Este trabajo tiene una finalidad docente. La Facultad de Farmacia no se hace responsable de la información contenida en el mismo.

**UNIVERSIDAD COMPLUTENSE**

**FACULTAD DE FARMACIA**

Trabajo de fin de grado. Departamento de Farmacología (Farmacognosia y Farmacología Experimental)

# TRATAMIENTO DEL CÁNCER COLORRECTAL DESDE UNA PERSPECTIVA CRONOFARMACOLÓGICA

Autor: Herrera Castañeda, Cristhian

Tutora: Oliver Gómez, Francisca.

Convocatoria: Julio

Este trabajo tiene una finalidad docente. La Facultad de Farmacia no se hace responsable de la información contenida en el mismo.

**RESUMEN**

¿Y si fuera posible que los efectos adversos de los tratamientos farmacológicos fueran mínimos y los efectos deseados máximos dependiendo del momento de su administración? La respuesta a esta cuestión la proporciona la cronofarmacología, una reciente disciplina desconocida por gran parte de los profesionales sanitarios y cuyo uso se basa en la existencia de ritmos biológicos de aproximadamente 24 horas en la fisiología y también en la fisiopatología de los organismos, de tal manera que la efectividad y toxicidad de los fármacos varía dependiendo del momento del ciclo circadiano en que son empleados. Este hecho resultaría muy beneficioso para el tratamiento de todas las patologías, pero su uso es de especial interés en el tratamiento del cáncer, pues este es eminentemente citotóxico y una aproximación cronoterápica de la quimioterapia conseguiría mejorar considerablemente la calidad de vida de los pacientes.

La presente revisión bibliográfica se ha centrado en la cronofarmacología del cáncer colorrectal, una de las principales causas de mortalidad mundial, con el fin de comparar la efectividad del tratamiento cronoterápico frente al convencional.

## INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES

### Cronobiología y cronofarmacoterapia

La evolución del tratamiento de las enfermedades humanas ha sufrido un cambio impresionante en la historia, destacando la aparición e implantación de la terapia farmacológica en el siglo pasado como la base de todo tratamiento. No obstante, la farmacoterapia hasta nuestros días tiene un componente fundamentalmente posológico ya que se centra en el control de las dosis a administrar, pero apenas presta atención al momento en que se debe hacer. La mayoría de las veces, el momento de administración de los fármacos no tiene un fundamento científico y sólo suele atender a tomarlo o no con las comidas, o por la mañana o noche para facilitar la adherencia. Frente a esta situación surgen una serie de preguntas: (i) ¿es ésta es la aproximación más correcta?; (ii) ¿debería seguir siendo así?; (iii) ¿qué aspectos se obvian que podrían mejorar los tratamientos?

Nace entonces una disciplina propia de la Farmacología, la cronofarmacología, para contestar a esas preguntas con un claro objetivo, mejorar la eficacia y seguridad de la farmacoterapia.

La Cronobiología es la rama de la Biología y Fisiología que estudia los ritmos “circadianos” (del Latín: circa = sobre; dies = día), es decir, aquellos que se repiten con una periodicidad de aproximadamente 24 horas. Sin embargo, para que un ritmo sea circadiano es necesario que cumpla el requisito de que dicha oscilación ocurra cada 24 horas, incluso bajo condiciones constantes (en

ausencia de estímulos externos). Estos ritmos biológicos, gobernados por "relojes" endógenos del hipotálamo, son adaptaciones que permiten anticipar las periodicidades ambientales.

De hecho, la alteración de determinados procesos como el desarrollo, proliferación y diferenciación celular, que tienen sus propios ritmos biológicos, está estrechamente vinculada con patologías como el cáncer. Este hecho hace que no pasemos por alto el potencial valor de la cronobiología celular en la terapia oncológica, consiguiendo una mayor eficacia de la quimioterapia, siendo éste el principal foco del presente trabajo.

**¿Pero qué es el cáncer?** Es una enfermedad de etiología variada (ver tabla 1) y la principal causa de muerte a nivel mundial, siendo según la OMS *(Organización Mundial de la Salud)*, la responsable de 8.2 millones de muertes en 2012. Consiste en la alteración (por acumulación de mutaciones genéticas y epigenéticas), de los mecanismos que regulan la proliferación, diferenciación y supervivencia celular. Dichas alteraciones resultan en el crecimiento y proliferación celular incontrolada (tumor o neoplasma), invasión de tejidos adyacentes y en casos más graves, propagación por el organismo interfiriendo con la función normal de los tejidos sanos y dificultando el control de la enfermedad (metástasis). No obstante, no todo tumor se considera cáncer, ya que estos pueden ser *benignos* o *malignos* (ver tabla 2).

