utilizado como antifúngico y como inmunosupresor en la prevención del rechazo de trasplantes. A su vez, la rapamicina recibe este nombre porque fue aislada de muestras de suelo procedentes de la isla de Rapa Nui, en el Pacífico Sur. Se trata de un antibiótico macrólido producido por el *Streptomyces hygroscopicus*, que inhibe la respuesta inmune en los mamíferos a través de una depresión de la proliferación de los linfocitos (1).

La rapamicina se liga a una proteína citosólica llamada FKBP12 y el complejo rapamicina-FKBP12 inhibe la actividad de una quinasa involucrada en la proliferación linfocítica. Esta quinasa se conoce hoy como mTOR (2,3). La mTOR es una enzima de 290 kD que controla distintas señales intracelulares implicadas en el crecimiento y la proliferación celulares. Se trata de una quinasa de serina y treonina implicada en la utilización de nutrientes y en el mantenimiento de la viabilidad de las células normales. La actividad de la mTOR es indispensable para las células normales, de modo que la pérdida de su actividad durante la vida embrionaria produce la muerte intrauterina (4). En las células tumorales la proteína mTOR se encuentra alterada en raras ocasiones, lo que sugiere que la pérdida de la función de esta enzima supone una desventaja para la proliferación tumoral.

BIOLOGÍA DE LA PROTEÍNA mTOR EN CÉLULAS NORMALES

La proteína mTOR funciona como un interruptor biológico en las células normales (figura 1). Por un lado, trabaja como un sensor, es decir, es capaz de detectar materiales básicos necesarios para el crecimiento celular (glucosa, aminoácidos), señales reguladoras del crecimiento procedentes de otras células (hormonas, factores de crecimiento) y agentes estresantes que pueden causar muerte celular (hipoxia, oxidantes, daño en el material genético, cambios osmóticos, cambios en el pH). Por otro lado, mTOR responde a esas señales con un mecanismo conexión-desconexión

de los procesos celulares que regulan el crecimiento, motilidad, división y la apoptosis. De este modo, en condiciones de estrés nutricional severo, las células pueden utilizar para su consumo organelas internas y de esta manera obtener energía y reutilizar algunos de sus componentes, proceso conocido como autofagia. Este proceso mediado por mTOR promueve la supervivencia celular y preserva funciones esenciales para la vida celular (5).

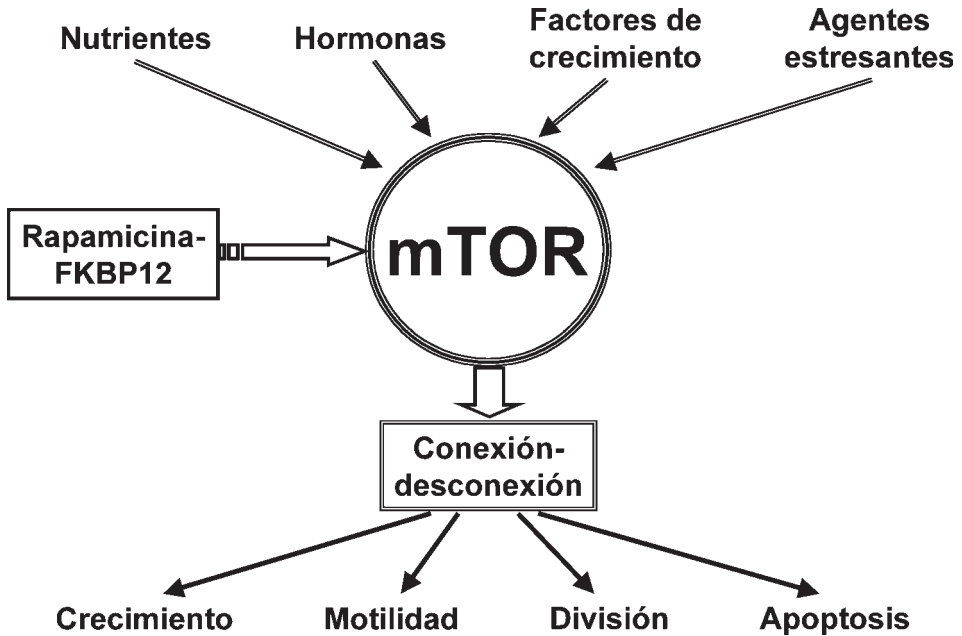


Figura 1. *Biología de la proteína mTOR en células normales. La quinasa mTOR actúa como un interruptor biológico que responde a señales reguladoras y responde con un mecanismo de conexión-desconexión de diversos procesos celulares.*

REGULACIÓN DE mTOR

La regulación de la proteína mTOR es compleja y en ella participan proteínas diversas. El conocimiento de los mecanismos reguladores tiene gran interés desde el punto de vista del empleo terapéutico de los inhibidores del mTOR en las neoplasias malignas. Una de las principales proteínas que participan en la regulación de mTOR es el complejo de la esclerosis tuberosa hamartina/tuberina, también conocido como TSC1/TSC2. Este complejo ejerce una acción inhibitoria de la actividad del mTOR.

Los factores de crecimiento y los aminoácidos regulan la vía de mTOR a través de sus efectos sobre el complejo TSC. En concreto, los factores de crecimiento favorecen la acción de la quinasa estimulante del crecimiento AKT. Esta enzima provoca la disociación del heterodímero TSC1/TSC2. Esta disociación activa la proteína Rheb, una GTPasa y permite al Rheb ejercer una regulación al alza de la actividad de mTOR en respuesta al estímulo (6). Por otro lado cuando existe un nivel bajo de energía en la célula, caracterizado por un cociente ATP/AMP incrementado, se activa la quinasa AMPK. La AMPK activada fosforila y activa la TSC2. De esta manera la TSC2 es

capaz de inactivar la proteína Rheb y provocar una inhibición de la actividad de mTOR. Es decir, por un lado los aminoácidos y los factores de crecimiento inactivan la TSC2, lo que conduce a un aumento de la actividad de mTOR, mientras que los niveles energéticos bajos activan la TSC2, lo que resulta en un decremento de la actividad de mTOR (7) (figura 2).

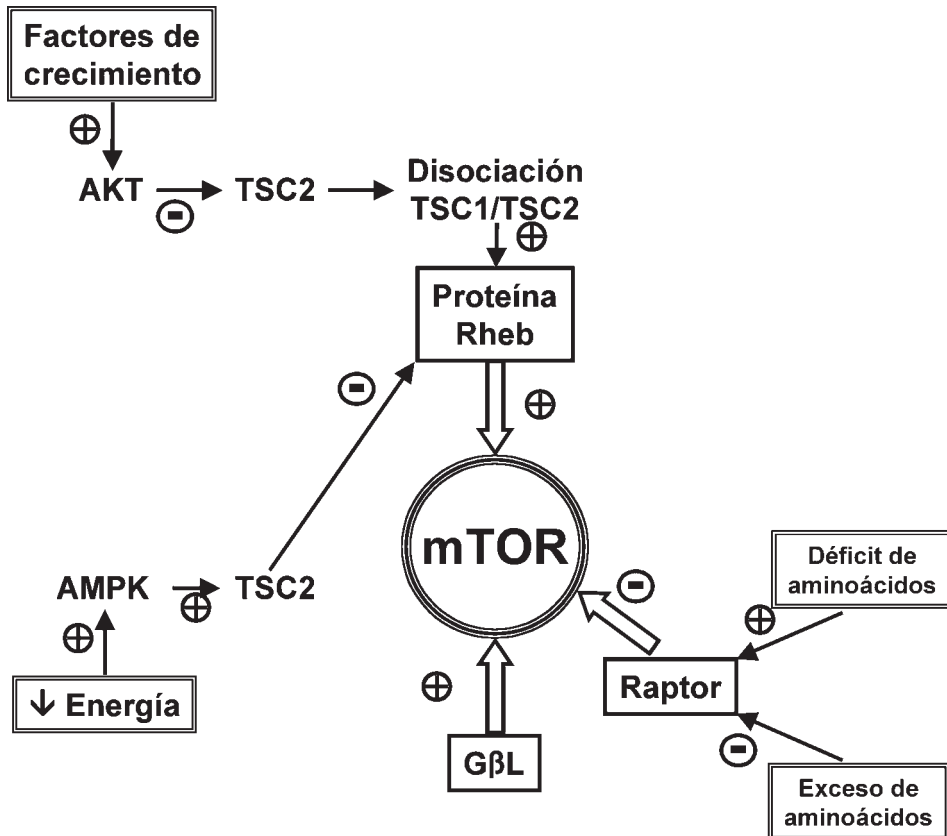


Figura 2. Regulación de mTOR en células normales. Los factores de crecimiento, aminoácidos, cambios energéticos regulan la actividad de mTOR a través de sus efectos sobre el complejo TSC1/TSC2, la proteína Rheb y la proteína raptor.

Otros reguladores de mTOR son la proteína raptor (proteína reguladora asociada a mTOR) y la proteína GβL, las cuales forman un complejo con mTOR denominado complejo sensible a rapamicina. La proteína raptor actúa mediante una unión estrecha a mTOR impidiendo que esta última ejerza sus acciones sobre sus sustratos. La inhibición que raptor ejerce sobre mTOR se produce en situaciones de deficiencia de aminoácidos, sin embargo, cuando existe exceso de aminoácidos, raptor se comporta como estimulante de mTOR. Por su parte GβL también es un estimulante de mTOR, pero su acción parece dependiente de raptor (6, 7).

