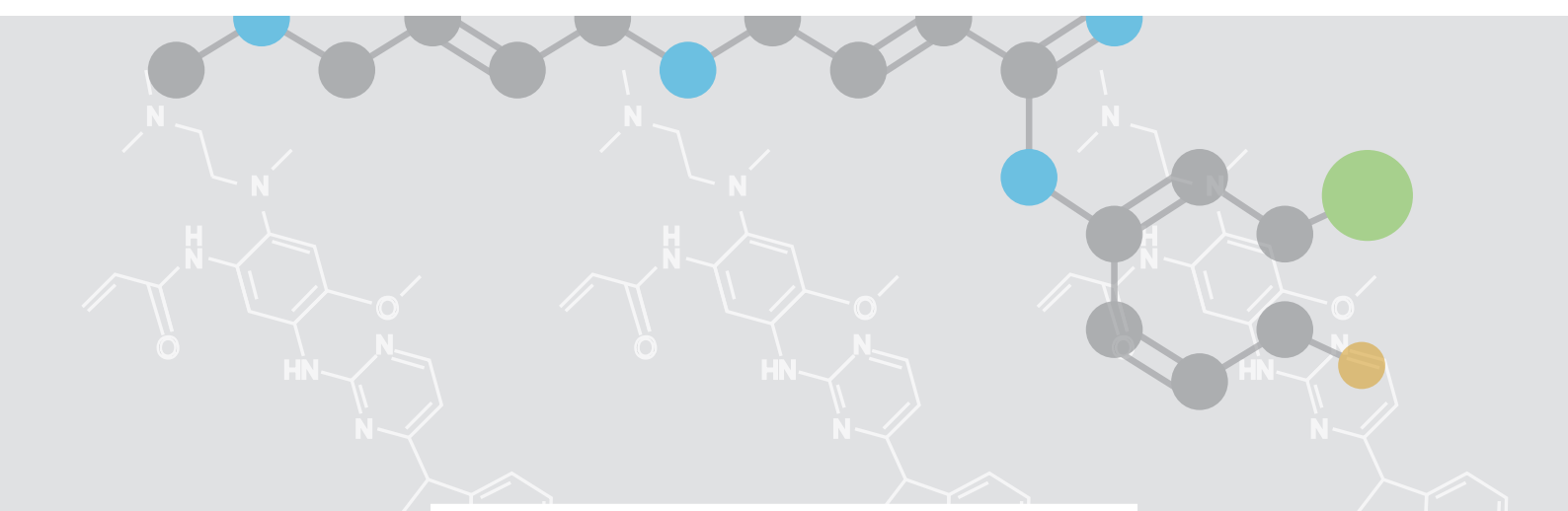




DESARROLLO Y EVOLUCIÓN DE LOS INHIBIDORES DEL EGFR



Trabajo Final de Grado
Carlos Sánchez Rodríguez

5º Curso, Grado en Farmacia

Facultad de Farmacia

Universidad de Sevilla





**Trabajo de Fin de Grado
Grado en Farmacia
Facultad de Farmacia
Universidad de Sevilla**

Título: Desarrollo y Evolución de los Inhibidores del EGFR

Tipología: Revisión Bibliográfica

Nombre del alumno: Carlos Sánchez Rodríguez

**Departamento y Área: Departamento de Química Farmacéutica,
Área de Química Orgánica**

Nombre del tutor: José Manuel Vega Pérez

**Presentado en la Facultad de Farmacia de la Universidad de Sevilla
el día 13 de junio de 2019.**

RESUMEN

Los inhibidores del receptor del factor de crecimiento epidérmico humano (EGFR) son un grupo de fármacos antineoplásicos que juegan un papel esencial en el tratamiento de ciertos tipos muy comunes de cáncer, como puede ser el cáncer de pulmón o el cáncer de mama. Su mecanismo de acción se basa en la inhibición de la actividad de los diferentes miembros de la familia EGFR, también llamada familia ErbB. Los inhibidores del EGFR comenzaron a desarrollarse a mediados de los 80, una vez descubierta la relación existente entre diferentes procesos oncogénicos y el receptor EGFR. Este receptor regula diferentes procesos de proliferación celular, angiogénesis y reducción de la apoptosis por lo que no es de extrañar que su sobreexpresión y/o aumento de la actividad pueda llevar a diferentes tipos de neoplasias.

Existen dos tipos de principales de inhibidores del EGFR: los anticuerpos anti-EGFR y los inhibidores de la tirosina kinasa(TK) del EGFR. Este trabajo trata de poner mayor atención sobre las moléculas pequeñas inhibitoras de la TK, resaltando los mecanismos de acción, las bases químicas sobre las que se estructuran sus moléculas y los tratamientos farmacológicos que se llevan a cabo hoy en día con ellos, pero también se discutirán los mecanismo y funciones de los anticuerpos anti-EGFR.

Los inhibidores del EGFR son una familia farmacológica que ha de desarrollarse y renovarse continuamente ya que la aparición de resistencias adquiridas es bastante recurrente. Es por ello que en los últimos años se han aprobado muchos nuevos inhibidores del EGFR, tanto inhibidores de la TK como anticuerpos anti-EGFR, y otros tanto siguen en ensayo clínico a la espera de la primera aprobación oficial. En este trabajo también se hablará de las principales causas y consecuencias de dichas resistencias y cómo se afrontan desde el punto de vista químico y clínico, además de las investigaciones en curso y futuras que se llevan a cabo con este extenso grupo de fármacos.

PALABRAS CLAVE: EGFR, inhibidores, cáncer, evolución, tratamiento, resistencias.

ÍNDICE

Introducción	1
1. El receptor del factor de crecimiento epidérmico	1
1.1. Contexto histórico y relación con el cáncer.....	1
1.2. Expresión del EGFR.....	2
1.3. Familia EGFR.....	2
1.4. Vías de señalización.....	5
2. Inhibidores del EGFR	8
2.1. Inhibidores de la tirosina kinasa de primera generación.....	8
2.1.1. Gefitinib y erlotinib.....	8
2.1.2. Desarrollo de resistencias.....	10
2.2. Inhibidores de la tirosina kinasa de la segunda generación.....	13
2.2.1. Análogos de 4-aminoquinazolina.....	14
2.2.2. Análogos de 4-aminoquinolina.....	15
2.2.3. Análogos de 4-aminopirimidina.....	16
2.2.4. Análogos de tieno[2,3-d]pirimidin-4-amina.....	16
2.2.5. Análogos de 5,6,7,8 tetrahidropirido[4',3':4,5]tieno[2,3-d]pirimidina.....	17
2.2.6. Problemas de la segunda generación.....	17
2.3. Inhibidores de la tirosina kinasa de la tercera generación.....	17
2.3.1. Derivados de 3,4-dihidro-2-oxopirimido[4,5-d]pirimidinilo...	18
2.3.2. Análogos de 4-aminoquinazolina.....	19
2.3.3. Análogos de pirimidin-2-amina.....	19
2.3.4. 1H-benzo[d]imidazol.....	20
2.3.5. Resistencias a la tercera generación.....	21
2.4. Anticuerpos monoclonales anti-EGFR.....	22
2.4.1. Resistencias a los anticuerpos anti-EGFR.....	24
Objetivos	25
Metodología	26
Resultados y discusión	27
3. Usos clínicos de los inhibidores del EGFR	27
3.1 Cáncer de pulmón.....	27
3.1.1 Cáncer de pulmón no microcítico (CPNM).....	27
3.2. Cáncer de mama.....	32
3.3 Cáncer colorrectal.....	34
4. Perspectivas futuras	36
Conclusiones	38
Bibliografía	39

INTRODUCCIÓN

1. El receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR).

1.1. Contexto histórico y relación con el cáncer.

El EGF (Epidermal Growth factor) o Factor de crecimiento epidérmico fue aislado originalmente en 1962 por Stanley Cohen, a partir de extractos de la glándula submaxilar de ratón. Observó que empleando dicho factor en ratones recién nacidos se inducía a una precoz aparición de los dientes y a la apertura de los párpados, lo que llevó al descubrimiento de que se trataba de un factor de crecimiento de células epiteliales. No fue hasta 1972 cuando se averiguó la secuencia de aminoácidos del EGF. Tres años más tarde, en 1975, se confirmó la presencia de una molécula que une específicamente al EGF, el receptor de EGF (EGFR) (*Lehera et al., 2010*).

En 1978, usando unas líneas celulares concretas (A431) de carcinoma escamoso (células de carcinoma epidermal que presentan amplificado el gen EGFR) se descubrió que dicho receptor presentaba un grado de fosforilación aumentado, sin embargo, no fue hasta 1980, tras haber descubierto que el virus del sarcoma de Rous codificaba una proteína tirosín kinasa, que se relacionó al EGFR con un mecanismo también basado en la actividad tirosín kinasa. Se trata del primer miembro de su familia, perteneciente a su vez a la superfamilia de las cinasas (*Lehera et al., 2010*). En 1984 el ADNc del EGFR se aisló y se caracterizó, viendo que presentaba un alto grado de similitud en la secuencia de aminoácidos con una proteína denominada v-erbB, un oncogen del virus de la eritoblastosis aviar, ésta fue la primera conexión que hubo del EGFR con el cáncer (*Wee et al., 2011*).

La función principal del EGFR es la de promover tanto mecanismos de proliferación y migración celular como de supresión de la apoptosis, por lo que no es de extrañar que ciertas mutaciones en los genes que lo codifican y que supongan la inducción de su sobreexpresión o aumento del tiempo de activación, pueden llegar a producir distintas neoplasias, es por ello que se ha considerado al EGFR como un proto-oncogen. Efectivamente el EGFR se ha encontrado sobreexpresado en muchos tipos de

neoplasias, pero entre las más frecuentes se encuentra el cáncer de células escamosas de pulmón y cuello que representa un 25-30% de los casos de cáncer de pulmón de células no microcíticas, y cerca de un 95% de los casos de cáncer de cabeza y cuello. En el cáncer de pulmón de células no microcíticas, que representan el 80% de los casos de cánceres de pulmón, los EGFR oncogenizados promueven la invasión (metástasis) además de la angiogénesis y aumento de la supervivencia de las células neoplásicas. Es por ello que su inhibición es en muchos de los casos más que crucial para llevar a cabo el tratamiento más efectivo posible de algunos tipos de cánceres, y más aun teniendo en cuenta que del 10-15% del total de cánceres de pulmón presentan algún tipo de mutación en el EGFR. (*Weiwe et al., 2017*).

El cáncer de pulmón sobre todo el no microcítico es el tipo de cáncer más relacionado con la oncogenicidad del receptor EGFR, pero éste también se ve relacionado con otros tipos de cánceres como son el cáncer de pecho o el colorrectal (*Zerecero et al., 2012*).

Las mutaciones en el gen del EGFR que forman la oncoproteína se presentan mayoritariamente en los cuatro exones que codifican el dominio tirosín kinasa. Los mutantes del EGFR en el dominio tirosín kinasa son oncogénicos, y pueden transformar tanto a fibroblastos como a células epiteliales de ciertos tejidos en ausencia de ligando y por tanto generar un crecimiento de células descontrolado y fuera de anclaje regulador. Aproximadamente el 90% de las mutaciones se basan en pequeñas deleciones que involucran cinco aminoácidos de los codones 746-750 (ELREA) ó son mutaciones sin sentido que están basadas en la sustitución de una leucina por una arginina en el codón 858 (L858R). El 10% del resto de las mutaciones oncogénicas se reparte en un 3% en sustituciones en el codón 719 de una cisteína por otro aminoácido (G719X), además de un 3% de mutaciones por inserción en el exón 20. Existen otros tipos de mutaciones raras, algunas de ellas manifestándose en conjunción con la L858R (*Zerecero et al., 2012*).

También se han detectado 3 tipos de mutaciones en el dominio extracelular, y que por tanto pueden afectar a la oncopatogenicidad de los miembros de la familia ErbB. Estas mutaciones son llamadas EGFRv1, EGFRv2 y EGFRv3. En EGFRv1 se elimina completamente el dominio extracelular, tomando un aspecto muy similar a la oncoproteína viral v-erbB. En la EGFRv2 se pierden 83 aminoácidos del subdominio

extracelular IV, pero esta mutación no parece tener fenotipo maligno. En EGFRv3, la más común, se produce la delección de los aminoácidos 30 al 297, entre los subdominios I y II del dominio extracelular produciendo que este mutatipo se encuentre constitutivamente activado incluso estando en ausencia de ligando. Además, este último suele acompañarse por la amplificación del gen, por lo que resulta en la sobre-expresión del mismo (*Zerecero et al., 2012*).

1.2. Expresión del EGFR.

El EGFR o ErbB se asigna al brazo corto q22 del cromosoma 7, que abarca 110 kb de ADN dividido en 28 exones (*Weiwei et al., 2017*). En células normales se estima que la cantidad de EGFR expresado es de entre 40.000-100.000 receptores por célula, mientras que la sobreexpresión de más de 10^6 receptores se observa en células cancerígenas.

En cuanto a la regulación de su expresión está en parte controlada por el propio EGF, el cual induce la síntesis del EGFR, aumentando la expresión su ARN por medio de la estimulación del factor de expresión ETF (Factor de Transcripción específica para EGFR). Otras proteínas que se ha visto que también regulan la expresión del EGFR son: E1A, Sp1 y AP2, aunque la interacción del ADN con la proteína C-jun, también se ha observado que tiene la capacidad de regular la expresión del EGFR (*Wee et al., 2017*).

1.3. Familia EGFR.

El EGFR fue solo el primero de una nueva familia de receptores tirosín kinasa compuesta por 4 miembros: EGFR/HER1/ErbB1, HER2/ErbB2/NEU, HER3/ErbB3 y HER4/ErbB4. Poseen una intrincada y compleja interacción, ya que tienen la capacidad de formar tanto homo como heterodímeros entre ellos (pudiendo formar hasta 28 combinaciones diferentes entre los distintos miembros), y de esta capacidad y de la intensidad de la señal que provoca la unión con el ligando dependerán tanto el tipo de señalización como la duración de la misma. Además, el hecho de que puedan formar heterodímeros entre ellos aumenta la diversidad de reconocimiento de ligandos (*Zerecero et al., 2012*).