**Tabla 1.** Etiología del cáncer en humanos [16]

| **80%** | | **20%** |
|---|---|---|
| **Agentes físicos** | **Agentes químicos** | **Virus** |
| - Agentes iniciadores: alteran el ADN<br>- Promotores tumorales: estimulan la proliferación (ésteres de forbol, estrógenos)<br>"*Implicación protooncogenes (celulares) y genes supresores de tumores" | | "*Implicación de oncogenes víricos" |
| **El estudio sobre los virus tumorales ha sido fundamental para una mejor comprensión del cáncer permitiendo la identificación de los oncogenes y protooncogenes celulares, que están implicados en el desarrollo de cánceres no inducidos necesariamente por virus. Por otra parte, aproximadamente la mitad de todos los cánceres son causados por una mutación en un gen supresor de tumor, genes que normalmente interactúan con factores de inhibición del crecimiento para bloquear la división celular.* | | |

**Tabla 2.** Tipos de tumores [16]
*Tumor (neoplasma): masa celular que carece de control proliferativo*

| *En función de su malignidad* | | En función de | | |
|---|---|---|---|---|
| **Benignos** | **Malignos (cáncer)** | **Célula de procedencia** | **Tejido de origen** | **Célula involucrada** |
| No invade tejidos adyacentes | Capaz de invadir y diseminarse (metástasis) | Carcinomas: células epiteliales | de pulmón, mama, colon | |
| Capaz de malignizarse | | Sarcomas: células de tejidos conectivos (músculos, hueso, cartílago, tejido fibroso, etc…) | | Fibrosarcomas |
| | | Linfomas o leucemias: células hematopoyéticas y del sistema inmune | | Leucemias eritroides |

Los 5 tipos de cáncer más frecuentes que causan la muerte en varones son (de más a menos): pulmón, estómago, hígado, colorrectal y esófago, mientras que, en mujeres son: mama, pulmón, estómago, colorrectal y cervical.

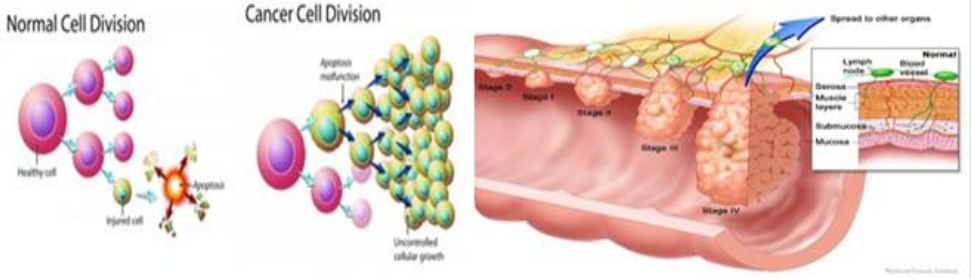
*Este trabajo tiene una finalidad docente. La Facultad de Farmacia no se hace responsable de la información contenida en el mismo.*

Este trabajo tiene una finalidad docente. La Facultad de Farmacia no se hace responsable de la información contenida en el mismo.

### Desarrollo del cáncer

El comportamiento celular anormal de las células cancerosas permite distinguirlas de las sanas por medio de una serie de propiedades que además son útiles como dianas en los tratamientos. El origen clonal de los tumores no implica que la célula progenitora original que da lugar al tumor tenga, en principio, todas las características de una célula cancerosa. Por el contrario, el desarrollo del cáncer es un ***proceso multietapa***, en el que las células se convierten en malignas progresivamente (ver Fig. 1) [16]. A partir de este punto, en este trabajo, cuando hablemos de cáncer nos estaremos refiriendo a tumores malignos y concretamente al cáncer colorrectal (CCR), cuya agresividad es debida a su capacidad para metastatizar y resistir los tratamientos farmacológicos [34].

**Fig. 1.** Representación de la división de células normales y cancerosas y de la evolución tumoral.




*La **iniciación del tumor**: se debe a una alteración genética de variada etiología (ver tabla 1) que provoca la proliferación anormal de una única célula dando lugar a una población clonal de células tumorales. Su **progresión** tiene lugar a medida que se producen mutaciones adicionales en las células de la población tumoral, lo que les confiere una ventaja selectiva (**selección clonal**) que les permite dominar dentro de esa población. Como resultado, el tumor está formado por una población heterogénea de células tumorales con una capacidad invasora cada vez mayor.*

## OBJETIVOS

El presente trabajo tiene como fin:

1) Profundizar en las bases de la cronofarmacología, la etiología, las características y el tratamiento del cáncer colorrectal y en especial en el abordaje terapéutico del cáncer colorrectal desde un punto de vista cronofarmacológico.

2) Determinar la relevancia clínica que tiene la cronoterapia respecto al tratamiento convencional del cáncer colorrectal.

## METODOLOGÍA

El planteamiento de los objetivos comentados surgió como consecuencia de la lectura de varios libros de cronobiología y cronofarmacología. Una vez enfocado el trabajo y propuestos los objetivos, se realizó una exhaustiva revisión bibliográfica que contempló una búsqueda más especializada en bases de datos de reconocido prestigio, siendo PubMed la más consultada de todas.