PAPEL DE LA PROTEÍNA mTOR EN LAS CÉLULAS CANCEROSAS

En las células tumorales existen diversas moléculas alteradas que producen una activación del crecimiento y proliferación celulares mediada a través de la proteína mTOR (figura 3). La identificación de estos defectos moleculares puede proporcionar marcadores que determinen si un determinado tipo de cáncer es o no sensible a la inhibición del mTOR.

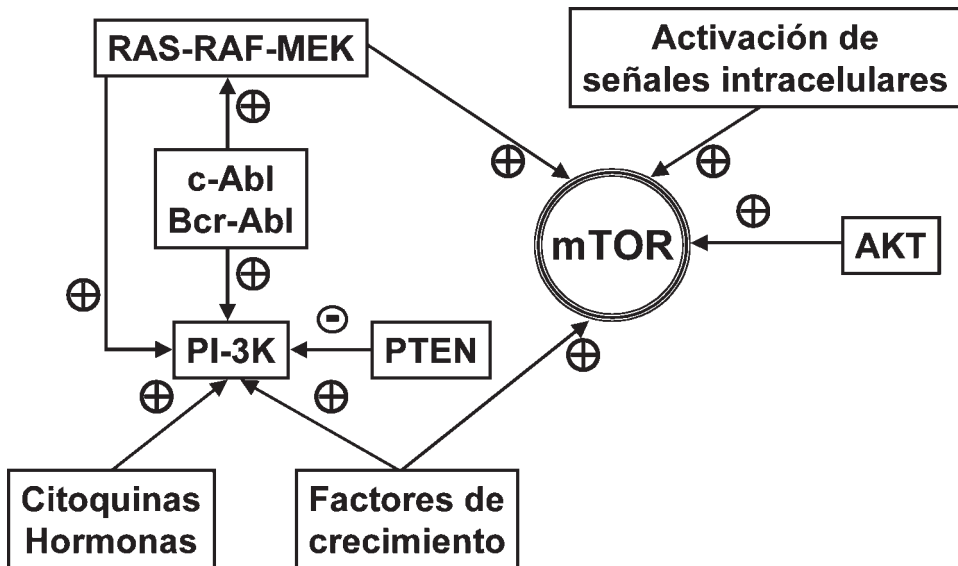


Figura 3. Regulación de mTOR en células tumorales. La activación de mTOR en células tumorales se puede producir por diversas moléculas alteradas, tales como factores de crecimiento, señales intracelulares, oncogenes y quinasas.

Factores de crecimiento

En diversos tipos de cáncer se encuentra tanto una sobreproducción de factores de crecimiento, como una sobreexpresión de receptores para factores de crecimiento. En otras ocasiones se producen mutaciones activadoras de los receptores de factores de crecimiento con independencia de los ligandos. La iniciación de señales a través de los receptores EGFR o HER2 desempeña un papel clave en algunos pacientes con tumores de pulmón, mama, ovario o colon (8, 9). La activación de receptores intracelulares, como los receptores estrogénicos, operan en otros tipos de cáncer en los que también participa mTOR (10).

Señales intracelulares

La activación de los receptores de membrana por los factores de crecimiento inicia una cadena de reacciones químicas de fosforilización catalizadas por diversas quinasas intracelulares. La ventaja de esta serie de reacciones mediadas por quinasas es una localización precisa de cada componente dentro de la célula, de manera que

cada una de las enzimas implicadas se convierte en un punto de control de la cascada que puede responder a estímulos positivos o negativos originados tanto en el propio interior celular (nutrientes, estado energético), como en el exterior de la célula (hormonas, factores de crecimiento, adhesión celular). Las células tumorales se caracterizan porque se escapan de estos mecanismos de control generalmente por cambios genéticos que permiten la génesis de señales aberrantes a partir de los receptores de factores de crecimiento.

Se pueden producir también tanto la activación constitutiva (no mediada por ligando) de moléculas de señalización interna, como la pérdida de función de moléculas que regulan negativamente la actividad de la cascada. El primer fenómeno ocurriría en la activación de oncogenes y el segundo en la inhibición de genes de supresión tumoral.

RAS y c-Abl

Diversos oncogenes y familias de quinasa participan en los diferentes tipos de cáncer. En concreto, las vías principales por las que se estimula el crecimiento en las células epiteliales son la vía RAS-RAF-MEK y la vía de la quinasa de PI-3-AKT. Estas dos vías están interrelacionadas, ya que la quinasa de PI-3 puede activarse por RAS, con independencia de la estimulación de receptores. Las mutaciones oncogénicas del RAS se han demostrado en carcinomas de colon, páncreas, tiroides y pulmón, y en la leucemia mieloide (11).

Las quinasas c-Abl y Bcr-Abl estimulan la proliferación celular a través de la activación tanto de la vía RAS-RAF-MEK como de la vía de la quinasa de PI-3. La Bcr-Abl está implicada en la génesis de la leucemia mieloide crónica y su inhibición es efectiva en la terapia de esta enfermedad (12).

Quinasa de PI-3

La quinasa de PI-3 puede activarse por varios mecanismos tales como señales procedentes de receptores de factores de crecimiento, citoquinas y hormonas, activación del RAS y mutaciones en los genes de los dominios regulador y catalítico de la propia quinasa de PI-3. A su vez, la activación de la quinasa de PI-3 se asocia a progresión tumoral y aumento de la capacidad metastática.

Se han descrito mutaciones activantes del gen que codifica la subunidad catalítica de la quinasa de PI-3, *PIK3CA*, en cánceres de colon, mama, ovario, pulmón, estómago (13). En cánceres de ovario y colon se han descrito también mutaciones activantes del gen de la subunidad reguladora, *PIK3RI* (14).

AKT (PKB)

La AKT es una quinasa crítica en la vía de activación del mTOR. Además su activación es antiapoptótica y favorece la supervivencia celular. En diversos cánceres se han encontrado formas activadas constitutivamente de AKT (15). La presencia de

AKT activado se correlaciona bien con la sensibilidad a los inhibidores de mTOR; sin embargo, un nivel elevado de Bcl-2, que puede resultar de una activación de AKT, se asocia a resistencia a los mencionados agentes (16, 17).

PTEN

La actividad de las quinasas es contrarrestada por la acción de las fosfatasa. En concreto, la actividad de la quinasa de PI-3 se contrarresta por la actividad de la PTEN que retira los grupos fosfato añadidos por la quinasa de PI-3 a su sustrato. En varias líneas tumorales se han descrito tanto pérdidas de actividad de PTEN como mutaciones de esta enzima (10). En algunos tumores la pérdida de actividad de PTEN se correlaciona con la sensibilidad a derivados de rapamicina.

mTOR Y PROLIFERACIÓN CELULAR

mTOR regula más de cien genes implicados en el metabolismo celular y, de esta forma, participa en la regulación del ciclo celular y de los procesos asociados a la proliferación celular. Dos de las proteínas reguladas por mTOR, la S6 quinasa-1 (S6K1) y la 4E-BP1 están implicadas en el proceso de traducción del RNA mensajero (mRNA) que tiene lugar en los ribosomas (18).

S6K1

Aunque no se conoce bien el mecanismo por el que mTOR estimula la S6K1 existen datos que demuestran que, una vez activada, la S6K1 fosforila la proteína ribosómica S6 y estimula la traducción de los mRNAs oligopirimidínicos 5'-terminal (TOP) (figura 4). Estos mRNAs TOP codifican componentes críticos de la maquinaria de traducción de proteínas, tales como las proteínas que forman los ribosomas, los factores de elongación eEF1A y eEF2, y la proteína ligante de poly-A. La inhibición de mTOR provoca una rápida desfosforilización e inactivación de la S6K1 por la

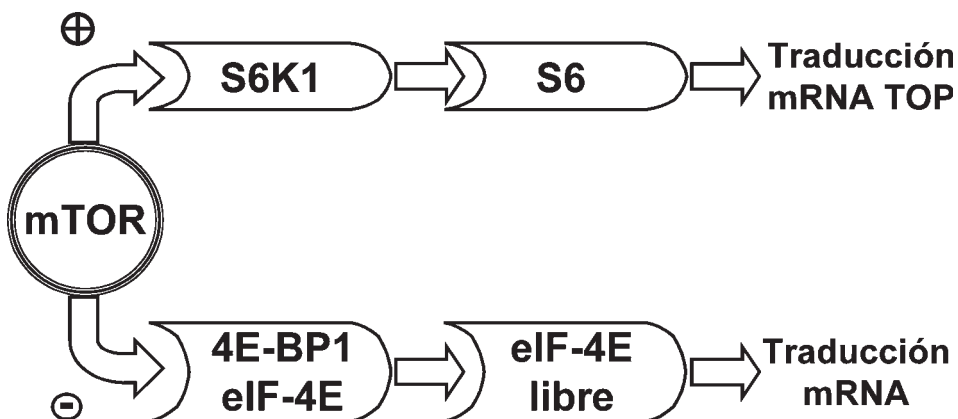


Figura 4. *mTOR* y proliferación celular. *mTOR* regula diversas proteínas, entre ellas la *S6K1* y la *4E-BP1*, implicadas en el proceso de traducción de mRNA.