Los receptores EGFR o ErbB constan de una gran región extracelular N-terminal, que es la región de unión a ligandos (EGF, FGR1), una región transmembrana y una región

intracelular C-terminal, que contiene el dominio tirosín kinasa y una “cola” peptídica larga y flexible (*Wee et al., 2017*).

Pero a pesar de que todos los miembros de la familia de receptores HER comparten una estructura general común, también existen ciertas peculiaridades estructurales en cada miembro, lo que lleva a diferentes modos de actuar a la hora de reconocer al ligando y formar los dímeros. Dentro de las variantes de la familia de EGFR/ErbB, ErbB1 se compone de un dominio extracelular de interacción con el ligando EGF compuesto por 622 residuos, un segmento transmembrana de 23 residuos y uno intracelular de 522 residuos con actividad tirosín kinasa. Su activación se lleva a cabo con la unión del ligando al dominio extracelular, lo que provoca un cambio conformacional que le permite la formación de dímeros. La presencia de estos dímeros aumenta en la zona intracelular el reclutamiento de diversas moléculas asociadas al reconocimiento de fosfotirosinas, por medio de proteínas que presentan dominio SH2 o PTB, para así poder continuar la vía de señalización (*Ismail et al., 2016*).

El dominio extracelular de todos los miembros de la familia está formado por 4 subdominios. Los subdominios I y III, formados por una hélice β sirven como sitio de interacción con el ligando, y a su vez están unidos por el subdominio II. Los subdominios II y IV en la forma inactiva del receptor se encuentran unidos por interacciones intermoleculares, pero al unir al ligando por los sitios de unión situados en los subdominios I y III, la estructura del dominio extracelular sufre un cambio conformacional, provocando la separación de los dominios II y IV sin alterar su orientación relativa, para dar lugar a una nueva estructura en conjunto con el ligando, y denominada asa de dimerización. Esta nueva conformación es entonces apta para formar tanto homo como heterodímeros con el resto de los miembros de la familia de EGFR, siendo el subdominio II el principal componente de unión. Ya que buscará la unión con otro subdominio II de otro receptor (*Zerecero et al., 2012*).

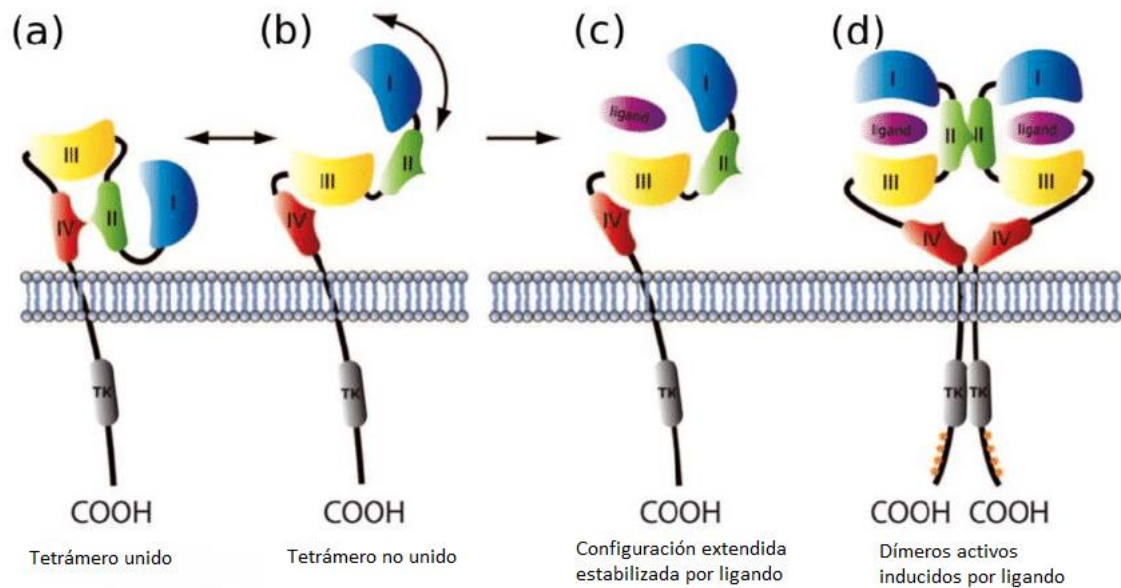


Imagen 1. Estructura del EGFR inactivo (a), cambio conformacional que sufre en presencia del ligando (b y c) y estructura final activa y estabilizada por el ligando (d). Imagen adaptada de Rodríguez-Ramos J. (2013).

Estas estructuras y cambios conformacionales, en la región extracelular, se cumplen en todos los casos menos en el de HER2, en el que se observó que ciertas diferencias estructurales en las regiones III y IV favorecían la conformación activa de manera constitutiva, mientras que en los otros miembros de la familia solo era favorecida en presencia del ligando. Los subdominios I y III de HER2 se encuentran plegados de manera que se favorece la conformación cerrada del dominio extracelular, lo que impide la unión con cualquier ligando, por lo que HER2 se encuentra siempre en condiciones de poder formar dímeros, además se inclina más a la formación de heterodímeros que homodímeros, seguramente a causa de esta condición de permanecer en su forma activada permanentemente. Debido a su capacidad de activación constitutiva y a su propensión a la formación de heterodímeros es designado principalmente como receptor cooperador. El problema reside en la amplia variedad de tipos de factores de crecimiento que dichos heterodímeros tienen la capacidad de reconocer, lo que otorga a HER2 una gran capacidad de causar una amplia gama de tipos de cáncer: mama, cervix, endometrio, colon, esofágico de pulmón y de páncreas (Zerecero et al., 2012).

ErbB3 a pesar de presentar una gran homología en el dominio TK con el resto de los miembros, carece de actividad catalítica aun cuando se encuentra unido al ligando, por lo que requiere la formación de heterodímeros, de manera particular (HER2/HER3). Se ha encontrado en diferentes tipos de cáncer: mama, colon, próstata y estómago (Weiwei et al., 2017).

El ErbB4 comparte casi el 75% en los dominios extracelulares y transmembrana con el ErbB1, pero sus ligandos naturales son NRG3 y NRG4, aunque se ha visto que su unión a NRG2 favorece su heterodimerización con ErbB2 (Weiwei et al., 2017).

Miembro	%Extracelular común con EGFR	%Transmembrana común con EGFR	%Intracelular Común con EGFR	Ligandos que unen
ErbB1 HER1 EGFR	100	100	100	EGF, TGF α , anfiregulina, β -celulina, espiregulina
ErbB2 HER2/NEU	44	82	33	
ErbB3 HER3	36	59	24	Neuregulina
ErbB4 HER4	48	79	28	NRG3, NRG4, neuregulina, β -celulina

Tabla 1. Porcentaje de homología que presentan las diferentes regiones de los miembros de la familia de ErbB con respecto al ErbB1, y los distintos ligandos que unen. Adaptada de Weiwei et al. (2017).

1.4. Vías de señalización.

De los 4 miembros de la familia, el EGFR es el que tiene el mayor número de vías de señalización únicas, incluyendo ERK MAPK, PI3K-AKT, SRC, PLC-g1-PKC, JNK y JAK-STAT. Siendo que estas vías de señalización están interconectadas, la activación del EGFR lleva a cabo una serie de efectos, que se traducen en su mayoría en un aumento de la velocidad de proliferación celular, migración y diferenciación e inhibición de la apoptosis (Ping et al., 2017). La unión del ligando al receptor permite la transfosforilación de varios residuos de tirosina en la cola C-terminal en el dominio

intracelular, pero además de estos sitios autofosforilados existen otros residuos que son fosforilados por otras quinasas, como por ejemplo la PKC a T654. En cualquier caso, los residuos de tirosina fosforilados sirven como sitios de acoplamiento para proteínas que albergan residuos de unión a fosfotirosinas, como aquellas con homología Src 2 (SH2) y dominios de unión a fosfotirosina (PTB) (*Martínez-Useros et al., 2015*).

Quizás la vía de señalización de mayor importancia que media la respuesta biológica en el EGFR sea la RAS-RAF-MEK-ERK-MAPK, teniendo en cuenta además que RAS y RAF se consideran protooncogenes (*Martínez-Useros et al., 2015*). Esta vía de señalización termina por inducir el paso de la fase G1 de la proliferación celular a la S. La activación de la vía comienza con el reconocimiento por parte del receptor del ligando EGF, lo que lleva a cabo una serie de cambios conformacionales y a la dimerización del receptor. Una vez se encuentra formando el dímero se favorecen las reacciones de autofosforilación en la cola C-terminal en los residuos de tirosina. El dominio c-terminal fosforilado une a SHC y GRB2. El dominio tanto de GRB2 como de SH3 recluta a los dominios ricos en prolina de SOS o GAB1 respectivamente para iniciar las vías de señalización de ERK-MAPK en el caso de GRB2 o AKT (PKB) en el caso de SH3 (*Ping et al., 2017*).

SOS cataliza la conversión de GDP a GTP de RAS, la cual, una vez activada, se sirve de su dominio de unión a RAF (RBD) para reclutar a RAF1. Esta última es activada mediante eventos de fosforilación y desfosforilación, para acabar activando a la MEK $\frac{1}{2}$ (Mytogen activated protein kinase kinase- MAPKK), la cual activa a la ERK $\frac{1}{2}$. ERK $\frac{1}{2}$ tiene varias diana tanto en el citoplasma como en el núcleo. En el citoplasma activa la proteína RSK-1 que se traslada al núcleo y activa a la proteína c-FOS. Por otra parte ERK $\frac{1}{2}$ también se traslada al núcleo activando a la proteína c-JUN. Ésta, junto con un producto de la proteína c-FOS, conforman el complejo AP1, el cual induce la transcripción de Ciclina D1 (*Ping et al., 2017*).

Éste es el punto de convergencia con otra de las vías de señalización activadas, en este caso comenzando por la activación de GAB1, una vía de señalización que se encuentra aumentada en muchos tipos de cáncer debido a mutaciones activadora de PI3K y AKT. Cabe destacar que en el caso de ErbB3 y ErbB4, el receptor interacciona directamente

con PI3K sin tener que depender del GAB1. En el caso de ErbB1 y ErbB2, GAB1 interactúa con PI3K en la subunidad reguladora p85 que activa a la subunidad catalítica p110 de PI3K, la cual va a fosforilar al grupo OH del lípido de membrana fosfatidilinositol-4,5-bisfosfato o PIP2 a PIP3 o fosfatidilinositol-3,4,5-trifosfato, el cual tiene la función de reclutar proteínas con dominio PH como AKT, que es lentamente fosforilada por PDK1 y mTORC2. AKT tiene muchos sustratos de fosforilación incluyendo varias fosforilaciones inhibitorias, en su mayoría a proteínas que regulan negativamente la transcripción de Ciclina D1 por lo que se induce su activación también por esta vía. Los niveles elevados de Ciclina D1 se relacionan con altos niveles de actividad CD4/6 que fosforila de manera inhibitoria a RB, la cual en su forma activa se encuentra uniendo al factor de transcripción E2F e impidiendo su acción, pero una vez libera a E2F, éste induce la expresión de Ciclina E que en última instancia es el que induce el paso de la fase G1 a la S, lo que termina por aumentar la tasa de proliferación celular (Ping et al., 2017).

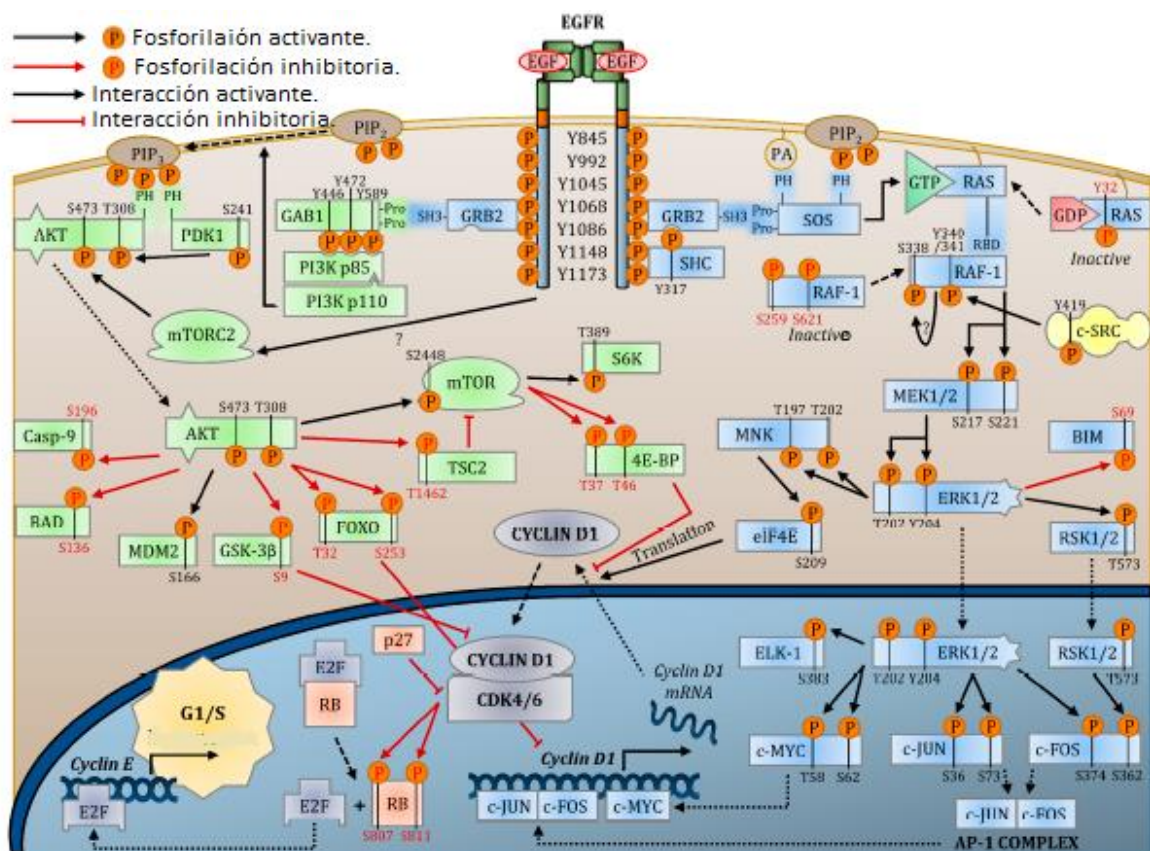


Imagen 2. Principales vías de señalización del EGFR y su implicación final. Adaptada de Wee et al. (2017).