También se recurrió alguna vez a Scopus, ProQuest, que proporcionaron alguno de los artículos utilizados en el trabajo.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Características del cáncer colorrectal (CCR)

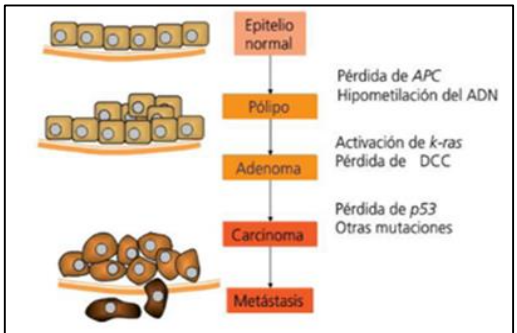



**Figura 2.** Representación esquemática de la secuencia adenoma-carcinoma y su relación con alteraciones genéticas.

El CCR se desarrolla a partir de una mucosa colónica normal que sufre una serie de cambios genéticos, ocasionando neoplasia intraepitelial y crecimiento de lesiones adenomatosas que progresa hacia un cáncer invasivo. Se ha propuesto un modelo genético conocido como "**secuencia adenoma-carcinoma"** (figura 2), que conecta las alteraciones genéticas y su orden de aparición con los diferentes estadios del desarrollo tumoral [34]. A diferencia de los modelos lineales de CCR, se reconoce ahora que la carcinogénesis se ajusta mejor a un modelo ramificado, sujeto a una gran heterogeneidad (ver figura 3) [33]. Así, como se esquematiza en la figura 2, el proceso se inicia como una *fase de pólipos* asociada a mutaciones en el gen supresor tumoral APC que causa la transcripción de varios genes (gen APC mutado > 80% de CCR). También se produce hipometilación del ADN, que en conjunto forma una pequeña neoplasia benigna (pólipo). El proceso sigue con una *fase adenomatosa* asociada con una frecuencia del 10-50% de los casos a mutaciones del gen k-ras que provocan un incremento en su función. Esto resulta en la sobreexpresión de una proteína que participa en numerosas vías de transducción de señales, favoreciendo la proliferación e invasión. Estas mutaciones se asocian con hipertrofia e hiperplasia celular. Por último, la *fase de carcinoma* surge de los adenomas benignos y se caracteriza por la invasión de la lámina basal hasta el tejido conectivo adyacente. Se asocia en un 70% de los casos a la pérdida del gen supresor p53, que se activa en respuesta a mutaciones y

**Tabla 3.** Cáncer colorrectal (CCR) [34]

| **Propiedades de las células cancerígenas en el CRC** | **Factores implicados** |
|---|---|
| Insensibilidad a las señales antiproliferativas | P53, PTEN, APC |
| Independencia señales externas de crecimiento) | EGFR, KRAS, BRAF |
| Interacciones célula-célula y célula-matriz alteradas (*menor adhesión y gran capacidad de metástasis*) | |
| Insensibilidad al fenómeno de inhibición por contacto | |
| Secreción de proteasas | Metaloproteinasas (colagenasa) |
| Angiogénesis | VEGF |
| Diferenciación alterada (*bloqueo en estado temprano de diferenciación seguido de proliferación activa continua*) | |
| Escape de la apoptosis o muerte celular programada | P53, MLH1 |
| Potencial replicativo ilimitado (*telomerasa*) | TERT |
| Evasión de la respuesta inmune | IL-8 |
| Reprogramación del metabolismo celular | PI3K, AKT, c-MYC |
| Invasión y metástasis | Cdc-42, RhoA GTPase |

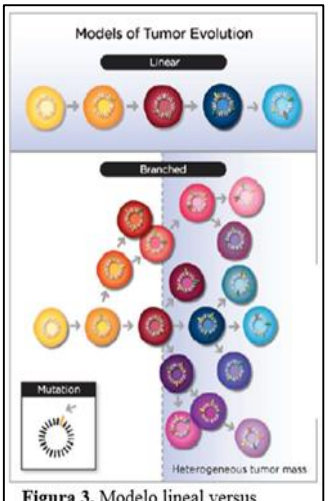



**Figura 3.** Modelo lineal versus modelo ramificado. Este último explica la gran heterogeneidad celular de la masa tumoral.



Este trabajo tiene una finalidad docente. La Facultad de Farmacia no se hace responsable de la información contenida en el mismo.

promueve la reparación o apoptosis según el daño, por lo que al perder la proteína reguladora codificada por el mismo ya no se limita la aparición de nuevas mutaciones. En la tabla 3, se resumen los biomarcadores y características de las células del CCR. La capacidad de resistir la quimioterapia, que condiciona la agresividad del CCR, se debe a las características del nicho ambiental que rodea al tumor y a su heterogeneidad celular (ver figura 3).