fosfatasa PP2A, por lo tanto, el nivel de S6K1 activado en células mononucleares de sangre periférica puede ser un marcador de la eficacia de los derivados de la rapamicina en el bloqueo de la actividad de mTOR en los tumores, y puede ser útil para determinar la dosis biológicamente eficaz (19).

eIF-4E

La asociación de 4E-BP1 con eIF-4E también es regulada por mTOR (figura 4). Cuando eIF-4E es liberado de su proteína de unión se liga a factores de iniciación para formar el complejo activo eIF-4F, en el que el eIF-4E reconoce el extremo 5' del mRNA. De esta forma mTOR controla también el ciclo celular, el crecimiento y la susceptibilidad a la apoptosis. En efecto, la inhibición de mTOR detiene rápidamente la traducción del mRNA incrementando la unión de eIF-4E a su proteína ligadora 4E-BP1, lo que puede conducir a apoptosis en casos de estrés severo (18).

mTOR Y CICLO CELULAR

mTOR ejerce su influencia sobre el ciclo celular a través de la traducción del mRNA de las ciclinas que, a su vez, regulan la actividad de las quinasas dependientes de ciclinas. Las ciclinas D y E regulan el paso a través de la fase G1 del ciclo celular. La sobreexpresión de la ciclina D1 participa en el desarrollo de algunos cánceres. La inhibición de la traducción del mRNA de la ciclina D1 por los inhibidores de mTOR podría suprimir el crecimiento de las células tumorales (20).

En células de cáncer de mama que expresan receptores estrogénicos los estrógenos estimulan la progresión del ciclo celular a través de la activación de la quinasa de PI-3 y la vía del MEK. Sin embargo puede ocurrir una activación del receptor estrogénico alfa en ausencia de estrógenos y mediada a través de quinasa de PI-3 y AKT, con lo que las células tumorales serían resistentes a tamoxifeno. En estos casos el tratamiento con inhibidores de mTOR restaura la sensibilidad a la apoptosis inducida por tamoxifeno (21).

mTOR Y ANGIOGÉNESIS

La hiperexpresión del factor inducible por hipoxia 1 α (HIF-1 α) se asocia a una mayor agresividad de los tumores, ya que este factor regula la transcripción del gen del factor de crecimiento vascular endotelial A (VEGF-A), un poderoso estimulador de la angiogénesis en el cáncer. En células bien oxigenadas el HIF-1 α se produce y degrada de forma continua. En presencia de una cantidad adecuada de oxígeno la proteína de von Hippel-Lindau (VHL) se une al HIF-1 α y promueve su degradación. La pérdida de la proteína VHL está relacionada con la génesis del cáncer renal.

En células hipóxicas el HIF-1 α se trasloca al núcleo y se combina con el HIF-1 β , lo que inicia la transcripción de unos 30 genes relacionados con la hipoxia. Entre estos genes se encuentran los que codifican al VEGF-A, factor de crecimiento derivado de las plaquetas β (PDGF β), factor de crecimiento transformador β (TGF β), factor de crecimiento insulinoide tipo 2 (IGF 2), factor de crecimiento epidérmico (EGF), eritropoyetina, endotelina 1, sintetasa de óxido nítrico inducible, inhibidor de

quinasas dependiente de ciclinas p21, proteasas asociadas con invasión tisular y varias enzimas implicadas en la glucólisis anaerobia y en el transporte de glucosa (22). Por lo tanto el HIF-1 α colabora a incrementar el aporte sanguíneo al tumor a través de una estimulación de la angiogénesis, asegura los requerimientos energéticos mediante un aumento del transporte de glucosa y de la glucólisis anaerobia, mecanismo primario de generación de ATP en los tumores en expansión (23). La inhibición de la actividad de mTOR disminuye la expresión de los genes inducibles por hipoxia y reduce la respuesta celular al VEGF-A y otros estímulos proangiogénicos (6).

mTOR Y APOPTOSIS

La apoptosis es un mecanismo de eliminación de células con daño en el DNA. El factor de transcripción p53 se activa en respuesta al daño genético y estimula la expresión de proteínas proapoptóticas que evitan que el daño celular se transmita a la descendencia celular (24). En las células tumorales son frecuentes las mutaciones en el gen p53 (25), con lo que se pierde el papel protector de esta proteína y se evita la apoptosis. Otro mecanismo de las células cancerosas para evitar la apoptosis es la activación constitutiva de AKT que es seguida de una inhibición de la función de varias proteínas proapoptóticas y una regulación al alza la expresión de proteínas antiapoptóticas, tales como la Bcl-2 (26).

La inhibición de mTOR puede afectar la apoptosis y tener consecuencias terapéuticas en células que han perdido la actividad de p53, mientras que en células con actividad normal de p53, la inhibición de mTOR puede incrementar la actividad de los quimioterápicos que causan daño al DNA, como el cisplatino (18). En células desprovistas de factores de crecimiento la inhibición de mTOR da lugar a una regulación al alza de dos quinasas, la quinasa reguladora de señal de apoptosis (ASK1) y la quinasa N-terminal de c-Jun (JNK). La JNK activa a c-Jun, que es inductora de apoptosis. En células con actividad normal de p53 puede bloquearse esta actividad por la unión de la proteína reguladora p21 a la ASK1 e inactivación de esta última.

TUMORES NEUROENDOCRINOS GASTROENTEROPANCREÁTICOS

Concepto y clasificación

Los tumores neuroendocrinos (TNE) son un grupo heterogéneo de neoplasias que se caracterizan por la presencia de gránulos de secreción y la capacidad para producir aminas biógenas y hormonas peptídicas (27, 28). Las células tumorales suelen presentar antígenos neurales como la enolasa neuronal específica, cromograninas y sinaptofisina, así como expresión de receptores de membrana para péptidos pequeños. Estos tumores tienen su origen en glándulas endocrinas (hipófisis, médula suprarrenal, paratiroides), islotes celulares en glándulas endocrinas (tiroides, páncreas) y en células endocrinas dispersas entre células endocrinas, principalmente en los sistemas digestivo y respiratorio. Desde un punto de vista biológico los tumores pueden ser funcionantes o no funcionantes, de crecimiento rápido o insidioso, aislados o asociados a otras neoplasias, bien diferenciados o pobremente diferenciados. Desde un punto de vista clínico pueden ser silentes o muy sintomáticos, de comportamiento benigno o maligno y pueden presentarse de forma esporádica o familiar.

La incidencia de estos tumores oscila entre 0,7 y 3 casos por 100.000 habitantes (29, 30), si bien su frecuencia es mucho mayor en estudios de autopsia (31). La reciente clasificación de la OMS recoge criterios histomorfométricos y de comportamiento biológico de los TNE gastroenteropancreáticos y considera los siguientes grupos (32): tumor endocrino bien diferenciado (comportamiento benigno o potencial maligno incierto), carcinoma endocrino bien diferenciado (bajo grado de malignidad), carcinoma endocrino pobremente diferenciado (alto grado de malignidad) y carcinoma mixto exocrino-endocrino. Los TNE, a su vez, pueden clasificarse según su origen embriológico en tumores procedentes del intestino anterior, medio y posterior (31, 33). Finalmente, desde el punto de vista clínico conviene distinguir entre los TNE pancreáticos y los TNE originados en el tracto digestivo, árbol respiratorio, comúnmente denominados carcinoides. En la tabla 1 se recoge una clasificación de los TNE más frecuentes.

TABLA 1. *Clasificación de los tumores neuroendocrinos gastroenteropancreáticos*

Tumores endocrinos pancreáticos
Insulinoma
Gastrinoma
Glucagonoma
VIPoma
Somatostatinoma
No funcionantes
Otros (tumores secretores de ACTH, GFR, neurotensina, PTH, calcitonina, entero-glucagón, CCK, GIP, LH, GRP, ghrelina)
TNE (carcinoides) de intestino anterior
Carcinoide bronquial
Carcinoide tímico
Carcinoide gástrico
Carcinoide duodenal
Carcinoide pancreático
TNE (carcinoides) de intestino medio
Carcinoide intestinal (yeyuno, íleon)
Carcinoide apendicular
Carcinoide de colon derecho
TNE (carcinoides) de intestino posterior
Carcinoide de colon izquierdo
Carcinoide de sigma
Carcinoide rectal

Abreviaturas: TNE, tumor neuroendocrino; ACTH, corticotropina, GRF, factor liberador de hormona del crecimiento; PTH, hormona paratiroidea; CCK, colecistoquinina; GIP, péptido inhibidor gástrico; LH, hormona luteinizante; GRP, péptido liberador de gastrina.