2. Inhibidores del EGFR

2.1. Inhibidores de la tirosina kinasa del EGFR de primera generación.

El cáncer de pulmón, es una de las primeras causas de muerte en los países desarrollados, en concreto, el cáncer de pulmón de células no microcíticas (CPNM o NSCLC) es el más incidente, representando un 80% de los casos. Las mutaciones activadoras del EGFR son el evento genético más representativo en NSCLC, especialmente en cáncer de pulmón de células escamosas y adenocarcinomas, siendo también comunes en otros tipos de neoplasias como el cáncer colorrectal y el de mama (*American Cancer Society, 2016*). Es por ello que a finales del siglo pasado comenzaron a desarrollarse los inhibidores del EGFR, convirtiéndose en fármacos de primera línea en el tratamiento de enfermedades como CPNM, cáncer de mama, cáncer colorrectal (CCR), entre otras. Entre las diferentes moléculas y su mecanismo de acción, llamaron especialmente la atención sobre todo dos tipos de moléculas: anticuerpos monoclonales IgG anti EGFR, y pequeñas moléculas derivadas de núcleos de quinazolina, con la capacidad de inhibir a la TK del EGFR (*Ismail et al., 2016*).

La aprobación de los primeros fármacos inhibidores de la TK se llevó a cabo a principios del milenio: gefitinib, aprobado por Japón en 2002 y por la FAD en USA en 2003, y erlotinib aprobado por la FAD en 2004. A éstos le siguieron un grupo nuevo de fármacos, todos ellos destinados a inhibir al EGFR.

2.1.1. Gefitinib y erlotinib.

Gefitinib y erlotinib son las primeras moléculas comercializadas, constituyentes de la primera generación. Su mecanismo de acción consiste en competir de manera y reversible con las moléculas de adenosín trifosfato en el dominio tirosín kinasa de los EGFR, impidiendo de esta manera la reacción de autofosforilación e interrumpiendo la señal al primer nivel de la vía, lo que ha demostrado reducir la capacidad de angiogénesis y supervivencia celular de tumores con mutaciones activadoras de EGFR.

Fueron identificados originalmente a partir de estudios de estructura-actividad basados en una serie de moléculas con núcleo 4-anilinoquinazolinico. Las estructuras completas son 4-(3-cloro-4-fluoroanilino)-7-metoxi-6-(3-morfilinopropoxi)quinazolina y

4-[(3-etinilfenil) amino]-6,7-bis(2-metoxietoxi)quinazolina para gefitinib y erlotinib respectivamente, tal y como se muestra en la *imagen 3* (Weiwei et al., 2017).

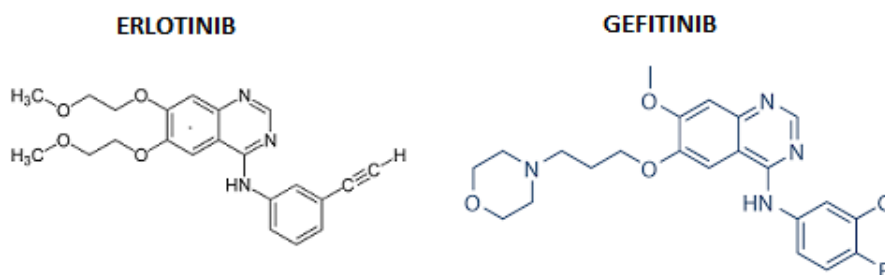


Imagen 3. Representación de las moléculas de erlotinib y gefitinib. Imagen adaptada de Google imágenes. (2019).

Sin embargo, tanto gefitinib como erlotinib presentan mejores resultados en la inhibición de ErbB 1 que de ErbB 2 por lo que presentan mayor eficacia en el tratamiento de tumores con mutaciones en HER 1, siendo incluso que gefitinib no muestra actividad terapéutica relevante en tumores que tenga una mutación activadora de EGFR diferente a la de HER 1 (Huang et al., 2012).

En el caso de gefitinib, la primera molécula estudiada, fue aprobada tras haber demostrado actividad terapéutica con buenos resultados en ensayos en fase II en pacientes con cáncer de pulmón no microcítico. Sin embargo, fue siendo retirado con posterioridad de algunos mercados, como el de Estados Unidos, debido a falta de eficacia demostrada en ensayos en fase III. No mostraba actividad en todos los tumores con actividad EGFR aumentada (Mushim et al., 2003).

Indudablemente no todos los pacientes se beneficiaban de gefitinib pero se identificaron una serie de características que podrían definirse como un indicador predictivo de respuesta positiva a inhibidores de la TK. En concreto estas características son: género femenino, histología de adenocarcinoma, ascendencia asiática y no fumadoras. Esto mismo fue también observado en los ensayos BR 21 con

erlotinib, que eventualmente daría lugar a la aprobación del propio fármaco para tratar el cáncer de pulmón recurrente en 2004. Investigaciones posteriores, realizadas por Lynch y Paez, dilucidarían el mecanismo exacto de los inhibidores de la TK; describiendo mutaciones específicas en el dominio tirosín kinasa del EGFR. En concreto, se identificaron mutaciones frecuentes de sustitución en tanto en el bucle P, como en el bucle de activación rico en glicina, elementos estructurales que son conocidos por su rol en la regulación de la actividad muchas proteínas kinasa.

En cualquier caso, los inhibidores de la TK del EGFR presentaban no solo mejores resultados, sino además un cuadro de efectos adversos mucho más tolerable que los mostrados por los agentes quimioterápicos tradicionales, por lo que eventualmente irían sustituyendo a éstos, en el tratamiento, o se prentarían en combinación con los mismo para ciertos casos (*Huang et al., 2012*).

2.1.2. Desarrollo de resistencias.

El problema tanto de gefitinib como de erlotinib es que los pacientes se benefician del tratamiento durante menos de un año, debido al desarrollo de resistencias.

El gen del EGFR se compone de 28 exones, de los cuales del 18-24, corresponden a la función tirosín kinasa del receptor. Actualmente el 90% de las mutaciones conocidas de los EGFR se encuentra en los exones 19 y 21, siendo en el 19 donde aparecen más comúnmente, llegando a representar el 60% de las mutaciones totales. Las mutaciones de resistencias en el dominio catalítico ocurren como consecuencia de mutaciones secundarias tras el tratamiento de primera línea con iTK.

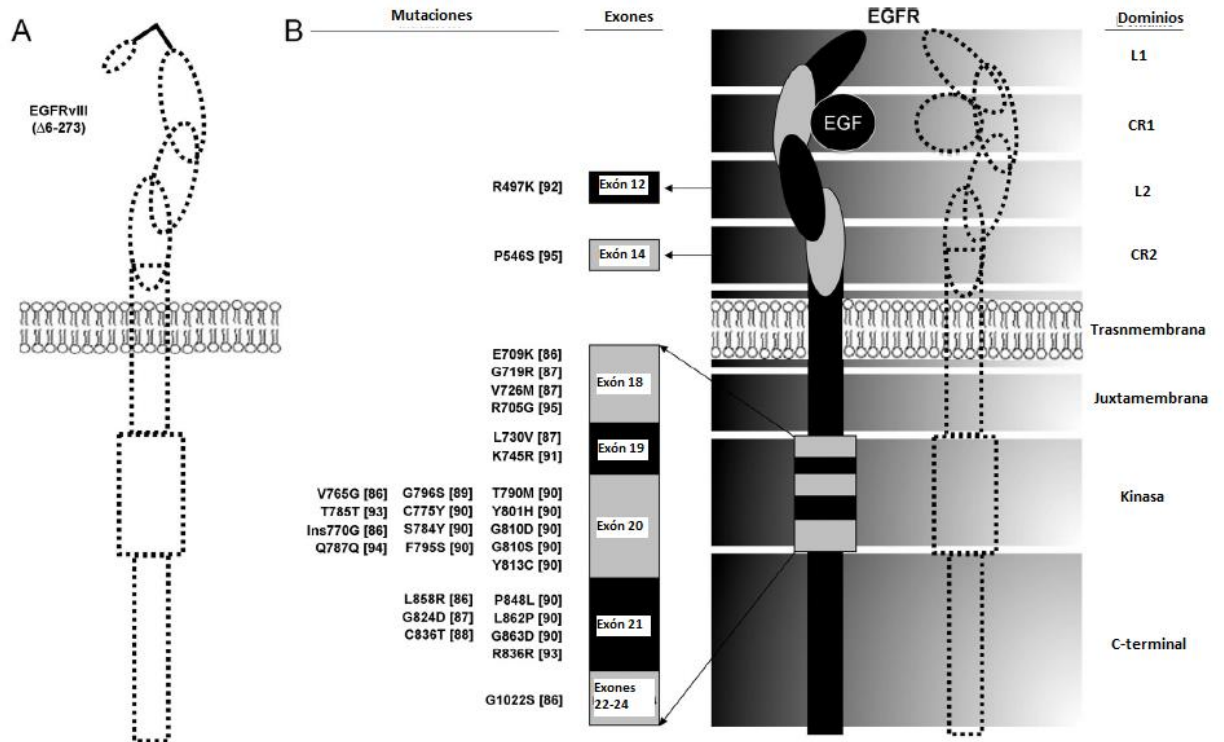


Imagen 4. Exones del EGFR que con mayor probabilidad sufren una mutación que otorga resistencia a los inhibidores del EGFR. Imagen adaptada de Martínez-Useros et al. (2015).

La mutación T790M es la mayor causa de resistencia apareciendo con un rango de frecuencia de aproximadamente el 60% de las mutaciones generadas. Es una mutación que se encuentra en el exón 20, sustituye una treonina por una metionina en posición 790 (T790M) en el dominio kinasa. El residuo 790 es definida como un “punto guardián” ya que resulta ser un importante regulador inhibitorio específico del ATP en el punto de unión. La mutación T790M aumenta la afinidad por la molécula de ATP, el cual compite con los propios inhibidores de la tirosina kinasa desarrollando resistencia a los mismos (Martínez-Useros et al., 2015).

Aunque es verdad que la T790M es rara de observar previamente al tratamiento, se encuentra en aproximadamente la mitad de los pacientes tratados con inhibidores iTK del EGFR. Investigaciones posteriores han identificado una gran proporción de tumores sencillos que portan la mutación T790M, y que dichos clones, son seleccionados tras la exposición con los inhibidores de la TK del EGFR (Shang-Gin et al., 2018). La T790M además puede coexistir con otras mutaciones como L858R o D761Y. De hecho, la

T790M posee la capacidad de incrementar la actividad fosforilante *per se*, pero dicha actividad se ve inducida positivamente a su vez, si la T790M se encuentra en combinación con la L858R. La combinación de éstas dos mutaciones da lugar a cáncer de pulmón, poniendo de manifiesto que la mutación T790M es de hecho un oncogen.

Existen otro tipo de mutaciones que pueden activar una ruta alternativa paralela a la desencadenada por el EGFR, siendo la más común de entre ellas la amplificación de MET, que sucede en un 5-10% de los casos y que trae como consecuencia la activación de la vía PI3K-AKT mediante la dimerización y señalización con ErbB 3 (Huang et al., 2015). Otras mutaciones de este tipo pueden ser mutaciones en KRAS o la PI3K entre otras. Sin embargo, y de acuerdo con los informes de los pacientes con mutación en la vía de señalización del EGFR que generan resistencias a los inhibidores de la TK, las mutaciones distintas a la T790M tienen una frecuencia de aparición baja como se puede apreciar según la **Imagen 5**. Pero la T790M se manifiesta en un 50-60% de los pacientes cuya enfermedad progresaba durante el tratamiento con los inhibidores de la TK del EGFR, y teniendo en cuenta que la proteína diana mutada se considera como una proteína distinta, se vio necesario el desarrollo de una nueva serie de inhibidores que selectivamente atacaran a esta mutación (Shang-Gin et al., 2018).

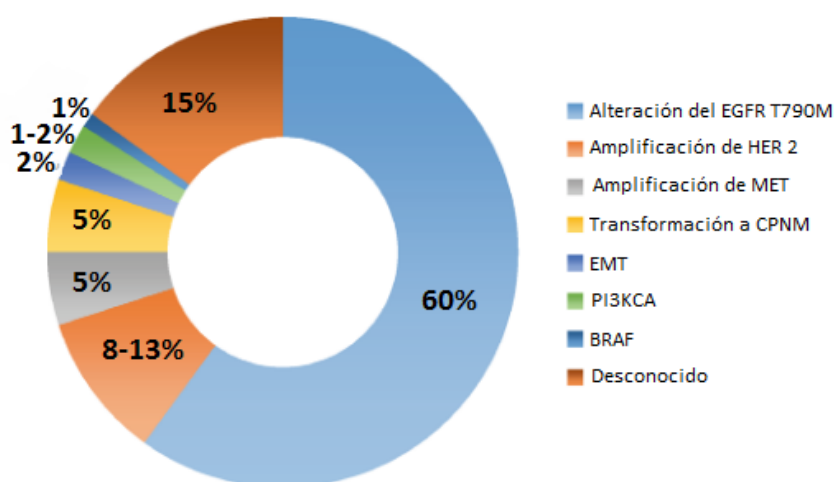


Imagen 5. Gráfica de distribución de las alteraciones que causan resistencias adquiridas más comunes. Imagen Adaptada de Shang-Gin et al (2018).