**Ritmos circadianos y CCR**

Los ritmos circadianos en tejidos tumorales y sanos pueden influir en la susceptibilidad del tumor y de los diferentes órganos diana frente a los agentes citotóxicos, respectivamente [19]. Los fármacos usados en la quimioterapia del CCR interaccionan con el ADN reduciendo las funciones replicativas y/o transcripcionales y ocasionando así la muerte celular (citotóxicos) o reduciendo la proliferación (citostáticos). El inconveniente es que estos fármacos afectan a las células tumorales y a los tejidos sanos con alta tasa proliferativa (mucosa oral, tracto gastrointestinal, piel…). Estudios en modelos animales y humanos muestran la existencia de patrones circadianos en funciones gastrointestinales (motilidad, absorción, actividades enzimáticas y secreciones) [18]. Pero para el tema que tratamos en este trabajo son los ritmos circadianos de división/proliferación celular los que resultan de mayor interés. Los ciclos de división celular (ver Fig. 4) están coordinados por una familia de quinasas dependientes de ciclinas (Cdks), que son sintetizadas y degradadas en periodos cortos de tiempo muy definidos [18]. Por tanto, se trata de un proceso secuencial de una duración aproximada de 24 horas distribuido en: fase G1 (10 h), fase S (6h), fase G2 (4h) y fase M (0,5-1h) [19]. A partir de los estudios revisados, se resumen en la tabla 4 los ritmos biológicos del ciclo de división celular en células colónicas de personas sanas.

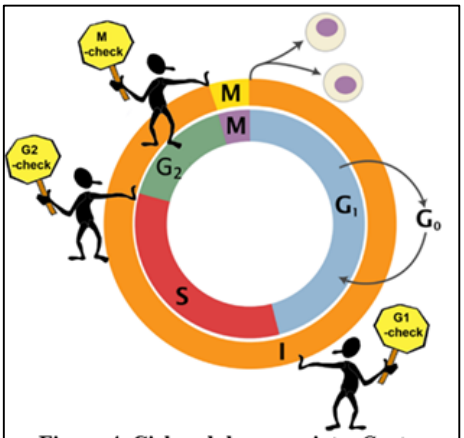



**Figura 4. Ciclo celular eucariota.** *Cuatro fases definen el ciclo celular: gap 1 (G1: repuesta a factores de crecimiento que promueven el crecimiento celular, presíntesis de ADN y acumulación de proteínas), fase S (replicación del ADN), gap 2 (fase de postsíntesis o premitótica) y fase M (mitosis). La fase S es la de mayor susceptibilidad a agentes citotóxicos (intercalantes, antimetabolitos). Además, a lo largo del ciclo habrá varios puntos de restricción que evitan una división incontrolada.*

**Tabla 4.** Ritmos biológicos (actividad división celular) en colon de personas sanas

| Tipo de célula, tejido u órgano | Fase ciclo | Máximo | Mínimo | Cita |
|---|---|---|---|---|
| Células epidérmicas y de mucosa rectal | M | 00:00-04:00 am | | [23] |
| Células de mucosa rectal y piel | S | 08:00-20:00 | 00:00-04:00 am | [11][23] |
| Células de mucosa rectal | S | 07:00 am | | [19] [5] |

Los ritmos circadianos afectan también a la concentración de metabolitos en compartimentos celulares, destacando el glutatión reducido (GSH), cuyas concentraciones fluctúan un 45% al



Este trabajo tiene una finalidad docente. La Facultad de Farmacia no se hace responsable de la información contenida en el mismo.

comparar las concentraciones máximas y mínimas [2, 6, 8]. El glutatión participa en procesos detoxificantes y parece tener un papel importante como protector celular frente a los antitumorales.

Se ha descrito que en tejidos tumorales la división celular tiende a perder su ritmicidad [23]. Más aún, se han identificado marcadores circadianos a nivel celular y fisiológico en pacientes con CCR que se relacionan con la prognosis y respuesta farmacológica del paciente (ver tabla 5). Así, la cronoterapia se basaría en la identificación de marcadores circadianos de valor predictivo y en la evaluación precisa de su patrón en cada paciente con CCR. De estos parámetros, los más utilizados tanto por su carácter predictivo como por su fácil evaluación, son los ritmos de actividad-reposo (**) y cortisol [8].

**Tabla 5:** Marcadores del ritmo circadiano

| Marcador | Sujetos con cáncer | Relevancia en CCR | Cita |
|---|---|---|---|
| Niveles de CEA (*) | En sujetos sanos ritmo estable con acrofase durante la tarde; En pacientes con cáncer se reduce la amplitud del ritmo. Su desaparición es criterio de malignidad. Su reaparición indica un tratamiento eficaz y buen pronóstico | Muy utilizado para tumores sólidos. | [23] [10] |
| Tª corporal | | Aplicación muy limitada, poca precisión de diagnóstico. No relevancia clínica en CCR | [23] |
| Cortisol plasmático y salival | Ritmo anormal cuando hay un descenso < 40% en las concentraciones plasmáticas entre las 8:00 y 16:00h | El ritmo del cortisol no es un factor pronóstico de calidad de vida o de supervivencia, pero sí refleja el estado del sistema circadiano. | [23] |
| Ciclo actividad –reposo (**) | Ritmo anormal cuando el coeficiente de autocorrelación para 24 h < 0,28 (poco reproducible de un día a otro).<br>Índice de dicotomía I<O: relación entre la actividad motora determinada por actimetría en cama (I) y fuera de la cama (O). | Pacientes con CCR con un ciclo de actividad-reposo marcado duplican el % de supervivencia a 4 años en comparación con los que tienen un ritmo menos marcado. El valor pronóstico de este ciclo es independiente de factores como el estatus funcional, órganos metastásicos o grado afectación hepática por el tumor. Buen indicador de la respuesta a quimioterapia. | [23] |
| Estatus funcional (***) | Sólo se validan los ritmos individuales en pacientes con buen estatus funcional. Aquellos pacientes con estatus funcional pobre presentan una ritmicidad alterada. | El estatus funcional se utiliza en la actualidad para valorar cuál es el tratamiento más óptimo para los pacientes con cáncer y también en CCR | [1] [19] [35] |