Tratamientos disponibles en pacientes con TNE

El objetivo del tratamiento de los TNE debe ser curativo siempre que sea posible y paliativo en el resto de los casos. La cirugía es la principal arma terapéutica en los casos de tumores localizados y es el único procedimiento curativo. En muchos casos la cirugía no consigue el control completo de la enfermedad por extensión metastásica o por recidivas locales o a distancia. En estos casos se ha empleado tratamiento médico con análogos de somatostatina e interferón alfa. En casos avanzados

se utilizan agentes quimioterápicos tales como distintas combinaciones de cisplatino, etoposido, estreptozotocina, dacarbazina, 5-fluorouracilo y adriamicina. Más recientemente se han empleado también isótopos radiactivos vehiculizados a través de diferentes trazadores, tales como la metayodobenzilguanidina o los análogos de somatostatina. Este tratamiento supone una forma de radioterapia interna dirigida de forma directa a las células tumorales. Otros procedimientos que se han empleado incluyen el trasplante hepático, la embolización de la arteria hepática, la quimioembolización, la ablación con radiofrecuencia y la radioterapia externa. En tumores pobremente diferenciados, con enfermedad avanzada, es difícil conseguir la remisión de la enfermedad incluso combinando varias de las terapias mencionadas. De hecho en el momento actual la supervivencia a los cinco años en pacientes con TNE avanzados es de alrededor de un 50 por 100, lo que supone una alta tasa de mortalidad que traduce las limitaciones de los tratamientos existentes (34).

En respuesta a esta necesidad de una terapéutica efectiva en este tipo de pacientes, se ha incrementado, durante los últimos años, el interés por el desarrollo de nuevos compuestos que actúen sobre diferentes dianas moleculares de los TNE (tabla 2) y se han comenzado a utilizar en el ámbito de la investigación inhibidores de las quinasas, anticuerpos monoclonales, inhibidores de mTOR y otros fármacos (35). La mayoría de los compuestos que se mencionan en la tabla 2 se encuentran en fases precoces de la investigación clínica y algunos otros, como los inhibidores de mTOR, han alcanzado la fase III de desarrollo. En el momento actual, por tanto, los inhibidores de mTOR constituyen una nueva opción terapéutica en el manejo de unos tumores para los que hasta ahora no existe un tratamiento definitivo.

TABLA 2. *Tratamientos dirigidos a dianas moleculares en tumores neuroendocrinos*

Anticuerpos monoclonales dirigidos a VEGF
Bevacizumab
Inhibidores de mTOR
Everolimus (RAD001)
Temozolomida
Inhibidores de la quinasa de tirosina VEGF
Sunitinib
Vatalanib
Sorafenib
Inhibidores de PDGFR
Imatinib
Inhibidores de EGFR
Gefitinib
Otros
Bortezomib

Abreviaturas: VEGF, factor de crecimiento endotelial vascular; PDGFR, receptor del factor de crecimiento derivado de las plaquetas; EGFR, receptor del factor de crecimiento epidérmico.

Inhibidores de mTOR

La actividad de mTOR desempeña un papel destacable en el desarrollo y progresión de muchos tumores malignos. Por esta razón su inhibición farmacológica constituye una importante área de desarrollo de la terapia antitumoral y su aplicación en

los pacientes con TNE puede resultar esperanzadora y suponer un avance terapéutico en un campo en el que las terapias existentes tienen grandes limitaciones. Aspectos importantes en la investigación en este campo son averiguar, por un lado, el grado de participación de la cascada de mTOR y señales intracelulares relacionadas, en los diferentes TNE y, por otro, desarrollar marcadores que identifiquen a los pacientes con probabilidad de beneficiarse de la inhibición de mTOR. Otro aspecto destacable es determinar qué tipo de TNE puede beneficiarse de una monoterapia con inhibidores de mTOR y cuáles son susceptibles de tratamiento con mTOR combinado con otros agentes, tales como agentes lesivos para el DNA, hormonas, inhibidores de oncogenes o inhibidores de los factores de crecimiento.

BIOLOGÍA MOLECULAR DE LOS TUMORES NEUROENDOCRINOS Y SU RELACIÓN CON LA VÍA mTOR

Cambios moleculares en relación con la vía mTOR

Existen distintos datos procedentes de investigaciones básicas recientes que demuestran que la inhibición de la vía mTOR puede resultar de utilidad terapéutica en pacientes con TNE. En primer lugar, las vías de señalización procedente de factores de crecimiento podría estar implicada en la progresión de algunos de estos tumores. En efecto, con frecuencia se ha descrito un aumento de señales procedentes tanto del factor de crecimiento epidérmico (EGF) como del factor de crecimiento insulinoide tipo 1 (IGF 1) en TNE (36-38). También se piensa que la secreción de insulina está implicada en la activación autocrina de la proteína mTOR en tumores insulares pancreáticos (39). Otros estudios han mostrado que los carcinomas de células insulares pancreáticas se asocian con una pérdida de TSC2 en el cromosoma 6 (40-42). La inactivación de la proteína TSC2 conduciría a una activación de la vía mTOR por pérdida de la inhibición que el complejo de la esclerosis tuberosa ejerce sobre esta vía. Por otro lado, algunos autores han demostrado una pérdida de función del gen NF1. Este gen codifica una proteína denominada neurofibromina que parece comportarse como un regulador negativo de la vía de transducción de señales del Ras. Las mutaciones de este gen producen la neurofibromatosis tipo 1 o enfermedad de von Recklinghausen y se han asociado también a leucemia mielomonocítica juvenil. El supresor tumoral NF1 regula tanto TSC2 como mTOR (43).

También son llamativos los datos existentes sobre la relación entre la pérdida de la proteína VHL y la génesis de TNE. Aproximadamente el 70 por 100 de los pacientes con enfermedad de von Hippel-Lindau, que heredan una delección germinal del gen VHL, presentan compromiso pancreático. De ellos, un 12 a 17 por 100 desarrollan TNE pancreáticos (44, 45). También es conocido que tanto en tumores insulares pancreáticos como en carcinoides se observan pérdidas esporádicas de los loci VHL (46). Otros investigadores han descrito recientemente en tumores insulares pancreáticos la pérdida del sitio 10q, donde se encuentra el gen PTEN.

La activación de mTOR incrementa la secreción de factores de crecimiento angiogénicos, aumenta el aporte de nutrientes a través de la formación de vasos sanguíneos, incrementa la captación de estos nutrientes y favorece la disponibilidad de los nutrientes para proporcionar energía y elementos necesarios para el crecimiento y proliferación de las células tumorales. Datos recientes han mostrado que los TNE son

tumores altamente vasculares (47) y que la expresión de VEGF se observa hasta en un 80 por 100 de los TNE gastrointestinales y pancreáticos (47, 48).

Un estudio inmunohistoquímico reciente ha mostrado que la mayoría de los insulinomas y los TNE productores de serotonina expresan mTOR y otras quinasas como CREB y PKB. Además, el tratamiento con everolimus (RAD001), un inhibidor de mTOR, indujo una disminución de la fosforilación de mTOR, así como la detención del crecimiento en insulinomas y en células productoras de serotonina de TNE. En el análisis del ciclo celular, la inhibición del crecimiento correspondió a un descenso de fase S y un aumento de fase G0/G1 (49).

Mecanismos de acción antitumoral de los inhibidores de mTOR

La proteína mTOR es un mediador intracelular que funciona regulando vías celulares que son afectadas por otras dianas terapéuticas. Por lo tanto, su inhibición puede ofrecer una estrategia única y complementaria de otros tratamiento empleados en pacientes con TNE. En la tabla 3 se resumen los mecanismos a través de los cuales la vía mTOR participa en la patogénesis de los TNE. La inhibición de mTOR disminuye la proliferación inducida por IGF-1 en células de tumores carcinoides. En modelos murinos de angiogénesis, la inhibición de mTOR en combinación con un inhibidor de quinasa de tirosina y del receptor de VEGF actuó sinérgicamente en la disminución de la angiogénesis (50). En un modelo de cáncer de próstata *in vitro* la inhibición de mTOR en combinación con un inhibidor de IGF demostró una supresión mantenida de la vía del mTOR y del crecimiento celular. Los inhibidores de mTOR evitan la síntesis de proteínas que provocan progresión tumoral a través de un estímulo del crecimiento y proliferación celulares y la angiogénesis (46). El tratamiento de los TNE con inhibidores de mTOR produce una inhibición del crecimiento celular dependiente de la dosis (34). En resumen, el mecanismo de la acción antitumoral de los inhibidores de mTOR en TNE se basa en tres elementos fundamentales: reducción de la respuesta tumoral a los nutrientes y a los factores de crecimiento, detención del ciclo celular y acción antiangiogénica a través de la vía del VEGF.

TABLA 3. Participación de la vía mTOR en la patogénesis de los tumores neuroendocrinos

Crecimiento y proliferación celulares en muchos tipos de TNE
Aporte de nutrientes a células tumorales
Regulación de la captación de nutrientes, metabolismo celular y angiogénesis
Activación de mTOR por mutaciones asociadas a TNE
Defectos en la señalización de factores de crecimiento y en las vías PI3K-AKT en TNE

EXPERIENCIA CLINICA CON INHIBIDORES DE mTOR EN TUMORES NEUROENDOCRINOS

Hasta el momento actual se han evaluado en clínica dos inhibidores de mTOR en pacientes con TNE: temsirolimus (CCI-779) y everolimus. La eficacia y seguridad del temsirolimus (CCI-779) se analizó en un estudio de fase II llevado a cabo en 37 pacientes con TNE avanzados y progresivos. La dosis empleada fue 25 mg

semanales por vía intravenosa. La tasa de respuesta obtenida fue modesta, de un 5,6 por 100, el tiempo medio hasta la progresión fue de seis meses y la supervivencia global a un año fue de un 71,5 por 100. Los efectos adversos más frecuentes relacionados con el uso del temsirolimus fueron astenia, hiperglucemia, erupción y descamación cutánea. Los estudios *in vitro* mostraron que el temsirolimus inhibió la fosforilación de S6 y que unos mayores niveles basales de mTOR fosforilada predecían una mejor respuesta (51).