Sin embargo, a día de hoy no existen terapias específicas contra la T790M por lo que se sigue requiriendo de la quimioterapia citotóxica tradicional. Es por ello que resulta muy atractivo el objetivo de desarrollar nuevas moléculas que puedan incidir de forma específica sobre los receptores ErbB con mutaciones T790M y se mantengan con actividad en otras mutaciones activas. De hecho, con el reciente descubrimiento de inhibidores de la tercera generación, han surgido fármacos como AZD9291 o CO-1686, que han hecho grandes progresos en los últimos años (*Shang-Gin et al., 2018*).

2.2. Inhibidores de la TK del EGFR de segunda generación.

En orden de sobrellevar estas resistencias se desarrolló la segunda generación de inhibidores de la TK del EGFR. La segunda generación ha sido aprobada y se mantiene en investigación habiendo logrado grandes resultados en los pacientes con NSCLC que generan resistencias a los iTK de primera generación. Los integrantes de la generación más representativos son afatinib, dacomitinib, canertinib, pelitinib y neratinib cuyo mecanismo de acción difiere de los de la primera generación en que su unión a la diana es irreversible, además de tener la capacidad de poder unir tanto al EGFR como a otros miembros de la familia ErbB. Afatinib ya fue aprobado en 2013 como tratamiento de primera línea para la población con NSCLC que porten la mutación T790M, y recientemente, en 2017 y en 2018, neratinib y dacomitinib respectivamente han sido aprobado por la FDA (*Drugs, 2019*). Sin embargo, tanto canertinib como pelitinib siguen en fases de desarrollo (*Drugbank, 2019*).

Molécula	Estado clínico	IC50 [nM] EGFR	IC50 [nM] HER2	IC50 [nM] HER4
Afatinib	Aprobado	0,5	14	
Dacomitinib	Aprobado	6	45,7	73,7
Canertinib	Fase III	1,5	19	7
Neratinib	Aprobado	92	59	
Pelitinib	Fase III	83		

Tabla 2. Diferentes moléculas de la segunda generación de inhibidores de la TK del EGFR y su actividad medida en IC50 para los diferentes miembros de la familia de ErbB.

La principal diferencia con la primera generación, tanto como para los análogos de 4-(fenilamino)quinazolininas y los análogos de quinolona es que portan en la posición 6 un grupo funcional aceptor de Michael, que es el encargado de alquilar de forma

irreversible a la cisteína 797, en el sitio de unión del ATP al EGFR. Los inhibidores de TK de 2ª generación son capaces de superar ciertas resistencias simplemente a través de un enlace covalente y no como resultado de un mecanismo de acción alternativo. La formación del enlace covalente en concreto viene como resultado de una reacción de *S-Michael*, en la cual se produce la adición nucleofílica del azufre, en este caso aportado por la cisteína 797, con un aceptor carbonílico α , β -insaturado, aportado a su vez por un grupo aceptor de *Michael* añadido a la posición 6 (*Weiwei et al., 2017*).

La clasificación de los distintos integrantes de la segunda generación se realiza en base a su núcleo químico, los compuestos principales se encuentran repartidos entre dos grupos, pero existen otros núcleos químicos diferentes que han mostrado resultados en la inhibición de los miembros de la familia de ErbB.

2.2.1. Análogos de 4-aminoquinazolina.

Los análogos de 4-aminoquinazolina han sido ampliamente estudiados, debido a esta función de inhibir ciertas kinasas del organismo, entre las que se encuentra la TK del EGFR, vital para su función. Tanto gefitinib como erlotinib de la primera generación ya estaban basados en núcleos de 4-aminoquinazolina, pero además en este grupo se encuentran afatinib, dacomitinib y canertinib, entre otros, pertenecientes a la segunda generación (*Ismail et al., 2016*). Como el resto de la segunda generación, presentan sobre la primera, ciertas ventajas. Primera, una vez se da la unión de la molécula al sitio diana desactivando así la enzima, los efectos biológicos deberían persistir incluso después de que el fármaco salga de la circulación. Segundo, el mecanismo de acción basado en la unión específica y covalente a la cisteína 797, procura un mecanismo de acción que puede que lograr una mayor selectividad. Este grupo de inhibidores de la TK mejoran los resultados en comparación con la quimioterapia como tratamiento inicial para el cáncer de pulmón de células no microcíticas con EGFR mutante, es por ello que afatinib ha sido aprobado como tratamiento de primera línea en dicha patología en muchos países de todo el mundo (*Ismail et al., 2016*).

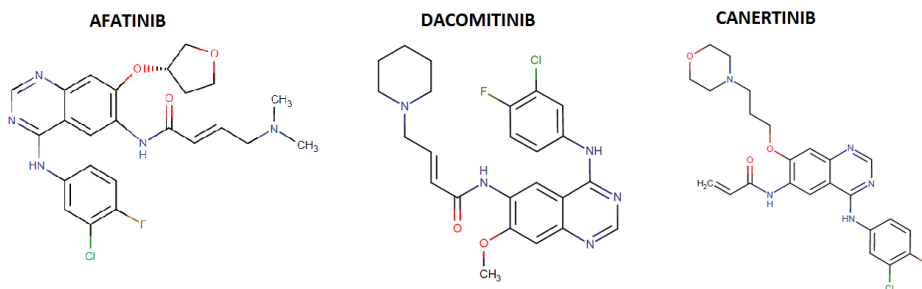


Imagen 6. Moléculas de afatinib, dacomitinib y canertinib. El afatinib es N-[4-[(3-cloro-4-fluorofenil)amino]-7-[[[(3S)-tetrahidro-3-furanil]oxi]-6-quinazolinil]-4(dimetilamino)-2-butanamida, dacomitinib es (E)-N-[4-(3-cloro-4-fluoroanilino)-7-metoxiquinazolin-6-yl]-4-piperidin-1-ylbut-2-enamide y canertinib es N-{4-[(3-cloro-4-fluorofenil)amino]-7-[3-(morpholin-4-yl)propoxy]quinazolin-6-yl}prop-2-enamide. *Imagen adaptada de Drugbank (2019).*

En concreto, estas moléculas utilizan el residuo de anilina para unirse en lo más profundo de la hendidura de unión al ATP ocupando el sitio del mismo, mientras que el grupo acrilamida juega el papel de aceptor de *Michael*, uniéndose covalentemente a la cisteína 797. Uno de los problemas que presenta es que el residuo de anilina choca estéricamente con la cadena lateral de la metionina 790, haciendo que su actividad inhibidora sea menos potente en la mutación T790M que en el EGFR tipo silvestre o *wild-type* (WT), que son EGFR que no tienen una mutación detectada. La inhibición del WT EGFR provoca ciertas reacciones adversas basadas en toxicidad del epitelio, manifestándose principalmente con erupciones cutáneas y diarrea (Ou, 2012).

2.2.2. Análogos de 4-aminoquinolina.

A este grupo pertenecen neratinib (HKI-272) y pelitinib (EKB-569). Primero se elaboró Pelitinib usando como base compuestos con núcleo 4-anilinoquinazolina, al que se le añadió un aceptor de *Michael* en la posición 6 que tendría la función de unir covalentemente a la cisteína 797, además de un grupo hidrosoluble que mejoraba las propiedades biológicas de la molécula (Weiwei et al., 2017). Así surgió pelitinib, del cual se acabaría desarrollando neratinib, aunque han demostrado poca actividad frente a pacientes con NSCLC resistente a gefitinib y que portan mutación en EGFR en ensayos en fase II, debido a problemas de toxicidad relacionada con la limitación de la dosis por la inhibición de los EGFR wild type (U.S National Library of Medicine, 2019).

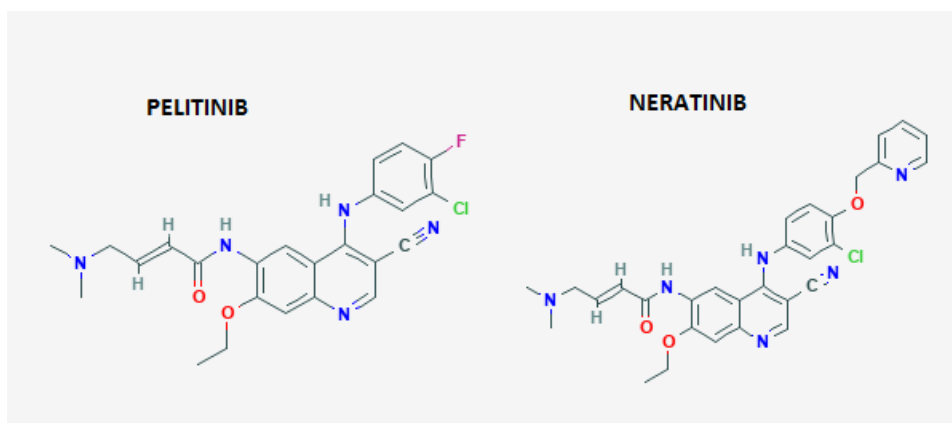


Imagen 7. Moléculas de pelitinib, (E)-N-[4-(3-cloro-4-fluoroanilino)-3-ciano-7-etoquinolin-6-il]-4-(dimetilamino)but-2-enamida y de neratinib, (E)-N-[4-[3-cloro-4-(piridin-2-ilmetoxi)anilino]-3-ciano-7-etoquinolin-6-il]-4-(dimetilamino)but-2-enamida. Imagen adaptada de Pubchem. (2019).

2.2.3. Análogos de 4-aminopirimidina.

Engel et al. presentó que los núcleos pirimidínicos podían actuar como andamiaje químico alternativo, para la construcción de nuevas moléculas. Esta variante utiliza el residuo de aminopirazol como elemento de unión principal, pudiendo incrementar la flexibilidad debido a un menor tamaño del core (pirimidina en lugar de quinazolina). A este tipo de estructuras se les suele añadir un grupo fenilo estéricamente exigente en la posición 2, para así prevenir el mismo modo de unión que las 4-aminoquinazolininas, utilizando como punto de anclaje principal el residuo de aminopirazol.

2.2.4. Análogos de tieno[2,3-d]pirimidin-4-amina.

De acuerdo a los estudios de Ji et al. una nueva serie de 6-alkenilamidas derivadas de 4-anilino tieno[2,3-d]pirimidinas fueron diseñadas, sintetizadas y evaluadas como un inhibidor irreversible del EGFR. El core de tieno[2,3-d]pirimidina ha sido profundamente estudiado debido a su utilidad como núcleo de diferentes fármacos con acciones muy diversas: agentes antibacterianos, antioxidantes, y como agentes antitumorales no solo como inhibidores del EGFR sino también como inhibidores de Bcr-Abl debido a su similitud estructural con el EGFR.

En este tipo de estructura el residuo 3-cloro-4-fluoroanilina es la parte de la molécula que se sitúa en lo más profundo del sitio de unión, mientras que es el residuo

alkenilamida el que se encarga de unir covalentemente a la cisteína 797. Se comprobó que tenía buena actividad de inhibición del EGFR, pero en comparación con afatinib se necesitan mejoras adicionales.

2.2.5. Análogos de 5,6,7,8 tetrahidropirido[4',3':4,5]tieno[2,3-d] pirimidina.

Wu et al. utilizaron ensayos de detección de alto rendimiento (HTS por sus siglas en inglés) basándose en células que portan el EGFR transfectado, todo ello con el objetivo de identificar compuestos que inhiban al EGFR o su cascada de señalización. Este ensayo basado en células los llevó a la identificación de moléculas que mostraban propiedades reducción de la proliferación celular interrumpiendo la cadena de señalización del EGFR. A través de este ensayo una nueva estructura tetrahydrobenzotieno[2,3-d]pirimidina tricíclica fue identificada con un resultado de IC50=2,6 (microgramos) pero con posibles efectos para EGFR resistente a gefitinib con mutación T790M/L858R.

2.2.6. Problemas de la segunda generación.

El problema es que los inhibidores de la 2ª generación no tienen un efecto del todo satisfactorio en la superación de la mutación T790M. Este hecho se debe principalmente a una estrecha ventana terapéutica, causando que se produzcan frecuentes reacciones adversas, sobre todo toxicidad gastrointestinal (diarrea, mucositis) y dermatológicas a causa de la inhibición del EGFR *wild type* o de tipo silvestre.

Es por ello que toda una nueva generación, los iTK del EGFR de tercera generación, están ahora entrando y en plena fase de ensayos clínicos, resultando ser más eficaces a menor dosis con los pacientes con NSCLC EGFR mutado positivo, y con T790M positivo (*Ross et al., 2017*).

2.3. Inhibidores de la TK del EGFR de tercera generación.

Dada la incapacidad de la segunda generación de sobrellevar la resistencia a la primera generación por la mutación T790M fue desarrollada la tercera generación de inhibidores de EGFR. De esta generación los compuestos más representativos son los siguientes: osimertinib (AZD9291), PF-06747775, lazertinib (YH25448), avitinib

(AC0010) y rociletinib (CO-1686) (*Weiwei et al., 2017*). Los inhibidores de la TK de tercera generación no solo mejoran el índice de acción específica frente a la mutación T790M en CPNM sino que además tienen como característica principal que minimizan la inhibición sobre el receptor EGFR wild type, por lo que las reacciones adversas que se dan en comparación con las otras generaciones se ven significativamente reducidas en términos de frecuencia de aparición (*Tan AC et al., 2019*).

El primer miembro de la familia en ser aprobado fue Osimertinib, por la FAD en 2015, para el tratamiento de personas con CPNM avanzado y que siga progresando durante o después del tratamiento con iTK del EGFR, tanto de primera como de segunda generación, además de para el tratamiento de casos que no han recibido tratamiento previo (*SEOM, 2017*). Éste demostró grandes resultados en estudios de fase II, lo que hizo que se acelerara su aprobación por la FAD antes que rociletinib, a pesar de haber comenzado los ensayos a la par. La principal ventaja que tiene es que inhibe selectivamente al EGFR mutado con T790M, L858 y delección del exón 19 de manera irreversible y con dosis 9 veces inferior a la necesaria para inhibir el EGFR de tipo salvaje. También demostró que tenía la capacidad de inhibir en concentraciones clínicamente relevantes a HER 2, HER 3 y HER 4 (*Tan CS et al., 2018*).