(*)Antígeno Carcinoembrionario

El ritmo de actividad-reposo, además de estar relacionado con la supervivencia, es un buen indicador de la respuesta del paciente a la quimioterapia. En pacientes con un ritmo poco definido o ausente la cronoterapia puede no ser eficaz. La restauración del sistema circadiano de pacientes con cáncer mediante diferentes terapias (luminoterapia, melatonina, higiene del sueño o ejercicio físico a determinadas horas) es una línea de investigación interesante y con potencial para mejorar la eficacia del tratamiento.

El estatus funcional mide la capacidad de pacientes con cáncer para realizar actividades cotidianas. Resulta evidente que la función circadiana de cada paciente (determinada por ritmos en la división celular; ritmos en la absorción, activación, metabolismo y excreción de fármacos; ritmos



Este trabajo tiene una finalidad docente. La Facultad de Farmacia no se hace responsable de la información contenida en el mismo.

endocrinos e inmunológicos), puede justificar la existencia de grandes diferencias interindividuales en el pronóstico y evolución del cáncer (como ocurre en el cáncer colorrectal metastásico [23]). De hecho, dada la estrecha relación entre factores clave en la regulación del ciclo celular y los genes reloj, múltiples estudios han propuesto que el deterioro del reloj circadiano podría conducir al desarrollo de enfermedades. De hecho, la pérdida de la expresión de genes del reloj circadiano se ha asociado con un peor pronóstico en cáncer de mama [32].

Es común que los ritmos de susceptibilidad del hospedador y del tumor estén desfasados, lo que mejora la eficacia de los tratamientos. Así, sincronizando y segregando las células tumorales ("*sincronización diferencial*") sería posible tratar en el momento de máxima sensibilidad tumoral y menor toxicidad para el individuo. Sin embargo, estos estudios apenas se encuentran en sus inicios.

**Citostáticos y citotóxicos: cronotoxicidad, cronotolerancia y cronofarmacocinética**

Para implementar un protocolo cronoterápico deben conocerse los ritmos circadianos de mayor tolerancia frente a los fármacos (cronotolerancia), ya que la administración en dicho momento es más segura y eficaz. Estos ritmos para humanos se estiman a partir de los hallados en roedores (ver figura 5). A su vez, la cronotolerancia en animales se puede determinar de forma global (supervivencia), o específica (hora de mayor tolerancia renal, digestiva, hematopoyética, etc.). El modo más sencillo de determinar la tolerancia global se basa en la administración de la dosis letal 50 (DL50) en diferentes momentos circadianos. La tasa de mortalidad oscila entre un 0-80% según las horas del día [23].

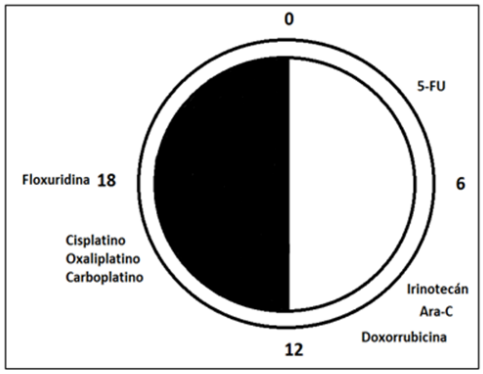



**Figura 5.** Representación de la máxima tolerancia a varios agentes antitumorales en roedores. El tiempo es expresado en "horas tras el encendido de las luces" (HALO), lo cual requirió la previa sincronización de estos durante 3 semanas con una alternancia de 12 horas de luz y 12 de oscuridad [11] [20].