El everolimus es un inhibidor oral de mTOR que presenta una amplia actividad antitumoral en modelos animales. Los estudios farmacodinámicos de fase I han mostrado que una dosis diaria de 5 a 10 mg provoca una inhibición continua de la actividad de mTOR (52, 53). En los estudios de fase II desarrollados en pacientes con tumores neuroendocrinos de bajo o intermedio grado de malignidad el everolimus, a dosis de 5 a 10 mg/día fue bien tolerado y mostró una actividad antitumoral prometedora (54). Por otra parte, el octreotide LAR, un análogo de somatostatina de acción prolongada, es en el momento actual un tratamiento estándar para el control de los síntomas en pacientes con tumores neuroendocrinos, pero recientemente se ha demostrado su actividad antitumoral (55). La combinación de everolimus y octreotide LAR puede actuar de forma sinérgica (figura 5) en la inhibición del crecimiento celular y la actividad secretora de los tumores neuroendocrinos (56).

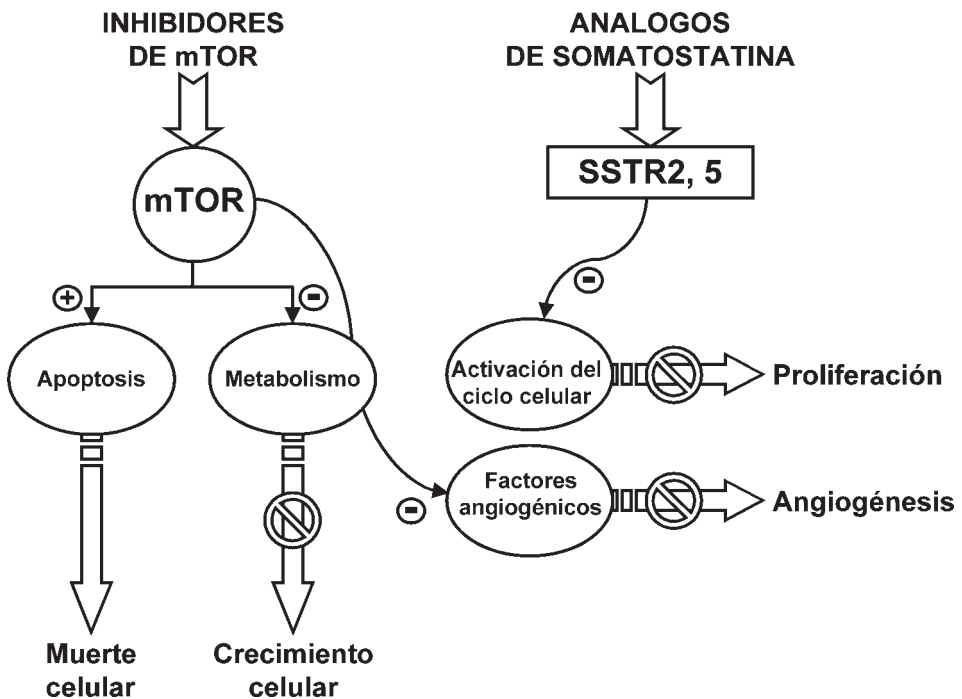


Figura 5. Acción sinérgica de los inhibidores de mTOR y los análogos de somatostatina en células de tumores neuroendocrinos. Cada agente utiliza diferentes dianas moleculares, lo que conduce a una disminución de la viabilidad de la célula tumoral.

En 60 pacientes con carcinoma neuroendocrino de bajo grado de malignidad se estudió la eficacia de la combinación de everolimus (5 a 10 mg/día) con octreoti-

de LAR (30 mg cada 28 días). El tratamiento se siguió de una respuesta parcial en el 17 por 100 de los pacientes, una estabilización de la enfermedad en el 75 por 100 y una progresión de la enfermedad en el 8 por 100. Las tasas de respuesta en pacientes tratados con las dosis diarias de 5 y 10 mg fueron, respectivamente, de 13 y 20 por 100. La tasa de supervivencia libre de progresión a las 24 semanas fue del 86 por 100, mientras que la mediana de supervivencia libre de progresión fue de 59 semanas. De los 24 pacientes que presentaron elevación de cromogranina A al comienzo del estudio un 56 por 100 experimentó una reducción superior al 50 por 100 (57).

En un grupo de cuatro pacientes con insulinoma maligno e hipoglucemia refractaria el tratamiento con 10 mg diarios de everolimus indujo una resolución completa de los síntomas de hipoglucemia en tres pacientes y una reducción de los requerimientos de glucosa en otro paciente. En los cuatro pacientes se produjo una disminución de la concentración de insulina y del índice insulina/glucosa. En lo que se refiere al tamaño tumoral, dos de los pacientes experimentaron una respuesta parcial de la enfermedad y otros dos estabilización (58).

Un reciente estudio ha evaluado los efectos del tratamiento con everolimus (115 pacientes) y la combinación de everolimus y octreotide LAR (45 pacientes) en pacientes con tumores neuroendocrinos pancreáticos que experimentaron progresión tras quimioterapia (59). La evolución tumoral se analizó mediante tomografía computarizada (CT) trifásica o resonancia magnética. Los resultados mostraron que en los pacientes tratados con everolimus, se produjo una respuesta parcial en el 7,8 por 100, una estabilización de la enfermedad en un 68,7 por 100, lo que supone un beneficio clínico en un 76,5 por 100. En los pacientes tratados con combinación de everolimus más octreotide LAR, la respuesta parcial se apreció en el 4,4 por 100, la estabilización de la enfermedad en un 77,8 por 100, con un beneficio clínico global de un 82,2 por 100. La mediana de supervivencia libre de progresión fue de 9,3 meses para el tratamiento con everolimus y de 12,9 meses para el tratamiento combinado. Además, de los pacientes con cromogranina A basalmente elevada, el 49,3 por 100 de los tratados con everolimus y el 56 por 100 de los tratados con los dos fármacos experimentaron una disminución superior al 50 por 100 en sus valores de cromogranina A o bien una normalización de este marcador tumoral neuroendocrino.

Los efectos adversos más frecuentes del everolimus fueron estomatitis, erupción, diarrea, astenia, náusea, cefalea, aftas bucales, anemia, pérdida de peso y vómito (59). Los efectos adversos de grado 3/4 con sospecha de relación con el fármaco en estudio incluyeron astenia y trombocitopenia. Este estudio demuestra la eficacia del everolimus, tanto en monoterapia, como en combinación con octreotide LAR, en tumores neuroendocrinos pancreáticos refractarios a quimioterapia.

SÍNTESIS Y CONCLUSIONES

La proteína mTOR es una proteína intracelular que desempeña un papel central en el control del crecimiento celular, la síntesis de proteínas y la autofagia. Participa en las vías de señalización intracelular de algunos receptores con actividad quinasa de tirosina, tales como el IGF y el VEGF. Los datos procedentes de pacientes con mutaciones en los genes TSC2, NF1 y VHL han permitido implicar la vía de mTOR en los tumores neuroendocrinos. Por otra parte, también se han observado anomalías

de la vía mTOR en pacientes con TNE esporádicos y algunos carcinomas insulares pancreáticos muestran pérdida de actividad de PTEN, un regulador de mTOR. Los avances en el conocimiento de la biología molecular de los TNE ha permitido el inicio del empleo de tratamientos dirigidos a dianas moleculares específicas en pacientes con este heterogéneo grupo de tumores. Los estudios clínicos de fase II realizados con inhibidores mTOR como everolimus y temsirolimus han demostrado la eficacia de estos agentes en pacientes con TNE de bajo grado de malignidad. Estos agentes son bien tolerados en general y entre los efectos adversos más frecuentes se encuentra la estomatitis ligera. En el momento actual se están desarrollando ensayos clínicos de fase III a gran escala con estos agentes.