Debido al éxito inicial de osimertinib, varios inhibidores de la TK del EGFR de tercera generación están en las últimas fases de desarrollo. Olmutinib (HM61713) también es otro de los miembros de esta generación aprobados, en este caso por Korea del Sur, en 2016. Otras moléculas como lazertinib, avitinib y nazartinib (EGF-816), están todavía en fase de desarrollo avanzado. De nuevo esta generación puede subdividirse en función del núcleo químico del que se conforman, ya que varias estructuras han resultado poseer actividad inhibitoria de la TK del EGFR propias de la tercera generación (*Tan AC et al., 2019*).

2.3.1. Derivados de 3,4-dihidro-2-oxopirimido[4,5-d]pirimidinilo.

Un compuesto perteneciente a este subgrupo químico es el compuesto WZ4002, cuya estructura se muestra en la imagenX. Según los informes reportados por *Chang et al*, estos compuestos muestran actividad inhibitoria de la TK del EGFR, sobre todo con los tipos mutados en comparación al salvaje, inhibiendo potencialmente la proliferación

de células cancerígenas. Describió una serie de moléculas que son derivados 3,4-dihidro-2-oxopirimido[4,5-d]pirimidinilo, usando como molécula base la WZ4002 y valiéndose de una estrategia combinada de bioisosterismo y constricción conformacional. Según los ensayos, la sustitución en posición 3 del metilo por un grupo bencilo o fenilo, aumenta la potencia de la acción.

2.3.2. Análogos de 4-aminoquinazolina.

Estos compuestos están caracterizados por tener un núcleo quinazolinico al que se le ha añadido un grupo electrófilo funcional, normalmente un residuo de acrilamida o algún análogo. Este grupo tiene la función de realizar la reacción de Michael, para unir de manera covalente a la cisteína 797. Un ejemplo de este grupo es el compuesto AST1306 (Weiwei et al).

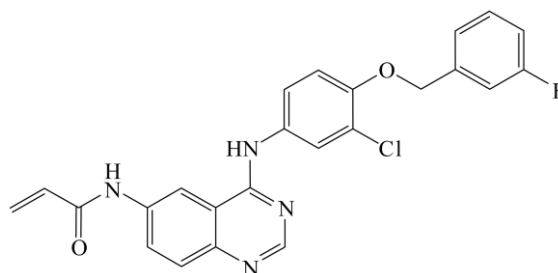


Imagen 8. Estructura del compuesto AST1306. N-(4-(3-cloro-4-(3-fluorobenciloxi)fenilamino)quinazolin-6-il)acrilamida. Imagen adaptada de Xie et al. (2011).

2.3.3. Análogos de pirimidin-2-amina.

Nuevas estructuras derivadas de un núcleo de pirimidin-2-amina fueron reportadas por Gray et al como inhibidores irreversibles. Tanto osimertinib como rociletinib o CO-1686 pertenece a este grupo, pero no presenta tan buenos resultados en comparación con otros del mismo grupo químico.

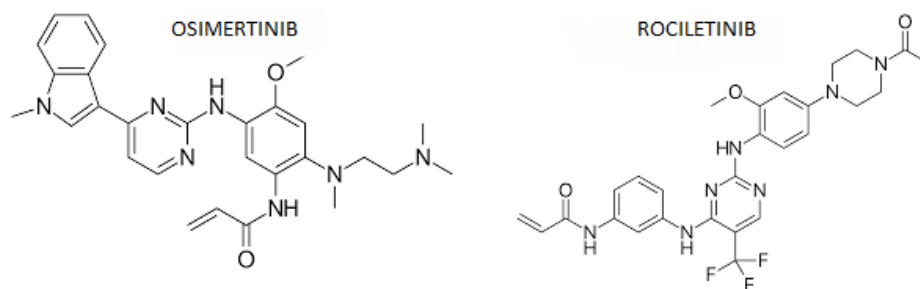


Imagen 9. Estructura de osimertinib: N-(2-((2-(Dimetilamino)etil)(metil) amino)-4-metoxi-5-((4(1-metil-1H-indol-3-il)pirimidin-2-il)amino)fenil)acrilamida. Estructura de Rociletinib: N-(3-((2-((4-(4-acetilpiperazin-1-il) -2-metoxifenil) amino)-5-(trifluorometil) pirimidin-4-il)amino)fenil)acrilamida. Imagen adaptada de Patent Application Publication, United States, (2016) y U.S National Library of Medicine. (2016).

2.3.4. 1H-benzo[d]imidazol.

Con actividad clínica similar a los otros inhibidores de la TK de tercera generación, el compuesto Nazartinib o EGF-816 de *Novartis pharmaceuticals*, ha demostrado actividad preclínica con una selectividad 60 veces superior a los EGFR T790M que a los de tipo salvaje. Es por ello que se encuentra en ensayos clínicos en fase III (*Weiwei et al., 2017*).

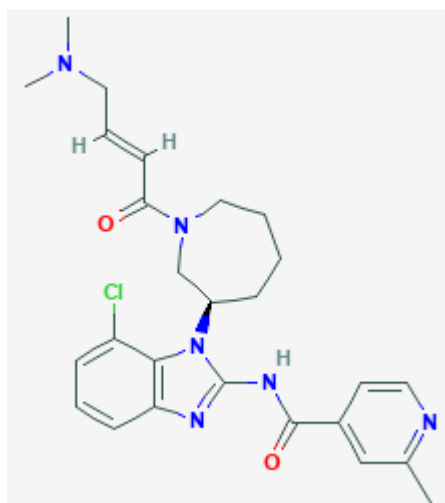


Imagen 10. Estructura de Nazartinib. (R, E)-N-(7-cloro-1-(1-(4-(dimetilamino)but-2-enil)azepan-3-il)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)-2-metilisonicotinamida. Imagen extraída del siguiente enlace:

<https://www.selleckchem.com/products/nazartinib-egf816-nvs-816.html> .

También podemos incluir en la tercera generación otros grupos químicos con actividad inhibidora de la TK propia de la tercera generación como son los análogos de tieno[2,3-d]pirimidina, análogos de pteridin-7(8H)-ona y análogos de 7-H-pirrolo[2,3-d]pirimidina (Weiwei et al., 2017).

2.3.5. Resistencias a la tercera generación.

A pesar de los grandes resultados aportados por la tercera generación y sobre todo por osimertinib se comenzaron a detectar una serie de resistencias adquiridas que solían surgir a los 10 meses de tratamiento. A día de hoy, los mecanismos por los cuales surgen estas resistencias son heterogéneos y no son completamente comprendidos. Sin embargo, se sabe que los principales mecanismos de resistencia vienen dados por una serie de factores tales como una mutación en el propio receptor que pueda afectar el mecanismo de acción, una mutación en rutas *bypass*, como puede ser mutaciones en HER 2, amplificación de MET, o mutaciones en RAF, PI3K o AKT, además de posibles transformaciones o cambios histológicos (Células microcíticas) (Theers et al., 2015).

La mayor causa de resistencia a la tercera generación viene como consecuencia de mutaciones terciarias, en su mayoría, mutaciones de la C797S, punto de anclaje para los inhibidores de la tercera generación y necesario para llevar a cabo su mecanismo de acción. De manera similar a la mutación T790M, la C797S mutada tiene lugar en el exón 20, sustituyendo una cisteína por una serina en posición 797. Curiosamente la sola presencia de la mutación C797S ya induce resistencia *per se* a los análogos de quinazolininas tanto de la primera como de la segunda generación (gefitinib, afatinib...), sin necesidad de estar presente la mutación T790M. Este evento sería más probable en el caso de que se usarán inhibidores de la tercera generación como tratamiento de primera línea, debido a que no se beneficiarían las líneas celulares que portasen la mutación T790M (Minari et al., 2016). El primer caso de aislamiento de C797S corresponde a Theers et al, quienes llevaron a cabo una serie de análisis en 22 pacientes tratados con osimertinib y que habían desarrollado resistencia al mismo, de los cuáles, más de un 30% resultó poseer dicha mutación.

En el estudio de *Chabon et al*, se ponen de manifiesto otras mutaciones terciarias raras, que fueron identificadas por el ADN tumoral circulante, en el análisis plasmático de una serie de pacientes que no progresaban con el tratamiento con rociletinib. Más allá de la C797S informaron del hallazgo subsecuente de otras mutaciones del EGFR como L798I, L692V y PE709K. Estas dos últimas ya habían sido previamente descritas como mutaciones que ocurren en el exón 18 del EGFR, sin embargo, la mutación puntual L798I nunca había sido aislada anteriormente ni *in vivo* ni *in vitro*.

También se observan resistencias adquiridas como consecuencia de una mutación independiente al EGFR. Estas se basan en la activación de una vía *bypass*, un mecanismo de resistencia que puede ser similar a las tres generaciones. La más común de todas es la amplificación de MET y HER 2, que como sucedía con las generaciones 1 y 2, provoca resistencia adquirida también en la tercera generación. También se encuentra la mutación activadora de la PI3KCA que aumenta la señalización por esta vía, independientemente del ligando, generando así la resistencia. También una mutación activadora de la vía RAS-MAPKK puede generar resistencia por el mismo mecanismo que la anterior, pero por sendas vías (*Brand et al., 2011*).

Debido a este surgimiento de resistencias también en la tercera generación se están llevando a cabo las primeras investigaciones para el desarrollo de la cuarta generación de inhibidores del EGFR, con el objetivo de sobrellevar ante todo la mutación C797S.

2.4. Anticuerpos monoclonales anti-EGFR.

Las moléculas pequeñas inhibitorias de la TK del EGFR “no son la única armas” de inhibición de dicho receptor. Los anticuerpos monoclonales anti-EGFR fueron la primera terapia antitumoral cuya acción final consistía en bloquear al receptor EGFR. Desde los años 70 ya se observaba un incremento en la expresión del EGFR o algún miembro de su familia en algunos tipos de cáncer, pero el primer tratamiento con un inhibidor del EGFR fue para combatir el cáncer de mama (*Lahera et al., 2010*). En concreto este inhibidor se trataba de un anticuerpo humanizado IgG1 conocido como trastuzumab y con el nombre comercial de Herceptín[®]. Fue aprobado por primera vez en 1998 por la FDA, para el tratamiento de cáncer de mama HER 2 positivo (*ACTIP, 2017*).

A éste, le siguieron en los años sucesivos una nueva serie de anticuerpos destinados a inhibir la acción de uno o varios miembros de la familia de receptores ErbB. El siguiente en ser aprobado fue cetuximab, bajo el nombre de Erbitux•, en 2004, tanto por la EMA como por la FDA, en concreto para el tratamiento de cáncer de cuello y cabeza EGFR positivo, el primero que unía específicamente al EGFR. En 2006 fue aprobado panitumumab por la FDA para el tratamiento de cáncer colorrectal, uniendo también específicamente al EGFR y convirtiéndose en el primer anticuerpo completamente humano perteneciente a esta clase. En 2012 y 2013 respectivamente fueron aprobados por la FDA pertuzumab y trastuzumab emtansine (Kadcyla•). Éste último era una modificación de trastuzumab, en la cual se conjugaba una con moléculas de DM1 (un inhibidor microtubular derivado de la maytansina). El último en ser aprobado, en concreto en 2015 por la FDA, fue necitumumab, con la indicación de cáncer de pulmón no microcítico y adenocarcinoma EGFR positivos (*ACTIP, 2017*).

El mecanismo de acción de acción de estos fármacos se basa en la unión con el receptor por el dominio extracelular, impidiendo que una al ligando o se lleve a cabo la formación de dímeros interrumpiendo así la cascada de señalización del EGFR y por lo tanto su acción.

Los anticuerpos monoclonales anti EGFR no habían sido el primer intento de bloquear esta familia de receptores, pero presentaban una sensibilidad mucho más elevada que otras pequeñas moléculas inhibitorias, sus efectos adversos eran mucho más tolerables que los producidos tanto por la quimioterapia como la radioterapia tradicional, por lo que se fueron abriendo camino entre los tratamientos de diferentes tipos de cáncer.

Los anticuerpos eran producidos mediante técnicas de ingeniería genética para conseguir una región de unión a antígenos específica. Las diferentes técnicas incluían el cultivo de células CHO, como en el caso de trastuzumab, panitumumab y pertuzumab, aunque también se usaron líneas de cultivo específicas como las células sp2/0 de mieloma, por las que se produce cetuximab, o la línea celular NS0 de células murinas de mieloma, utilizadas en la producción de necitumumab (*ACTIP, 2017*).

2.4.1. Resistencias a los anticuerpos anti-EGFR.

Del mismo modo que ocurre con los inhibidores de la TK del EGFR, se han desarrollado ciertos tipos de resistencias hacia el mecanismo de acción de los anticuerpos anti-EGFR. Diferentes líneas de investigación han confirmado la inhibición de la angiogénesis y reducción de la proliferación celular como resultado del uso de estos fármacos, sin embargo, han surgido ciertas resistencias basadas en el re-aumento de estos factores pro-angiogénicos, debido a la capacidad de las células cancerígenas de activar vías alternativas de señalización en la cascada del EGFR (*Brand et al., 2011*).