Teniendo como referencia la figura 5, varios estudios en ratones han demostrado que el fármaco Ara-C (citarabina), que actúa específicamente en la fase S, causa menos toxicidad cuando es administrado durante el periodo de luz (que corresponde en ratones con el periodo de descanso-sueño) que cuando es administrado durante el periodo de actividad nocturna. Este hallazgo se corrobora con un estudio que demuestra que la menor síntesis de ADN en ratones ocurre durante la fase de reposo (el día) y que coincide con el momento de menor toxicidad no sólo frente a Ara-C, sino también

**Tabla 6.** Tabla que indica los determinantes celulares implicados en la cronotolerancia a ciertos citotóxicos.

| Biologic function | Drug |
|---|---|
| Reduced glutathione | Cisplatin, oxaliplatin |
| Nonprotein sulfydryl groups | |
| Enzymatic activities | |
| Dehydropyrimidine dehydrogenase | 5-Fluorouracil, floxuridine |
| Deoxythymidine kinase | |
| Dihydrofolate reductase | Methotrexate |
| Topoisomerase I | Irinotecan |
| $O^6$-alkylguanine methyltransferase | Cystemustine |
| Cellular proliferation | |
| DNA synthesis (S-phase) | 5-Fluorouracil |
| | Irinotecan |



Este trabajo tiene una finalidad docente. La Facultad de Farmacia no se hace responsable de la información contenida en el mismo.

frente a la doxorrubicina, un fármaco que afecta a la síntesis de ADN [3]. Así, la hora de máxima tolerancia varía de un agente antitumoral a otro para la misma diana, mientras que para un mismo fármaco difiere según la diana y vía de administración. Estudios recientes han demostrado que los principales determinantes de la cronofarmacología de los antitumorales son los ritmos circadianos de los enzimas implicados en el metabolismo de xenobióticos o en la regulación del ciclo celular (ver tabla 6) [20].

### Farmacoterapia del CCR

El tratamiento del cáncer puede contemplar el uso de cirugía, radioterapia y quimioterapia. Como nos centramos en la cronofarmacología del CCR, prestamos más atención a los tratamientos farmacológicos que a los quirúrgicos, sin obviar la importancia de estos últimos. Antitumorales y antibióticos comparten el fundamento de uso: explotan su mayor facilidad de acceso a las células tumorales frente a las sanas dada su eminente capacidad proliferativa y elevado metabolismo.

Aunque los fármacos más utilizados actualmente son los agentes citotóxicos, presentan importantes limitaciones respecto al perfil de seguridad y eficacia. En primer lugar, al afectar sólo a las células en división no se dirigen específicamente a las células cancerosas en fase de reposo, por lo que apenas tienen efecto sobre otros aspectos de la progresión tumoral (invasión tisular, metástasis o pérdida de la diferenciación). En segundo lugar, estos agentes se asocian con una elevada incidencia de efectos adversos (supresión de la médula ósea, alopecia, mucositis, náuseas y vómitos). A continuación, se describen las estrategias empleadas en la quimioterapia (QT) (ver tabla 7):

**Tabla 7.** Estrategias empleadas en la quimioterapia

| | |
|---|---|
| **QT de combinación** | Más eficaces que la monoterapia. |
| **QT adyuvante** | En pacientes propensos a recidiva con el objetivo de erradicar la micrometástasis. |
| **QT neoadyuvante o de inducción** | QT antes de cirugía o radioterapia en pacientes con enfermedad local avanzada para controlar la enfermedad preservando los órganos y favorecer la supervivencia. |
| **QT a dosis elevada** | Muchos fármacos tienen un perfil curva dosis-respuesta lineal y su uso a dosis elevadas está limitado por el riesgo de mielosupresión. *Hecho soslayable mediante el empleo de la cronoterapia*. |
| **Biomarcadores de referencia** | Marcadores moleculares que predicen la eficacia de los fármacos. Entre ellos hay genes (Farmacogenética). Aunque su evaluación no es frecuente, en algunos casos es esencial para anticiparse al fallo terapéutico y hacia la individualización de los tratamientos. |

**Figura 6.** Representación de la extensión de la resección de un carcinoma de colon descendente o sigmoideo.

Objetivo del tratamiento del CCR: eliminar el segmento canceroso de intestino, el mesenterio con su drenaje linfático, y cualquier otro órgano que haya sido invadido directamente por el tumor.

La resección quirúrgica constituye la piedra angular del tratamiento contra el CCR (ver figura 6) [29], mientras que la quimioterapia adyuvante o neoadyuvante y la radioterapia son utilizadas en subgrupos específicos de pacientes.

Este trabajo tiene una finalidad docente. La Facultad de Farmacia no se hace responsable de la información contenida en el mismo.

En el tratamiento del CCR *es la etapa avanzada o metastásica (CCRm: Cáncer Colorrectal Metastásico) la que requiere una mejor optimización de los tratamientos, por lo que el uso aquí de la cronofarmacología cobra especial relevancia.*

La quimioterapia con citotóxicos constituye el punto de partida para el tratamiento del CCRm en el siglo pasado. La primera quimioterapia combinada contemplaba el uso de 5-FU (5-Fluorouracilo) y ácido folínico (Leucovorin). De acuerdo a un meta-análisis, esta terapia proporcionaba un 23% de respuestas objetivas y una supervivencia media de 12 meses en pacientes previamente no tratados [Advanced Colorectal Cancer Meta-Analysis Project 1992]. Posteriormente, más fármacos citotóxicos (complejos de coordinación de platino e inhibidores de topoisomerasa) se adhirieron a dicha terapia, y de la combinación de estos fármacos surgen los esquemas terapéuticos que se utilizan en la actualidad (ver tabla 8 y tabla 9).