REFERENCIAS

1. Kahan, B. D.; Gibbons, S.; Tejpal, N.; Stepkowski, S. M., Chou, T. C.: «Synergistic interactions of cyclosporine and rapamycin to inhibit immune performances of normal human peripheral blood lymphocytes *in vitro*». *Transplantation* 1991; 51: 232-239.
2. Chiu, M. I.; Katz, H., Berlin, V.: «RAP1, a mammalian homolog of yeast Tor, interacts with the FKBP12/rapamycin complex». *Proc Natl Acad Sci, USA* 1994; 91: 12574-12578.
3. Sabers, C. J.; Martin, M. M.; Brunn, G. J.; Williams, J. M.; Dumont, F. J.; Wiederrecht, G., Abraham, R. T.: «Isolation of a protein target of the FKBP12-rapamycin complex in mammalian cells». *J Biol Chem* 1995; 270: 815-822.
4. Gangloff, Y. G.; Mueller, M.; Dann, S. G.; Svoboda, P.; Sticker, M.; Spetz, J. F.; Um, S. H.; Brown, E. J.; Cereghini, S.; Thomas, G., Kozma, S. C.: «Disruption of the mouse mTOR gene leads to early postimplantation lethality and prohibits embryonic stem cell development». *Mol Cell Biol* 2004; 24: 9508-9516.
5. Crespo, J. L., Hall, M. N.: «Elucidating TOR signalin and rapamycin action: lessons from *Saccharomyces cerevisiae*». *Microbiol Mol Biol Rev* 2002; 66: 579-591.
6. Dancey, J. E.: «Inhibitors of the mammalian target of rapamycin». *Expert Opin Investig Drugs* 2005; 14: 313-328.
7. Bjornsti, M. A., Houghton, P. J.: «The TOR pathway: a target for cancer therapy». *Nat Rev Cancer* 2004; 4: 335-348.
8. Slamon, D. J.; Leyland-Jones, B.; Shak, S.; Fuchs, H.; Paton, V.; Bajamonde, A.; Fleming, T.; Eiermann, W.; Wolter, J.; Pegram, M.; Baselga, J., Norton, L.: «Use of chemotherapy plus a monoclonal antibody against HER2 for metastatic breast cancer that overexpresses HER2». *N Engl J Med* 2001; 344: 783-792.
9. Kris, M. G.; Natale, R. B.; Herbst, R. S.; Lynch, T. J., Jr.; Prager, D.; Belani, C. P.; Schiller, J. H.; Kelly, K.; Spiridonidis, H.; Sandler, A.; Albain, K. S.; Cella, D.; Wolf, M. K.; Averbuch, S. D.; Ochs, J. J., Kay, A. C.: «Efficacy of gefitinib, an inhibitor of the epidermal growth factor receptor tyrosine kinase, in symptomatic patients with non-small cell lung cancer: a randomized trial». *JAMA* 2003; 290: 2149-2158.
10. Mita, M. M.; Mita, A., Rowinsky, E. K.: «Mammalian target of rapamycin: a new molecular target for breast cancer». *Clin Breast Cancer* 2003; 4: 126-137.
11. Bos, J. L.: «RAS oncogenes in human cancer: a review». *Cancer Res* 1989; 49: 4682-4689.
12. O'Brien, S. G.; Guilhot, F.; Larson, R. A.; Gathmann, I.; Baccarani, M.; Cervantes, F.; Cornelissen, J. J.; Fischer, T.; Hochhaus, A.; Hughes, T.; Lechner, K.;

- Nielsen, J. L.; Rousselot, P.; Reiffers, J.; Saglio, G.; Shepherd, J.; Simonsson, B.; Gratwohl, A.; Goldman, J. M.; Kantarjian, H.; Taylor, K.; Verhoef, G.; Bolton, A. E.; Capdeville, R.; Druker, B. J.; IRIS Investigators: «Imatinib compared with interferon and low-dose cytarabine for newly diagnosed chronic-phase chronic myeloid leukemia». *N Engl J Med* 2003; 348: 994-1004.
13. Samuels, Y.; Wang, Z.; Bardelli, A.; Silliman, N.; Ptak, J.; Szabo, S.; Yan, H.; Gazdar, A.; Powell, S. M.; Riggins, G. J.; Willson, J. K.; Markowitz, S.; Kinzler, K. W.; Vogelstein, B.; Velculescu, V. E.: «High frequency of mutations of the PIK3CA gene in human cancers». *Science* 2004; 304: 554.
 14. Philp, A. J.; Campbell, I. G.; Leet, C.; Vincan, E.; Rockman, S. P.; Whitehead, R. H.; Thomas, R. J., Phillips, W. A.: «The phosphatidylinositol 3'-kinase p85alpha gene is an oncogene in human ovarian and colon tumors». *Cancer Res* 2001; 61: 7426-7429.
 15. Nicholson, K. M., Anderson, N. G.: «The protein kinase B/AKT signalling pathway in human malignancy». *Cell Signal* 2002; 14: 381-395.
 16. Noh, W. C.; Mondesire, W. H.; Peng, J.; Jian, W.; Zhang, H.; Dong, J.; Mills, G. B.; Hung, M. C., Meric-Bernstam, F.: «Determinants of rapamycin sensitivity in breast cancer cells». *Clin Cancer Res* 2004; 10: 1013-1023.
 17. Majumder, P. K.; Febbo, P. G.; Bikoff, R.; Berger, R.; Xue, Q.; McMahon, L. M.; Manola, J.; Brugarolas, J.; McDonnell, T. J.; Golub, T. R.; Loda, M.; Lane, H. A., Sellers, W. R.: «mTOR inhibition reverses AKT-dependent prostate intraepithelial neoplasia through regulation of apoptotic and HIF-1-dependent pathways». *Nat Med* 2004; 10: 594-601.
 18. Beuvink, I.; Boulay, A.; Fumagalli, S.; Zilbermann, F.; Ruetz, S.; O'Reilly, T.; Natt, F.; Hall, J.; Lane, H. A., Thomas, G.: «The mTOR inhibitor RAD001 sensitizes tumor cells to DNA-damage induced apoptosis through inhibition of p21 translation». *Cell* 2005; 120: 747-759.
 19. Boulay, A.; Zumstein-Mecker, S.; Stephan, C.; Beuvink, I.; Zilbermann, F.; Haller, R.; Tobler, S.; Heusser, C.; O'Reilly, T.; Stolz, B.; Marti, A.; Thomas, G., Lane, H. A.: «Antitumor efficacy of intermittent treatment schedules with the rapamycin derivative RAD001 correlates with prolonged inactivation of ribosomal protein S6 kinase 1 in peripheral blood mononuclear cells». *Cancer Res* 2004; 64: 252-261.
 20. De Boer, C. J.; Schuurin, E.; Dreef, E.; Peters, G.; Bartek, J.; Kluin, P. M., van Krieken, J. H.: «Cyclin D1 protein analysis in the diagnosis of mantle cell lymphoma». *Blood* 1995; 86: 2715-2723.
 21. DeGraffenried, L. A.; Friedrichs, W. E.; Russell, D. H.; Donzis, E. J.; Middleton, A. K.; Silva, J. M.; Roth, R. A., Hidalgo, M.: «Inhibition of mTOR activity restores tamoxifen response in breast cancer cells with aberrant AKT activity». *Clin Cancer Res* 2004; 10: 8059-8067.
 22. Powis, G., Kirkpatrick, L.: «Hypoxia inducible factor-1 (alpha) as a cancer drug target». *Mol Cancer Ther* 2004; 3: 647-654.
 23. Vaupel, P.: «The role of hypoxia-inducible factors in tumor progression». *Oncologist* 2004; 9 (suppl 5): 10-17.
 24. El-Deiry, W. S.: «The role of p53 in chemosensitivity and radiosensitivity». *Oncogene* 2003; 22: 7486-7495.
 25. Levine, A. J.: «P53, the cellular gatekeeper for growth and division». *Cell* 1997; 88: 323-331.
 26. Osaki, M.; Kase, S.; Adachi, K.; Takeda, A.; Hashimoto, K., Ito, H.: «Inhibition of the PI3K-AKT signaling pathway enhances the sensitivity of Fas-mediated apoptosis in human gastric carcinoma cell line, MKN-45». *J Cancer Res Clin Oncol* 2004; 130: 8-14.