Ya en 2001, Vioria-Petit et al, demostraron que ciertos tipos de tumores adquirirían resistencias a los AC anti-EGFR, debido a un aumento en la producción y liberación de VEGF, un factor que es un potente estimulante de la formación de neovascularización. En dicho estudio se realizaron pruebas en ratones, todos ellos con tumores derivados de la línea celular A431 a los que según un protocolo específico de dosificación se les trataba con diferentes AC del EGFR. Cierta porcentaje de los ratones tratados mostraron recurrencia, en mayor o menor medida, dependiendo del tipo de AC que se utilizaba, pero llegando siempre a la misma conclusión, y es que las líneas celulares derivadas que adquirirían resistencia tenían de algún modo aumentado su crecimiento y disminuído su ratio de respuesta a los AC en comparación con tumores de la línea celular A431 base y resaltando que dichas líneas celulares diferentes tenían aumentada su producción de ARNm del factor VEGF a casi el doble en comparación con las líneas celulares parenterales A-431.

A día de hoy se conocen muchos de los mecanismos moleculares que generan resistencias adquiridas a los AC anti-EGFR, pero no todos están definidos con exactitud y existen otros tantos que nos son aún desconocidos. Entre los conocidos podemos citar la alteración de las proteínas PI3KCA, RAS (KRAS, NRAS), AKT, STAT3 y MAPKK entre otras muchas, pero todas ellas con la característica común de aumentar la señal de la cascada de señalización del EGFR con independencia del mismo receptor (*Brand et al., 2011*).

OBJETIVOS

El objetivo del presente trabajo es la realización de una revisión bibliográfica de los factores químicos, terapéuticos y farmacológico del grupo de fármacos antineoplásicos llamados inhibidores del EGFR, más en concreto de los inhibidores de la tirosina kinasa del EGFR, pero mencionando también a los fármacos biológicos de este grupo conformados por anticuerpos monoclonales. Esta revisión, trata de recopilar y valorar lo relevante en cuanto a la información de los mecanismos, tanto a nivel molecular como fisiológicos que provoca la activación de la cascada de señalización de la familia de receptores ErbB y su relación con la aparición de diferentes tipos de neoplasias, además de cómo son utilizados los inhibidores del EGFR, según el tipo de afección y mutatipo de receptor causante de la neoplasia. También se trata de analizar las diferentes moléculas a nivel químico que conforman esta familia farmacológica, y en qué tipos de tratamientos pueden usarse con resultados clínicos relevantes además de las resistencias que las células cancerígenas pueden llegar a generar frente a ellas.

METODOLOGÍA

Para la elaboración de este trabajo se realizaron búsquedas en línea en diferentes bases de datos utilizando palabras clave como *EGFR inhibitor* o *cancer treatment*, además de algunas otras palabras claves más específicas como *non-small cell lung carcinoma* o *EGFR tyrosine kinase inhibitors*. Las bases de datos más consultadas fueron *Scifinder*, *Sciencedirect*, *Pubmed* y *Google scholar* entre otras que fueron consultadas de manera puntual como por ejemplo *Pubchem*, *Taylor & Francis* o *Drugbank* entre otras. También se consultaron documentos en línea en diferentes páginas web oficiales de distintas organizaciones y asociaciones de la medicina y salud tales como informes de *SEOM (Sociedad Española de Oncología Médica)* o datos estadísticos de *ACS (American Cancer Society)*. Otro dato a tener en cuenta es la relevancia que se le dio a los textos y artículos en función de su fecha de publicación o revisión, siendo que se dio prioridad a los publicados y/o revisados en años recientes antes que los publicados con anterioridad, por lo que la mayoría de la información presentada corresponde a la publicada a partir del año 2015 hasta la actualidad, siendo incluso que algunos de dichos artículos proveen información que fue publicada en abril de este año 2019. De esta manera se intentó asegurar que los datos fueran lo más actualizados y contrastados posibles.

Se emplearon diccionarios médicos como el de *NCI (National Cancer Institute)* consultado en la siguiente dirección: <https://www.cancer.gov/> como elemento de apoyo a la comprensión de los artículos. Además, se utilizaron diccionarios inglés-español, como el *Cambridge Dictionary* como ayuda para la traducción de partes específicas del material escrito consultado.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3. Usos clínicos de los inhibidores del EGFR.

El receptor de crecimiento epidérmico humano conlleva acciones que aumenta la proliferación y migración celular, además de la angiogénesis y reducción de la apoptosis. Todo esto sumado al hecho de que se encuentra expresado en muchos tejidos humanos normales hace que no sea de extrañar que la activación de este protooncogen se relacione con la aparición de tumores en distintos tipos tejidos, muchas veces a causa de la metástasis de otros tumores primarios. Entre ellas podemos citar como las más representativas, además del cáncer de pulmón y al cáncer de seno, al cáncer colorrectal y al cáncer pancreático. (Rokoski, 2019). Es por ello que su inhibición es crucial en muchos casos. Para ello se emplea a la familia farmacológica de inhibidores del EGFR, compuestos en su mayoría por inhibidores de la TK, pero también por anticuerpos monoclonales que inhiben al EGFR a la altura del dominio extracelular (Zerecero et al., 2012).

3.1. Cáncer de pulmón.

El cáncer de pulmón (microcítico o no microcítico) es el segundo tipo de cáncer más diagnosticado tanto en hombre como en mujeres, siendo tan solo superados por el cáncer de próstata, en el caso de los hombres, y el cáncer de seno en el caso de las mujeres. Pero si hablamos de qué tipo de cáncer es el más letal, se coloca en primer lugar ya que una de cada cuatro muertes provocadas por cáncer, es por cáncer de pulmón, resultando al año en muchas más muertes provocadas que por cáncer de próstata, seno y colon juntos. Esta enfermedad suele ser diagnosticadas en mayor porcentaje en mayores de 65 y es raro el diagnóstico por debajo de los 45 siendo la edad promedio del diagnóstico 70 años. (American Cancer Society, 2019).

3.1.2 Cáncer de pulmón no microcítico (CPNM).

Según la morfología y tamaño de las células cancerígenas podemos diferenciar entre el cáncer de pulmón no microcítico (de células no microcíticas o de células no pequeñas) y el cáncer de pulmón microcítico o de células grandes. De los dos, el que representa

una mayor prevalencia es el no microcítico, cuya tipología se diagnostica en el 80-85% de los casos de cáncer de pulmón. El carcinoma de células escamosas, el adenocarcinoma y el carcinoma de células grandes son todos los subtipos de CPNM. (SEOM, 2017).

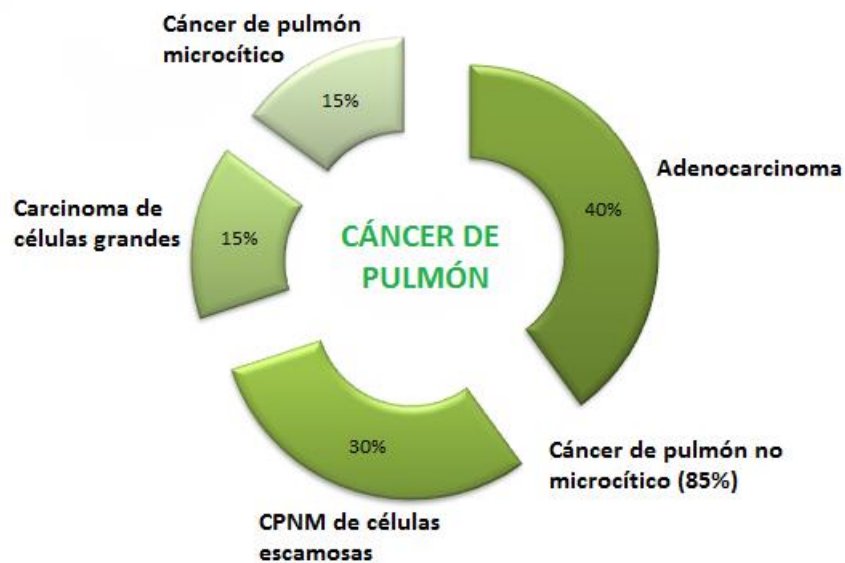


Imagen 11. Gráfica que muestra la frecuencia de diagnóstico de los diferentes tipos de cáncer de pulmón según su histopatología. Creación propia.

Existen muchas y diferentes mutaciones que pueden provocar que ciertas células se vuelvan cancerígenas. La estadística demuestra que el tipo de mutación más frecuente en CPNM es la mutación del EGFR, con una frecuencia del 60%, seguida por mutaciones en KRAS, ALK, BRAF y ROS-1. Sin embargo, probabilidad de que en un CPM la mutación sea del EGFR, es mucho más inferior, lo que hace que la mayoría de CPM no sean sensibles a los inhibidores del EGFR (Brand et al., 2011).

En el pasado, la quimioterapia citotóxica convencional era administrada en ciclos limitados, mayormente debido al incremento de la toxicidad y a la reducida ventaja terapéutica que presentaban. Este no es el caso con los inhibidores de la TK, de hecho,

las reacciones de toxicidad de grado 3 y grado 4 que más comúnmente se presentan son erupción cutánea y diarrea, y raramente son la causa de abandono del tratamiento (Huang et al., 2012).

Los inhibidores de la TK han sido investigados para terapia de mantenimiento basándose en dos enfoques: terapia secuencial inmediata (TSI) y terapia respuesta-dependiente prolongada (TRDP). La TSI se basa en la utilización de un inhibidor de la TK del EGFR inmediatamente tras la finalización de la quimioterapia de inducción estándar si la enfermedad es estable o responde a la quimioterapia inicial. La TRDP consiste en usar iTK de EGFR como primera línea en conjunto con quimioterapia. Si la enfermedad se mantiene estable o responde a la combinación inicial de iTK de EGFR y quimioterapia se continúa el tratamiento con los inhibidores de la TK del EGFR en solitario. (Huang et al., 2012). En el caso de las moléculas inhibidoras del EGFR empleadas en la terapia, podemos encontrar a miembros de la primera generación, erlotinib (Tarceva®) y gefitinib (Iressa®), miembros de la segunda generación, como son afatinib (Giotrif®) y dacomitinib (Vizimpro®) y miembros de la tercera generación, el más representativo es osimertinib (Tagrisso®) aunque en algunos países como Korea del sur también se utilizan otros como olmutinib (Olita™). Todos estos fármacos son administrados en forma de comprimidos y pueden ser utilizados solos o en combinación: con otros inhibidores de la TK, con quimioterapia, o con anticuerpos monoclonales (del tipo anti-EGFR o del tipo anti-VEGF) (American Cancer Society, 2018).

Para entender las estrategias actuales de tratamientos para el CPNM mutación EGFR positivo se ha de tener en cuenta que numerosos ensayos aleatorizados como el IPASS (Mok et al., 2009), EURTAC (Rosell et al., 2012) o LUX (Yang et al., 2015), para gefitinib, erlotinib y afatinib respectivamente, han demostrado la superioridad de los inhibidores del EGFR frente a la quimioterapia tradicional en términos de ratio de respuesta y en supervivencia libre de progresión (SLP) como tratamiento de primera línea del CPNM mutación EGFR positiva (Oronsky et al., 2018).

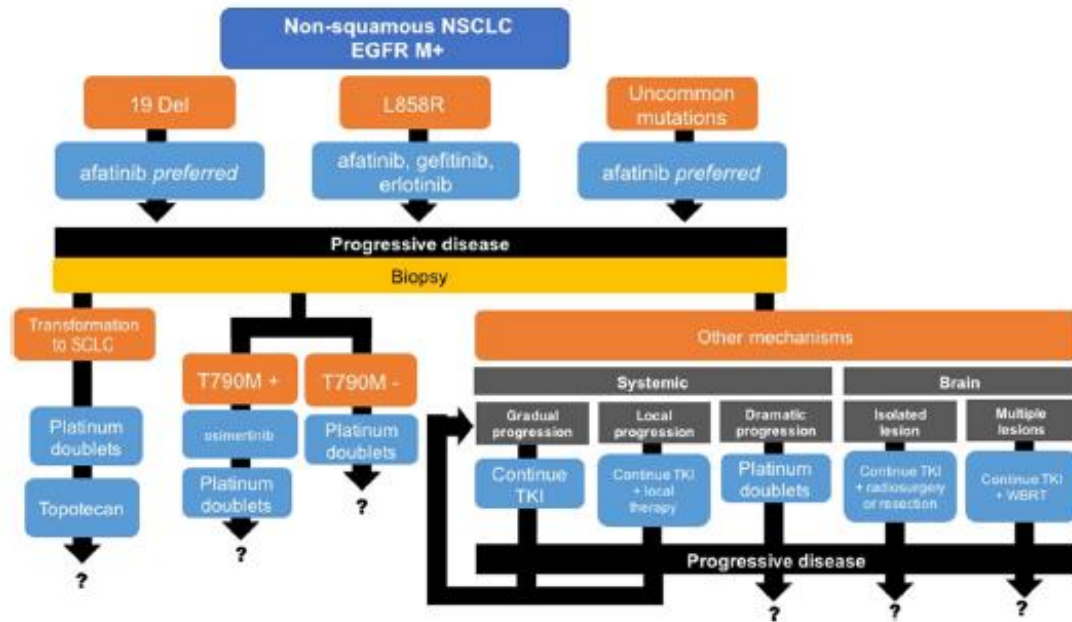


Imagen 12. Patrón clínico actual para el tratamiento de CPNM. Adaptado de Oronsky et al. (2018).

En el tratamiento inicial de CPNM mutación EGFR positiva se utilizan inhibidores de la TK de primera generación o segunda generación según el mutatispo de las células cancerígenas, ya que en el caso de una mutación L858R se podría utilizar gefitinib, erlotinib o afatinib indistintamente y solo dependientemente de la respuesta individual del paciente, pero si se da el caso de una mutación a causa de una deleción en el exón 19, entonces es afatinib el de preferencia (Oronsky et al., 2018). Se recomienda continuar con dicho tratamiento hasta que se detecte alguna mutación secundaria que otorgue resistencia adquirida a la primera y segunda generación, la cual puede salir a la luz debido a que el cáncer siga progresando o porque se haya realizado una biopsia con resultado positivo en alguna mutación secundaria conocida que otorgue resistencia adquirida. Llegados a este punto podremos diferenciar varios mecanismos según los cuales puede seguir progresando el cáncer y en función de dicho mecanismo se elegirá un tratamiento farmacológico u otro siguiendo un algoritmo clínico. (Shang-Gin et al, 2018).