**Tabla 8.** Mecanismo de acción de los agentes **citotóxicos** más empleados en CCRm

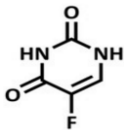
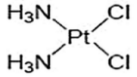
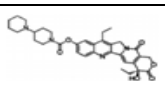
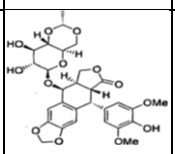
| Grupo terapéutico | Estructura | Fármaco | Mecanismo de acción |
|---|---|---|---|
| Antimetabolitos: inhibidores de la biosíntesis de pirimidinas |  | 5-FU, capecitabina | Inhibidor irreversible (suicida) de la enzima timidilato sintasa (TS), que cataliza la transformación de dUMP en ácido timidílico, que es necesario para la obtención de bases nitrogenadas y posteriormente ácidos nucleicos. El ácido tetrahidrofólico actúa como cofactor. Se produce la muerte atímica de la célula. |
| Complejos de coordinación del platino |  | Cisplatino, carboplatino oxaliplatino | Forman enlaces irreversibles con las bases del ADN, forman puentes cruzados, provocando la inhibición de la replicación, transcripción y reparación del ADN. |
| Inhibidores de topoisomerasa I (derivados de la camptotecina) |  | Irinotecan, topotecan | Inhiben la topoisomerasa I, enzima que corta y vuelve a enrollar las hebras de ADN durante la fase de síntesis. |
| Inhibidores de topoisomerasa II (derivados de la podofilotoxina) |  | Etopósido | Forman complejos con la enzima topoisomerasa II y el ADN, inhibiendo la acción de la enzima y provocando la escisión de las hebras de ADN. Inhiben el transporte de nucleósidos y su incorporación a los ácidos nucleicos. |

**Tabla 9.** Quimioterapias de combinación para el tratamiento del CCRm

| Esquemas terapéuticos | Fármacos utilizados |
|---|---|
| FOLFOX | 5-Fluorouracilo + Leucovorin + Oxaliplatino |
| FOLFIRI | 5-Fluorouracilo + Leucovorin + Irinotecan |
| FOLFOXIRI (IFLO) | 5-Fluorouracilo + Leucovorin + Oxaliplatino + Irinotecan |
| CAPOX | Capecitabina + Oxaliplatino |

No obstante, en las últimas décadas el interés se ha centrado en el desarrollo de nuevos agentes con mecanismos de acción más selectivos. Surge así la *terapia dirigida*, cuyo objetivo es actuar en una diana o vía metabólica bien definida que, al ser inactivada, ocasionaría la regresión o destrucción del proceso maligno. Las principales estrategias se han centrado en el desarrollo de anticuerpos monoclonales o moléculas pequeñas dirigidas.

Este trabajo tiene una finalidad docente. La Facultad de Farmacia no se hace responsable de la información contenida en el mismo.

Anticuerpos monoclonales:

Para el tratamiento del CCRm destacan especialmente los dirigidos a los factores de crecimiento epidérmico y vascular endotelial.

*Receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR o HER1)*: proteína transmembrana con un dominio extracelular de unión a ligando, una región lipofílica transmembrana y un dominio intracelular con actividad tirosina quinasa. La unión del sustrato al receptor provoca la dimerización del complejo receptor-ligando, que es posteriormente internalizado. El cambio conformacional activa el dominio tirosina quinasa mediante autofosforilación, desencadenando la estimulación de vías de transducción de señales que conducen a la proliferación celular, invasión y metástasis. La amplificación del gen egfr y la sobreexpresión de la proteína que codifica se identifican en numerosos cánceres, y su asociación, con una proliferación aumentada, metástasis y mal pronóstico.

- Anticuerpos anti-EGFR: *cetuximab* (Ct), que presenta la misma afinidad por el receptor que el ligando endógeno natural bloqueando el efecto del factor de crecimiento epidérmico y el efecto del factor transformante alfa. *Panitumumab* (Pt) es otro anticuerpo más reciente.

La detección de la expresión positiva de EGFR por tinción inmunohistoquímica no predice el resultado de estos tratamientos y ello ha llevado a la evaluación de biomarcadores alternativos. Por ejemplo, las mutaciones del gen k-ras representan la activación oncogénica a nivel de las vías de señalización de EGFR, y se asocian con un pronóstico negativo del CCRm y como un predictor negativo de la respuesta frente a inhibidores de EGFR. Se investigan otros biomarcadores (estado mutacional de Braf y PIK3CA), cuya presencia ha sido descrita en el CCR. Además, niveles bajos de expresión de PTEN (phosphatase and tensin homolog) también han sido asociados con una escasa respuesta a la terapia.

*Inhibidores de la angiogénesis*: la angiogénesis es la formación de nuevos vasos sanguíneos desencadenada por la hipoxia y regulada por estimulantes e inhibidores. Este proceso es vital en el desarrollo del cáncer y depende de la degradación de la matriz extracelular que rodea al tumor por metaloproteinasas (colagenasa), que están sobreexpresadas en algunos tumores.