27. Kaltsas, G. A.; Besser, G. M., Grossman, A. B.: «The diagnosis and medical management of advanced neuroendocrine tumors». *Endocr Rev.* 2004; 25: 458-511.
28. Modlin, I. M.; Oberg, K.; Chung, D. C.; Jensen, R. T.; de Herder, W. W.; Thakker, R. V., *et al.*: «Gastroenteropancreatic neuroendocrine tumours». *Lancet Oncol* 2008; 9: 61-72.
29. Hemminki, K., Li, X.: «Incidente trenes and risk factors of carcinoid tumors: a nationwide epidemiologic study from Sweden». *Cancer* 2001; 92: 2204-2210.
30. Hemminki, K., Li, X.: «Familial carcinoid tumors and subsequent cancers: a nation-wide epidemiologic study from Sweden». *Cancer* 2001; 94: 444-448.
31. Modlin, I. M.; Lye, K. D., Kidd, M.: «A 5-decade análisis of 13,715 carcinoid tumors». *Cancer* 2003; 97: 934-959.
32. Solcia, E.; Kloppel, G., Sobin, L. H.: «Histological typing of endocrine tumours». *WHO international histological classification of tumours*, 2nd ed. Berlin: Springer, 2000.
33. Rindi, G.; Capella, C., Solcia, E.: «Introduction to a revised clinicopathological classification of neuroendocrine tumors of the gastroenteropancreatic tract». *Q J Nucl Med.* 2000; 44: 13-21.
34. Zitmann, K.; De Toni, E. N.; Brand, S.; Göke, B.; Meinecke, J.; Spöttl, G.; Meyer, H. H., Auernhammer, C. J.: «The novel mTOR inhibitor RAD001 (everolimus) induces antiproliferative effects in human pancreatic neuroendocrine tumor cells». *Neuroendocrinology* 2007; 85: 54-60.
35. Yao, J. C.: «Neuroendocrine tumors. Molecular targeted therapy for carcinoid and islet-cell carcinomas». *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 2007; 21: 163-172.
36. Papouchado, B.; Erickson, L. A.; Rohlinger, A. L.; Hobday, T. J.; Erlichman, C.; Ames, M. M., Lloyd, R. V.: «Epidermal growth factor receptor and activated epidermal growth factor receptor expression in gastrointestinal carcinoids and pancreatic endocrine carcinomas». *Mod Pathol* 2005; 18: 1329-1335.
37. Von Wichert, G.; Jehle, P. M.; Hoeflich, A.; Koschnick, S.; Dralle, H.; Wolf, E.; Wiedenmann, B.; Boehm, B. O.; Adler, G., Seufferlein, T.: «Insulin-like growth factor-I is an autocrine regulator of chromogranin A secretion and growth in human neuroendocrine tumor cells». *Cancer Res* 2000; 60: 4573-4581.
38. Van Gompel, J. J., Chen, H.: «Insulin-like growth factor 1 signaling in human gastrointestinal carcinoid tumor cells». *Surgery* 2004; 136: 1297-1302.
39. McDaniel, M. L.; Marshall, C. A.; Pappan, K. L., Kwon, G.: «Metabolic and autocrine regulation of the mammalian target of rapamycin by pancreatic beta-cells». *Diabetes* 2002; 51: 2877-2885.
40. Francalanci, P.; Diomedei-Camassei, F.; Purificato, C.; Santorelli, F. M.; Giannotti, A.; Dominici, C.; Insera, A., Boldrini, R.: «Malignant pancreatic endocrine tumor in a child with tuberous sclerosis». *Am J Surg Pathol* 2003; 27: 1386-1389.
41. Merritt, J. L., 2nd, Davis, D. M.; Pittelkow, M. R., Babovic-Vuksanovic, D.: «Extensive acrochordons and pancreatic islet-cell tumors in tuberous sclerosis associated with TSC2 mutations». *Am J Med Genet A* 2006; 140: 1669-1672.
42. Verhoef, S.; van Diemen-Steenvoorde, R.; Akkersdijk, W. L.; Bax, N. M.; Ariyurek, Y.; Hermans, C. J.; van Nieuwenhuizen, O.; Nikkels, P. G.; Lindhout, D.; Halley, D. J.; Lips, K., van den Ouweland, A. M.: «Malignant pancreatic tumour within the spectrum of tuberous sclerosis complex in childhood». *Eur J Pediatr* 1999; 158: 284-287.
43. Johannessen, C. M.; Reczek, E. E.; James, M. F.; Brems, H.; Legius, E.,

- Cichowski, K.: «The NF1 tumor suppressor critically regulates TSC2 and mTOR». *Proc Natl Acad Sci USA* 2005; 102: 8573-8578.
44. Hammel, P. R.; Vilgrain, V.; Terris, B.; Penfornis, A.; Sauvanet, A.; Cooreas, J. M.; Chauveau, D.; Balian, A.; Beigelman, C.; O'Toole, D.; Bernades, P.; Ruzzniewski, P., Richard, S.: «Pancreatic involvement in von Hippel-Lindau disease. The Groupe Francophone d'Etude de la Maladie de von Hippel-Lindau». *Gastroenterology* 2000; 119: 1087-1095.
 45. Libutti, S. K.; Choyke, P. L.; Bartlett, D. L.; Vargas, H.; Walther, M.; Lubensky, I.; Glenn, G.; Linehan, W. M., Alexander, H. R.: «Pancreatic neuroendocrine tumors associated with von Hippel Lindau disease: diagnostic and management recommendations». *Surgery* 1998; 124: 1153-1159.
 46. Duran, I.; Salazar, R.; Casanovas, O.; Arrazubi, V.; Vilar, E.; Siu, L. L.; Yao, J., Tabernero, J.: «New drug development in digestive neuroendocrine tumors». *Ann Oncol* 2007; 18: 1307-1313.
 47. Zhang, J.; Jia, Z.; Li, Q.; Wang, L.; Rashid, A.; Zhu, Z.; Evans, D. B.; Vauthey, J. N.; Xie, K., Yao, J. C.: «Elevated expression of vascular endothelial growth factor correlates with increased angiogenesis and decreased progression-free survival among patients with low-grade neuroendocrine tumors». *Cancer* 2007; 109: 1478-1486.
 48. Terris, B.; Scoazec, J. Y.; Rubbia, L.; Bregeaud, L.; Pepper, M. S.; Ruzzniewski, P., Belghiti, J.; Fléjou, J., Degott, C.: «Expression of vascular endothelial growth factor in digestive neuroendocrine tumours». *Histopathology* 1998; 32: 133-138.
 49. Hörsch, D.; Tielke, S., Schrader, J.: «Expression and activation of mTOR in neuroendocrine tumors. Effects of mTOR inhibition by RAD001 upon growth, cell cycle regulation and signalling in neuroendocrine cell lines». *J Clin Oncol* 2007; 25 (suppl): 582s. Abstract 10570.
 50. O'Reilly, K. E.; Rojo, F.; She, Q. B.; Solit, D.; Mills, G. B.; Smith, D.; Lane, H.; Hofmann, F.; Hicklin, D. J.; Ludwig, D. L.; Baselga, J., Rosen, N.: «mTOR inhibition induces upstream receptor tyrosine kinase signaling and activates Akt». *Cancer Res.* 2006, 66: 1500-1508.
 51. Duran, I.; Kortmansky, J.; Singh, D.; Hirte, H.; Kocha, W.; Goss, G.; Le, L.; Oza, A.; Nicklee, T.; Ho, J.; Birle, D.; Pond, G. R.; Arboine, D.; Dancey, J.; Aviel-Ronen, S.; Tsao, M. S.; Hedly, D., Siu, L. L.: «A phase II clinical and pharmacodynamic study of temsirolimus in advanced neuroendocrine carcinomas». *Br J Cancer* 2006; 95: 1148-1154.
 52. Tabernero, J.; Rojo, F.; Calvo, E.; Burris, H.; Judson, I.; Hazell, K.; Martinelli, E.; Ramon y Cajal, S.; Jones, S.; Vidal, L.; Shand, N.; Macarulla, T.; Ramos, F. J.; Dimitrijevic, S.; Zoellner, U.; Tang, P.; Stumm, M.; Lane, H. A.; Lebwohl, D., Baselga, J.: «Dose- and schedule-dependent inhibition of the mammalian target of rapamycin pathway with everolimus: a phase I tumor pharmacodynamic study in patients with advanced solid tumors». *J Clin Oncol* 2008; 26: 1603-1610.
 53. Tanaka, C.; O'Reilly, T.; Kovarik, J. M.; Shand, N.; Hazell, K.; Judson, I.; Raymond, E.; Zumstein-Mecker, S.; Stephan, C.; Boulay, A.; Hattenberger, M.; Thomas, G., Lane, H. A.: «Identifying optimal biologic doses of everolimus (RAD001) in patients with cancer based on the modeling of preclinical and clinical pharmacokinetic and pharmacodynamic data». *J Clin Oncol* 2008; 26: 1596-1602.
 54. Yao, J. C.; Phan, A. T.; Chang, D. Z.; Wolff, R. A.; Hess, K.; Gupta, S.; Jacobs, C.; Mares, J. E.; Landgraf, A. N.; Rashid, A., Meric-Bernstam, F.: «Efficacy of RAD001 (everolimus) and octreotide LAR in advanced low- to intermediate-grade neuroendocrine tumors:

- results of a phase II study». *J Clin Oncol* 2008; 26: 4311-4318.
55. Arnold, R.; Rinke, A.; Müller, H. H.; Schade-Brittinger, C.; Klose, K. J.; Barth, P., PROMID Study Group: «Placebo-controlled, double-blind, prospective, randomized study on the effect of octreotide LAR in the control of tumor growth in patients with metastatic neuroendocrine midgut tumors: a report from the PROMID Study Group». *ASCO-Gastrointestinal Cancers Symposium*, San Francisco, CA, January 15-17, 2009.
 56. Charland, S.; Boucher, M. J.; Houde, M., Rivard, N.: «Somatostatin inhibits Akt phosphorylation and cell cycle entry, but not p42/p44 mitogen-activated protein (MAP) kinase activation in normal and tumoral pancreatic acinar cells». *Endocrinology* 2001; 142: 121-128.
 57. Yao, J. C.; Phan, A.; Chang, D. Z.; Wolff, R. A.; Jacobs, C.; Mares, J. E.; Gupta, S.; Meric-Bernstam, F., Rashid, A.: «Phase II study of RAD001 (everolimus) and depot octreotide (sandostatin LAR) in advanced low grade neuroendocrine carcinoma (LGNET)». *J Clin Oncol* 2007; 25 (suppl): 198s. Abstract 4503.
 58. Jacobs, C.; Kulke, M.; Bergsland, E. K., Yao, J. C.: *mTOR inhibition with RAD001 among patients with refractory hypoglycemia due to advanced malignant insulinomas*. North American Neuroendocrine Tumor Society (NANETS), 2008.
 59. Yao, J.; Lombard-Bohas, C.; Baudin, E.; Kvols, L.; Rougier, P., Ruzniewski, P.: *A phase II trial of daily oral RAD001 (everolimus) in patients with metastatic pancreatic neuroendocrine tumors after failure of cytotoxic chemotherapy (RADIANT-1)*. ASCO-Gastrointestinal Cancers Symposium, San Francisco, CA, January 15-17, 2009.