El evento que con más frecuencia ocurre cuando se adquiere resistencia a los iTK de primera y segunda generación es la mutación T790M, hasta en un 60% de los casos. Se trata de una mutación secundaria en la que se sustituye una treorina por una

metionina en el sitio de unión del ATP al EGFR, aumentando la afinidad por el ATP (*Huang et al., 2012*). La respuesta es comenzar con un tratamiento con osimertinib, el cual ha demostrado buenos resultados en CPNM T790M positivo (*SEOM, 2017*). En caso de que se pudiera desarrollar otra resistencia a éste, como una resistencia terciaria, o una transformación histológica a cáncer de pulmón de células microcíticas, se recomienda la continuación del tratamiento mediante dobletes de platino como por ejemplo cisplatino/carboplatino más taxanos como paclitaxel, nab-paclitaxel o perimetrexed, un antifolato multidiana. (*Oronsky et al., 2018*).

También puede darse el caso de que la resistencia generada provenga a raíz de una histotransformación de células no microcíticas a células microcíticas o pequeñas. En estos casos se obvia el paso por la terapia de osimertinib, pasando directamente a un tratamiento por dobletes de platino. Los estudios sobre cómo sucede, y cuáles son los mecanismos exactos son escasos todavía. En caso de que el cáncer siga progresando entonces se pasará a una terapia con captotecinas, por ejemplo, el topotecán, un citotóxico inhibidor de la topoisomerasa I (*Shang-Gin et al, 2018*).

Pueden surgir otras complicaciones como puede ser la metástasis. La metástasis cerebral en CPNM tiene una incidencia de un 25-30%, pero dicha incidencia puede aumentar hasta un 44-63% cuando el EGFR se encuentra mutado. Dependiendo de la distribución de las lesiones se decide el tratamiento. En caso de que la lesión sea aislada se continuará con el tratamiento de los iTK acompañado de técnicas de radiocirugía o resección (*Shang-Gin et al, 2018*). En caso de que haya múltiples lesiones se continúa con el tratamiento con iTK pero además se emplea una técnica específica para radioterapia cerebral conocida como WBRT (Whole Brain Radiation Therapy) (*Oronsky et al., 2018*).

En caso de que se produzcan a partir de otros mecanismos a nivel sistémico, dependerá de la velocidad de crecimiento y expansión y del tipo de progresión que tenga el cáncer para adecuar un tratamiento en concreto. Los inhibidores de la TK del EGFR se siguen usando en el caso de que se produzca una progresión gradual, y en el caso de que se produzca una progresión local. En este último caso también se aconseja acompañar la terapia de los iTK con tratamiento local. Sin embargo, en el caso de que

la progresión sea demasiado rápida, se recurrirá directamente a una terapia citotóxica basada en dobletes de platino (*Oronsky et al., 2018*).

En cualquier caso, la resistencia a las líneas terapéuticas alternativas deja a un amplio grupo de pacientes que no tienen tratamiento definido, y que dependerá de futuras investigaciones para poder superar dichas resistencias tanto a los inhibidores de la TK como a la quimioterapia citotóxica (*Oronsky et al., 2018*).

3.2. Cáncer de mama.

El cáncer de mama es el tipo cáncer con mayor incidencia en las mujeres (24,2% de nuevos casos en mujeres), representando un 11,6% de los nuevos diagnósticos totales (2.089.000 al año), solo por detrás del cáncer de pulmón, y el quinto más letal representando un 6,6% de las muertes totales por cáncer (*Globocan, 2018*).

Clínicamente podemos clasificar al cáncer de mama en 4 subtipos moleculares, luminal A y luminal B, de factor de crecimiento epidérmico humano subtipo 2 (HER 2), y el tipo basal. Los subtipos luminales A o B producen tumores con mutación en receptores hormonales, el subtipo HER 2 produce tumores HER 2 positivos, y el tipo basal no es positivo ni en receptores hormonales ni en HER 2, por lo que generan tumores llamados triple negativo. El mejor pronóstico lo tiene el subtipo luminal A, mientras que el peor pronóstico es el subtipo basal (*SEOM, 2019*). El subtipo HER 2 representa un 25%-30% de los casos, y además existen datos que lo relacionan con fenotipos agresivos y malos resultados (*Segovia-Mendoza et al., 2015*).

Los fármacos con acción inhibitoria del EGFR, ya sea a nivel de la TK o a nivel del dominio extracelular, que se utilizan en el tratamiento de cáncer de mama HER 2 positivo son trastuzumab o pertuzumab, anticuerpos monoclonales anti-EGFR, y lapatinib o neratinib, inhibidores de la TK del EGFR. Todos ellos son fármacos en distintas líneas tratamiento, pero cuyo fin resulta ser el mismo: la inhibición en mayor o menor medida de la actividad del EGFR.

Adicionado al hecho de que el receptor de tipo salvaje HER 2 se encuentra sobreexpresado en el 25% de los cánceres de pecho, *Bose et al.* reportó en 2013 que además un 1,6% de los pacientes con cáncer de mama tienen una mutación en ErbB 2 aun cuando no se encuentra sobreexpresado. De hecho, descubrieron que de 1499

pacientes que carecían de amplificación en HER 2, 25 de ellos poseían mutaciones en el mismo.

En total se identificaron dos mutaciones en el dominio extracelular, pertenecientes al codón 309, y otras tres pertenecientes al codón 310. Además, se encontró una mutación en el codón 1220, que configura la estructura de la cola carboxiterminal, añadiendo también 12 mutaciones dentro del dominio kinasa. La mutación más habitualmente identificada fue la L755S que corresponde a la parte final de la hebra- β 3 de HER 2. Al menos 7 de estas mutaciones aumentaban la señalización del ErbB 2, activando el receptor o aumentando la capacidad de formación de tumores en xenoinjertos en ratones. *Bose et al.* en sus investigaciones descubrieron que la L755S, era insensible a lapatinib, que hasta entonces había presentado la IC50 más efectiva, sin embargo, el resto de las mutaciones identificadas resultaron ser sensibles a la actividad de neratinib, un inhibidor irreversible de ErbB 2 (*Bose et al., 2013*).

El tratamiento inicial para este tipo de cáncer se basa en la utilización de trastuzumab, un anticuerpo monoclonal que une a HER 2 en el dominio extracelular. Pero de manera irremediable se generan resistencias hacia el tratamiento en muchos de los casos, por lo que se empezaron a tratar también con pequeñas moléculas inhibidoras de la TK de HER 2, o duales de EGFR y HER 2 (*Segovia-Mendoza et al., 2015*).

Si hablamos de la terapia para el cáncer de pecho avanzado, el tratamiento es intrincado, por lo que se utilizan diversos métodos. Si el cáncer de mama es localizado se recurrirá preferentemente a la cirugía. En caso de que ésta no sea posible, se pasará a los fármacos de primera línea, basados en trastuzumab y pertuzumab, dos anticuerpos monoclonales anti EGFR, y a taxanos (docetaxel o paclitaxel), mientras que trastuzumab-emtansine representa la segunda línea de tratamiento. Agotadas estas líneas, en la tercera línea quedarían lapatinib o trastuzumab en diferentes combinaciones, como son lapatinib con capecitabina, trastuzumab con quimioterapia citotóxica o la combinación de lapatinib con trastuzumab como tratamiento de tercera línea. Lapatinib con letrozol también puede utilizarse como terapia neoadyuvante, con objeto de reducir el tamaño del tumor previamente a una cirugía (*Rokoski, 2019*).

En cuanto al papel de neratinib, un inhibidor de la TK de segunda generación y derivado de cloroanilino-quinazolina, en el tratamiento de este tipo de cáncer se reduce a su uso como adyuvante extendido, tras el tratamiento adyuvante de trastuzumab. Neratinib posee un residuo de acrilamida que le permite formar un aducto covalente con C805, localizado próximo al sitio de unión del ATP con HER 2 (Rokoski, 2019). Según *Canonici et al.* neratinib puede sobrellevar la resistencia primaria generada hacia trastuzumab en el cáncer de pecho HER 2 amplificado. Muchos ensayos clínicos fueron llevados a cabo para investigar el papel que podría tener neratinib en este tratamiento, demostrando gran eficacia tanto en solitario, como en combinación con otros fármacos quimioterápicos en fases tempranas del cáncer de pecho mutación HER 2 positiva.

3.3.1. Cáncer colorrectal (CCR).

El cáncer colorrectal es el tercer tipo de cáncer más diagnosticado (10,8% del total), tan solo por detrás del cáncer de pulmón y el cáncer de mama, y es además el segundo más letal de entre todos por detrás del cáncer de pulmón, representando un 9,2% de la muertes totales por el cáncer en 2018 (Globocan, 2018). El 90% de los cánceres colorrectales son adenocarcinomas que provienen de pólipos benignos, que pasan a ser precancerosos, el 10% restante son adenocarcinomas coloides o mucinosos (SEOM, 2019).

Gracias a las técnicas diagnósticas como el análisis de sangre oculta en las heces, la endoscopia o la radiología, se puede detectar y diagnosticar esta enfermedad en una etapa más temprana para así reducir al máximo la mortalidad, ya que por norma general el tratamiento de indicación consiste en una cirugía de resección del fragmento donde se asienta el tumor, solo en caso de que esto no fuera posible, o por lo menos de manera directa, se usaría tratamiento farmacológico complementario (SEOM, 2019). Es decir, el CCR no es tan letal *per se* ya que normalmente se detecta en estadíos tempranos, donde los tumores son de menor tamaño y localizados por lo que los riesgos son mucho menores. Pero aproximadamente el 50% de los pacientes que padecen de CCR desarrollan a su vez metástasis, de hecho, la mayoría de muertes que se le atribuyen al CCR son debidas a metástasis hepáticas letales (SEOM, 2019).

En cuanto al tratamiento farmacológico se basa en el uso de quimioterápicos, que incluyen anticuerpos monoclonales del EGFR y otros fármacos biológicos y un inhibidor de gran variedad de tirosinas kinasa. El tratamiento farmacológico es normalmente recomendado a partir del estadio dos y en función del estado del paciente y sus características, además de la existencia o no de metástasis, siempre como tratamiento acompañante a la cirugía (*SEOM, 2019*).

La utilización de inhibidores del EGFR en CCR se centra en el tratamiento del CCR metastásico cuando la configuración de RAS es de tipo salvaje (*Birkman et al., 2018*). En la primera línea farmacológica del CCR metastásico se suelen usar el fluorouracilo (FU) en monoterapia (*van-Emburch et al., 2014*), metabolito activo de la capecitabina, cetuximab en monoterapia (*SEOM, 2019*), FU combinado con bevacizumab y las terapias combinadas de FU/oxaliplatino junto con cetuximab o panitumumab (anticuerpos monoclonales anti-EGFR) o FU/irinotecán junto con cetuximab, todo ello suplementado con ácido folínico excepto en cetuximab en monoterapia. Estas últimas terapias combinadas suelen usarse ya en estadios más avanzados, pero tienen el mismo fin: prolongar la supervivencia o incluso curar la enfermedad completamente (*van-Emburch et al., 2014*).

Por lo que, se utilizan anticuerpos monoclonales del EGFR en primera línea en combinación con diferentes quimioterápicos, pero mutaciones secundarias que producen resistencia adquirida suelen surgir a los 12-13 meses de tratamiento (*van-Emburch et al., 2014*). Las mutaciones secundarias más relevantes se dan en los genes de la familia RAS (KRAS, NRAS y BRAF), ya que existen estudios que demuestran que cuando RAS tiene una configuración nativa, es decir, cuando no tiene ninguna mutación secundaria, tanto cetuximab como panitumumab pueden ser activos (*SEOM, 2019*), en cambio cuando se activan dichos protooncogenes, se generan resistencias a ambos teniendo que depender de terapias farmacológicas basadas en las combinaciones del FU con irinotecán o con oxaliplatino en exclusividad (*van-Emburch et al., 2014*).

4. Perspectivas futuras.

El desarrollo de los inhibidores del EGFR ha sido crucial para el tratamiento de diversos tipos neoplasias las cuales presentan mutaciones activadoras en algún miembro de la familia de ErbB, algunas tan importantes como el cáncer de pulmón, el de mama o el de colon. Esta familia de inhibidores ha sido y es ampliamente investigada durante los últimos años, de hecho, en el caso de los pacientes con CPNM EGFR positivo (como sucede en muchos de los casos de CPNM) tienen un pronóstico clínico más favorable dentro del cáncer de pulmón ya que el armamento terapéutico dirigido al EGFR es muy amplio (*Tomasello et al., 2018*).

Sin embargo, es bien sabido que después de un periodo variable de tratamiento con inhibidores del EGFR, tanto con moléculas pequeñas inhibidores de la TK como anticuerpos de EGFR, se generan resistencias adquiridas en las células cancerígenas que disminuyen o inhiben completamente la acción de los fármacos anti-EGFR. Es por ello imprescindible recalcar la importancia que tendrá la adquisición de nuevo conocimiento en este campo, de manera que se puedan sobrellevar la mayoría de las resistencias y encontrar terapias alternativas para este grupo de pacientes (*Tomasello et al., 2018*).

En cuanto a los inhibidores de la TK en concreto, el desarrollo reciente de la tercera generación ha podido cubrir un gran grupo de pacientes que generaban resistencias tanto a la primera como a la segunda generación, resultando en una reorganización de los algoritmos clínicos de ciertos tratamientos (*Russo et al., 2017*). Ensayos como el FLAURA han dejado claramente establecido que el tratamiento con osimertinib como primera línea de tratamiento en el CPNM es bien tolerado y efectivo, por lo que progresivamente podrían ir sustituyendo a la primera y segunda generación como tratamiento de indicación para la primera línea del CPNM (*Le et al., 2019*).

A pesar de su robusta eficacia como primera línea aún se necesitan más investigaciones para proporcionar la secuencia de inhibidores de la TK del EGFR que en última instancia proporcionará una mayor duración del control de la enfermedad, una supervivencia general más larga y una mejora de la calidad de vida de estos pacientes (*Le et al., 2019*).

Al mismo tiempo, el surgimiento continuo de nuevas resistencias a los inhibidores de la TK de tercera generación obligará a que el papel que juegan en el tratamiento del cáncer vaya evolucionando con las investigaciones y el tiempo. *(Le et al., 2019)*.

Desde luego el desarrollo de los inhibidores irreversibles de la TK específicos de T790M ha supuesto un avance significativo en el tratamiento de pacientes con CPNM. El papel de este grupo de fármacos inhibidores de la TK será en un futuro de servir como primera línea de tratamiento, solo o en combinación, en CPNM *(Weiwei et al., 2017)*. Además, cabe destacar el papel tan importante que juegan los anticuerpos monoclonales del EGFR, utilizados tanto en cáncer de mama como en el CCR metastásico *(SEOM, 2019)*.

Aunque es cierto que el surgimiento de nuevos mecanismos de resistencias a la tercera generación es indicativo de que se deben de estudiar estos mecanismos a fondo en los próximos años, para poder así desarrollar la próxima generación de inhibidores de la TK del EGFR *(Weiwei et al., 2017)*.

CONCLUSIONES

Las conclusiones más destacadas que se pueden hacer a raíz de este trabajo se resumen en los siguientes puntos:

1- La amplificación del gen del EGFR o el aumento de la actividad del receptor debido a mutaciones puntuales, se correlaciona con el surgimiento de diferentes tipos de neoplasias, siendo las más comunes el cáncer de pulmón, el de mama y el colorrectal.

2- La inhibición mediante fármacos específicos del receptor EGFR sugiere evidencia clínica de mejoría en pacientes con cáncer de diferentes tipos, que sean positivos en algún miembro de la familia ErbB.

3- Los tratamientos con inhibidores de la TK de tercera generación deberían ir sustituyendo progresivamente a los de primera y segunda generación como tratamiento de primera línea en algunos cánceres debido a sus buenos resultados clínicos y a su menor probabilidad de efectos adversos.

4- Pasado un tiempo de tratamiento con inhibidores del EGFR, suelen generarse resistencias adquiridas a consecuencia de la selección de líneas celulares con mutaciones y alteraciones fenotípicas que generan resistencias a los inhibidores del EGFR.

5- El surgimiento de nuevas resistencias hacia los inhibidores del EGFR obliga a las investigaciones clínicas al desarrollo continuo de nuevas moléculas para sobrellevar dichas resistencias.

6- Nuevas resistencias surgidas hacia inhibidores de la TK de tercera generación, como la que otorga la mutación C797S indican que la síntesis de nuevas moléculas debe estar encaminada a superar dichas resistencias, pudiendo hablar de lo que algunos refieren como la cuarta generación.

BIBLIOGRAFÍA

1. ACTIP. Monoclonal antibodies approved by the EMA and FDA for therapeutic use. 2017 [en línea]. [Consultado el 17 de mayo de 2019]. Disponible en: <http://www.actip.org/products/monoclonal-antibodies-approved-by-the-ema-and-fda-for-therapeutic-use/>
2. American Cancer Society. Cáncer de pulmón no microcítico. 2016 [en línea]. [Consultado el 1 de abril de 2019]. Disponible en: <https://www.cancer.org/es/cancer/cancer-de-pulmon-no-microcitico/acerca/que-es-cancer-de-pulmon-no-microcitico.html>
3. American Cancer Society. Medicamentos de terapia dirigida para el cáncer de pulmón no microcítico. 2018 [en línea]. [Consultado el 28 de mayo de 2019]. Disponible en: <https://www.cancer.org/es/cancer/cancer-de-pulmon-no-microcitico/tratamiento/terapias-dirigidas.html>
4. Birkman EM, Avoranta T, Algars A, Korkeila E, Lintunen M, Lahtinen L. EGFR gene copy number decreases during anti-EGFR antibody therapy in colorectal cancer. *Human pathology*. 2018; 82: 163-171.
5. Bose R, Kavuri SM, Searleman AC, Shen W, Shen D, Koboldt DC et al. Activating HER2 mutations in HER2 gene amplification negative breast cancer. *Cancer discovery*. 2013; 3(2): 224-237.
6. Brand TM, Lida M, Wheeler DL. Molecular mechanism of resistance to EGFR monoclonal antibody cetuximab. *Cancer biology & therapy*. 2011; 9: 777-792.
7. Chabon JJ, Simons AD, Lovejoy AF, Esfahani MS, Newman AM, Haringsman HJ et al. Circulating tumour DNA profiling reveals heterogeneity of EGFR inhibitor resistance mechanism in lung cancer patients. *Nat communications*. 2016; 7: 11815.
8. Chang H, Liu Y, Yi W, Lu J, Zhang J. Development and validation of a model to predict tyrosine kinase inhibitor-sensitive EGFR mutations of non-small cell lung cancer based on multi-institutional data. *Thoracic cancer*. 2018; 9: 1680-1686
9. Drugbank. Canertinib. 2019 [en línea]. [Consultado el 17 de mayo de 2019]. Disponible en : <https://www.drugbank.ca/drugs/DB05424>
10. Drugs. EGFR inhibitors. 2019 [en línea]. [Consultado el 21 de mayo de 2019]. Disponible en: <https://www.drugs.com/drug-class/egfr-inhibitors.html>
11. Globocan. Cancer today. 2018 [en línea]. [Consultado el 27 de mayo de 2019]. Disponible en: <http://gco.iarc.fr/>
12. Huang CH, Powers BC. The evolving role of maintenance therapy using epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitors. *Clinical Medicine Insights*. 2012; oncology (6): 136-147.
13. Huang L, Fu L. Mechanism of resistance to EGFR tyrosine kinase inhibitors. *Acta Pharmaceutica Sinica B*. 2015; 5(5): 390-401.
14. Ismail R, Ismail N, Abuserii S, Abou D. Recent advances in 4-aminoquinazoline based scaffold derivatives targeting EGFR kinases as anticancer agents. *Future Journal of Pharmaceutical Science*. 2016; 2: 9-19.

15. Lahera T, González OJ. El receptor del factor de crecimiento epidérmico y su papel en el desarrollo tumoral. *Revista Habanera de Ciencias Médicas*. 2010; 9(2): 172-180.
16. Le T, Gerber DE. Newer-generation of EGFR inhibitors in lung cancer: How are they best used? 2019; 11(3): 66.
17. Martínez-Useros J, García-Foncillas J. The challenge of blocking a wider family of EGFR against head and neck squamous cell carcinoma. Elsevier Science. 2015; *Oral oncology* (51): 423-430.
18. Minari R, Bordi P, Tiseo M. Third-generation epidermal growth factor receptor-tyrosine kinase inhibitors in T790M-positive non-small cell lung cancer: review on emerged mechanism of resistance. *Transl Lung Cancer Res*. 2016; 5(6): 695-708.
19. Mok TS, Wu YL, Thongprasert S, Yang CH, Chu DT, Saijo N et al. Gefitinib o carboplatin-paclitaxel in pulmonary adenocarcinoma. *The New England Journal of Medicine*. 2009; 361: 947-957.
20. Muntasell A, Cabo M, Servitja S, Tusquets I, Martínez-García M, Rovira A et al. Interplay between Natural Killer Cells and anti HER 2 antibodies: perspectives for breast cancer immunotherapy. *Frontiers in immunology*. 2017; 8: 1554.
21. Mushin M, Graham J, Kirkpatrick P. Gefitinib. *Nature reviews*. 2003; *Drug discovery* (2): 515-516.
22. Oronsky B, Ma P, Reid TR, Cabrales P, Lybeck M, Oronsky A. Navigating “No man’s land” of TKI failed EGFR mutation-positive non-small cell lung cancer (NSCLC), a review. *Neoplasia Journal*. 2018; 20: 92-98.
23. Ou SI. Second generation epidermal growth factor receptor (EGFR) tyrosine kinase inhibitor (TKis): A better mouse trap? A review of the clinical evidence. *Critical reviews in oncology/hematology*. 2012; 83: 407-421.
24. Páez JG, Jänne PA, Lee JC, Tracy S, Greulich H, Gabriel S, et al. EGFR mutations in lung cancer: correlation with clinical response to gefitinib therapy. *Science*. 2004; 304: 1497-1500.
25. Ping W, Zhixiang W. Epidermal growth factor receptor cell proliferation signaling pathways. *Mdpi journal, cancers*. 2017; 9: 52-96.
26. Rodríguez-Ramos J. (2013). *Desarrollos y aplicaciones de la microscopía de fuerzas para el estudio de proteínas y células cancerosas*. Tesis de licenciatura no publicada. Universidad Autónoma de Madrid, Madrid, España.
27. Rokoski R. Small molecules inhibitors targeting the EGFR/ErbB family of protein tyrosine kinases in human cancers. *Pharmacological Research*. 2019; 139: 395-411.
28. Rosell R, Carcereny E, Gervais R, Vegnenegre A, Massuti B, Felip E et al. Erlotinib versus standard chemotherapy as first-line treatment in European with advanced EGFR mutation-positive non-small-cell lung cancer (EURTAC): a multicentre, open label, randomised phase 3 trial. *The Lancet Oncology*. 2012; 13: 239-246.
29. Russo A, Franchina T, Ricciardi GRR, Smiroldo V, Picciotto M, Zanghi M et al. Third generation EGFR TKis in EGFR-mutated NSCLC: where are we now and

- where are we going. *Critical reviews in Oncology/Hematology*. 2017; 117: 38-47.
30. Segovia-mendoza M, González-González ME, Barrera D, Díaz L, García Becerra L. Efficacy and mechanism of action of the tyrosine kinase inhibitors gefitinib, lapatinib and neratinib in the treatment of HER2-positive breast cancer: preclinical and clinical evidence. *Am J Cancer Res*. 2015; 5(9): 2531-2561.
 31. Shang-Gin W, Jin-Yuan S. Management of acquired resistance to EGFR TKI-targeted therapy in advanced non-small cell lung cancer. *Molecular cancer*. 2018; 17: 38-51.
 32. Sociedad Española de Oncología Médica. Cáncer de colon y recto. 2019 [en línea]. [Consultado el 25 de mayo]. Disponible en: <https://seom.org/info-sobre-el-cancer/colon-recto?start=6>
 33. Sociedad Española de Oncología Médica. Cáncer de mama. 2019 [en línea]. [Consultado el 25 de mayo]. Disponible en: <https://seom.org/info-sobre-el-cancer/cancer-de-mama?showall=1>
 34. Sociedad Española de Oncología Médica. Las cifras del cáncer en España. 2019 [en línea]. [Consultado el 27 de marzo de 2019]. Disponible en: <https://seom.org/dmccancer/las-cifras-del-cancer-en-espana-2019/>
 35. Sociedad Española de Oncología Médica. Osimertib (Tagrisso) en cáncer de pulmón no microcítico. Informe SEOM de evaluación de fármacos. Madrid: SEOM; 2017.
 36. Tan AC, Teh YL, Lai GG, Tan DS. Third generation EGFR TKI landscape for metastatic EGFR mutant non-small cell lung cancer (NSCLC). 2019. *Expert review of anticancer therapy*. 2019; 19(5): 3.
 37. Tan CS, Barr N, Huang Y, Li Y, Rou-En J, Goh B et al. Third generation EGFR TKIs: current data and future indications. *Molecular cancer*. 2018; 17: 29.
 38. Threes KS, Paweletz CP, Felip E, Cho B, Stetson D, Dougherty B et al. Acquired EGFR C797S mediates resistance to AZD9291 in advanced non-small cell lung cancer harboring EGFR T790M. *Nat Med*. 2015; 21(6): 560-562.
 39. Tomasello C, Baldessari C, Napolitano M, Orsi G, Grizzi G, Bertolini F et al. Resistance to EGFR inhibitors in non-small cell lung cancer: clinical management and future perspectives. *Critical reviews in Oncology/Hematology*. 2018; 123: 149-161.
 40. U.S National Library of Medicine. Neratinib [en línea]. [Consultado en mayo de 2019]. Disponible en: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/9915743>
 41. Van-Emburgh BO, Sartore-Bianchi A, Di-Nicolantonio F, Siena S, Bardelli A. Acquired resistance to EGFR-targeted therapies in colorectal cancer. *Molecular Oncology*. 2014; 8: 1084-1094.
 42. Vilorio-Petit A, Crombet T, Jothy S, Hicklin D, Bohlen P, Schlaeppli JM et al. Acquired resistance to the antitumor effect of epidermal growth factor receptor blocking-antibodies *in vivo*: A role for altered tumor angiogenesis. *Cancer research*. 2001; 61: 5090-5101.

43. Weiwei H, Yongli D. Recent development of the second and third generation of irreversible epidermal growth factor receptors inhibitors. *Chem.biodiversity*. 2017; 14: e1600372.
44. Wee P, Wang Z. Epidermal growth factor receptor cells proliferation signaling pathways. *MDPI journal*. 2017; *Cancers* 9(5):2
45. Xie H, Lin L, Tong L, Jiang Y, Zheng M, Chen Z et al. AST1306, a novel irreversible Inhibitor of Epidermal Growth Factor receptor 1 and 2, exhibits antitumor activity both *in vitro* and *in vivo*. *Plos One*. 2011; 6(7): e21487.
46. Yang JC, Wu YL, Schuler M, Sebastian M, Popat S, Yamamoto N et al. Afatinib versus cisplatin-based chemotherapy for EGFR mutation-positive lung adenocarcinoma (LUX-Lung 3 and LUX-Lung 6): analysis of overall survival data from two randomised, phase 3 trial. *The Lancet Oncology*. 2015; 16: 141-151.
47. Zerecero O, Valle A, Weiss B, Soto I. El receptor para el factor de crecimiento epidérmico (EGFR) y su relación con el cáncer. *Vertientes*. 2012, 15(1): 15-25