ABREVIATURAS

- 4E-BP1: proteína ligadora 1 del factor 4E de iniciación de la traducción eucariota. La proteína interactúa directamente con el factor de iniciación 4E e inhibe la traducción.
- AKT: quinasa de proteínas reclutada hacia la membrana celular a través de la interacción con fosfolípidos. Es activada por la quinasa 1 dependiente de 3-fosfoinositato.
- AMP: monofosfato de adenosina.
- AMPK: quinasa de proteína activada por 5'AMP, conjunto de tres proteínas que funcionan como una enzima y cuya activación conduce a estimulación de la oxidación hepática de ácidos grasos, estímulo de cetogénesis, inhibición de síntesis de colesterol y triglicéridos y modulación de la secreción de insulina.
- AP-1: proteína activadora 1, factor de transcripción de naturaleza heterodimérica, compuesto por proteínas de las familias c-Fos, c-Jun y otras. Regula la expresión génica en respuesta a diversos estímulos, incluyendo citoquinas, factores de crecimiento, estrés e infecciones. El complejo AP-1 se ha implicado en la transformación y progresión del cáncer.
- ASK1: quinasa reguladora de señal de apoptosis.
- ATP: adenosina trifosfato.
- Bcl-2: familia de proteínas que regulan los procesos de permeabilización mitocondrial y apoptosis celular.
- BCR-Abl: el gen BCR-Abl resulta de la fusión de una parte del gen *BCR* (cromosoma 22) y el gen *Abl* (cromosoma 9). Codifica la proteína p210 o p185, con actividad quinasa de tirosina.

- c-Abl: quinasa de tiroxina no receptorial ligada a la señalización de factores de crecimiento. Se ha implicado en la regulación de la señalización en múltiples compartimentos subcelulares.
- cAMP: monofosfato de adenosina cíclico.
- CDKs: quinasas dependientes de ciclinas.
- c-Fos: protooncogen que pertenece a la familia de los factores de transcripción. Su transcripción se estimula por muchas señales extracelulares como los factores de crecimiento. Se dimeriza con c-Jun para formar el factor de transcripción AP-1, que regula al alza la transcripción de diversos genes implicados en la proliferación y diferenciación en defensa contra la invasión y daño celular.
- c-Jun: proteína que en combinación con c-Fos forma el factor de transcripción de respuesta temprana AP-1. Se activa a través de una doble fosforilación por la vía JNK.
- CREB: proteína ligadora del elemento regulado por cAMP.
- eEF1A: factor de elongación 1A. Es un factor de traducción citoplásmico implicado en la exportación nuclear de especies de RNA de transferencia en células eucariotas.
- eEF2: factor de elongación 2.
- EGF: factor de crecimiento epidérmico.
- EGFR: receptor del factor de crecimiento epidérmico.
- eIF-4E: factor 4E de iniciación de la traducción en células eucariotas. Está implicado en la unión de los ribosomas con el UNAM para la iniciación de la síntesis de proteínas en las células eucariotas.
- FKBP12: Proteína de 12 kd a la que se une la rapamicina y sus derivados para formar un complejo que reconoce mTOR.
- GTP: guanosina trifosfato.
- GTPasa: familia en enzimas que pueden hidrolizar el GTP. Las GTPasas desempeñan un papel importante en la transducción de señales de los receptores transmembrana al dominio intracelular, en la biosíntesis de proteínas en el ribosoma, en el control y diferenciación durante la división celular, translocación de proteínas en membranas y transporte de vesículas en la célula.
- GβL: regulador positivo de la vía sensible a rapamicina requerido para la interacción sensible a nutrientes entre raptor y mTOR. La proteína GβL se liga al dominio quinasa de mTOR y estabiliza la interacción de raptor con mTOR. Participa en la señalización de S6K1 mediada por nutrientes y factores de crecimiento. La unión de GβL a mTOR estimula la actividad quinasa de mTOR hacia S6K1 y 4E-BP1.
- HER2: receptor 2 del factor de crecimiento epidérmico humano.
- HIF-1α: factor inducible por hipoxia 1α.
- HIF-1β: factor inducible por hipoxia 1β.
- IGF 1: factor de crecimiento insulinoide tipo 1.
- IGF 2: factor de crecimiento insulinoide tipo 2.
- JNK: quinasa N-terminal de c-Jun.
- LKB1: quinasa de treonina/serina localizada proximal a la AMPK y necesaria para la activación de AMPK. Es un supresor tumoral.
- MAPK: quinasa de proteína activada por mitógeno. Pertenece a la cadena de quinasas activadas por Ras. Es una quinasa de proteína específica de serina-treonina que responde a

estímulos extracelulares y regula varias actividades celulares, tales como la expresión génica, mitosis, diferenciación y apoptosis.

- MEK: quinasa de proteínas selectiva de serina-treonina. Pertenece a la cadena de quinasas activadas por Ras. MEK es una quinasa que fosforila la quinasa de proteína activada por mitógeno (MAPK).
- mTOR: diana de la rapamicina de los mamíferos.
- NF1: gen de la neurofibromatosis tipo 1. El producto de este gen funciona como un regulador negativo de la vía del Ras.
- p53: proteína codificada por el gen del mismo nombre en el cromosoma 17. Regula la proteína bcl-2, por lo que está implicada en la apoptosis. En algunos TNE se han encontrado mutaciones de p53.
- PDGF β : factor de crecimiento derivado de las plaquetas β .
- PDGFR: receptor del factor de crecimiento derivado de las plaquetas.
- PI: fosfatidilinositol, fosfolípido componente del lado citoplásmico de la membrana celular. Se compone de glicerol, ácido graso y un alcohol hexahídrico (inositol). Es sustrato de muchas enzimas implicadas en la señalización celular y puede ser fosforilado por las quinasas en los grupos hidroxilo 3, 4 y 5 del anillo del inositol.
- PI3K: quinasa de PI3, quinasa de fosfatidilinositol-3, quinasa de fosfoinositato-3, familia de enzimas capaces de fosforilar el grupo hidroxilo de posición 3 del anillo inositol del fosfatidilinositol. Fosforila lípidos e inicia el reclutamiento de proteínas como AKT y PDK1.
- PI3P: fosfatidilinositol-3-fosfato, fosfolípido de membrana que ayuda a reclutar proteínas hacia la membrana celular. Es el producto de la actividad de la PI3K sobre el PI.
- PKB: quinasa de proteína B.
- PP2A: fosfatasa de proteínas heterotrimérica con diversas funciones celulares.
- PTEN: fosfatasa lipídica que separa grupos fosfatos, revirtiendo los efectos de la PI-3 quinasa. PTEN es un supresor tumoral.
- RAF: quinasa de proteínas selectiva de serina-treonina. La activación del Ras activa la quinasa del RAF. A su vez, la quinasa del RAF fosforila y activa la proteína MEK y MEK fosforila y activa la quinasa de proteína activada por mitógeno (MAPK).
- Raptor: proteína asociada a la regulación de mTOR.
- RAS o Ras: nombre dado a una proteína, el gen que la codifica y la superfamilia de proteínas a la que pertenece. Es una proteína de comunicación de señales entre el interior y el exterior celular. Las mutaciones de Ras y la alteración de las señales puede conducir a crecimiento tumoral. La superfamilia Ras de GTPasas pequeñas incluye las familiar Ras, Rho, Arf, Rab y Ran.
- Rheb: proteína que forma parte de la superfamilia del Ras.
- RNA: ácido ribonucleico.
- S6K1: miembro de la familia de las quinasas de serina/treonina involucrado en la regulación del crecimiento, supervivencia y metabolismo celulares, S6 quinasa 1 es un efector distal de mTOR.
- TGF β factor de crecimiento transformador β .
- TNE: tumor neuroendocrino.
- TOP mRNAs: RNA mensajeros oligopirimidínicos terminales. Codifican proteínas ribosómicas y otros componentes del aparato de traducción y llevan un tramo terminal oligopirimidínico en el extremo 5', necesario para la regulación de su traducción.

- TOR: diana de la rapamicina.
- TSC1(hamartina)/TSC2(tuberina): complejo de la esclerosis tuberosa, actúa de unión entre mTOR y AKT.
- VEGF: factor de crecimiento endotelial vascular, proteína señalizadora implicada en la vasculogénesis y angiogénesis.
- VHL: síndrome de von Hippel-Lindau, hemangioblastomatosis retiniana y cerebelosa, angiomatosis familiar cerebeloretiniana, trastorno autosómico dominante caracterizado por angiomas retinianos, hemangioblastomas cerebelosos, y tumores en cerebro, médula espinal y en otros órganos.