La sobreexpresión del factor de crecimiento vascular endotelial (VEGF) se relaciona con alta proliferación tumoral y mal pronóstico. Los antiangiogénicos tienen una actividad más citostática que citotóxica, por lo que estabilizan y previenen la expansión tumoral. Por eso, pueden ser utilizados en combinación con fármacos citotóxicos, a modo de terapia de mantenimiento en cánceres de estadio temprano o a modo de tratamiento adyuvante tras una radioterapia o cirugía definitiva. Existen evidencias por las cuales la supresión de la angiogénesis mantendría la metástasis en estado latente. Sorprendentemente, el desarrollo de resistencias no parece una característica de estos fármacos.



Este trabajo tiene una finalidad docente. La Facultad de Farmacia no se hace responsable de la información contenida en el mismo.

- Anticuerpos anti-VEGF: *bevacizumab* (BV) es el primer fármaco antiangiogénico en producir mejora en la supervivencia en un ensayo randomizado con irinotecán, 5-Fluorouracilo y leucovorin en CCRm [21]. En la actualidad no existen biomarcadores que estén validados y permitan estimar la eficacia que tendrá el tratamiento con anticuerpos anti-VEGF.

Moléculas pequeñas dirigidas frente al EGFR (inhibidores reversibles competitivos del ATP):

*Gefitinib* y *erlotinib* inhiben la proteína tirosina quinasa del EGFR, bloqueando su cascada de señales e inhibiendo el crecimiento, proliferación y desarrollo de varios tumores sólidos.

**Diagnóstico del CCRm:** la sospecha de enfermedad metastásica ha de ser siempre confirmada por un diagnóstico de imagen e histológico adecuado.

**Tratamiento específico del CCRm [35] [30]**

La estrategia comienza evaluando las características del paciente (condición general, función orgánica, comorbilidades) y de los parámetros dependientes de la enfermedad (localización, simultaneidad en la presentación de las metástasis, estado de los biomarcadores). Todo ello tiene lugar en el seno de un Comité Multidisciplinar (CMD). La condición general del paciente y el estatus funcional son fuertes factores predictivos y pronósticos. A partir del estado funcional se clasifica al paciente de 2 maneras, y ello determina el objetivo del tratamiento (ver diagrama 1) a seguir. Los pacientes clasificados como "unfit" son aquellos que por sus características no son candidatos a todas las opciones terapéuticas disponibles, en cambio, los pacientes "fit" sí lo son.

La gran mayoría de pacientes con CCRm no son resecables inicialmente pero son intervenibles tras una terapia de combinación llamada "*terapia de conversión",* enfocada en convertir a pacientes con enfermedad irresecable en resecable. Han de emplearse para ello los esquemas con mayor tasa de respuestas, *por lo que en esta situación los esquemas cronoterápicos resultarían de gran utilidad*.

La mutación en Ras es un marcador predictivo negativo de la eficacia de las terapias anti-EGFR (Ct y Pt), por lo que su determinación es ineludible al considerar su utilización. Dicho análisis debe detectar al menos la existencia o no de mutaciones en una serie de exones. El uso de Ct o Pt en el tratamiento de pacientes con CCRm sólo debe aplicarse si no existe mutación en RAS ("RAS nativo"). La existencia de mutación en BRAF es también un marcador pronóstico negativo del CCRm y ello hace recomendable su determinación.

En ausencia de contraindicación, el tratamiento debería asociar QT y terapia biológica (anti-VEGF o anti-EGFR si el estatus de RAS es nativo). Se consideran opciones de quimioterapia de primera línea las compuestas por dobletes con oxaliplatino (FOLFOX y CAPOX) o dobletes con irinotecan (FOLFIRI). El triplete de citotóxicos (FOLFOXIRI) incrementa la tasa de respuestas, con



*Este trabajo tiene una finalidad docente. La Facultad de Farmacia no se hace responsable de la información contenida en el mismo.*

unas mayores tasas de toxicidad, pero su uso puede estar indicado en pacientes seleccionados. Por tanto, *en este último esquema puede resultar interesante el empleo de la cronoterapia.*

La asociación de QT con BV incrementa la eficacia, y los resultados de su empleo son independientes del estado mutacional de RAS. La asociación FOLFOXIRI/BV incrementa significativamente la tasa de respuestas y la supervivencia global, siendo el resultado también independiente del estado mutado o nativo de RAS y BRAF.

En pacientes en los que se estabiliza la enfermedad o respuesta tras un periodo de inducción pero no es posible cirugía, otras alternativas deberían evaluarse para disminuir la toxicidad acumulativa al tratamiento o incluso permitir intervalos libres del mismo**.** *Aquí podría tener cabida la cronoterapia.*

Por último, deberán hacerse reevaluaciones cada 2-3 meses ya que podrán variar los objetivos del tratamiento y las estrategias previamente establecidas (ver diagrama 2).

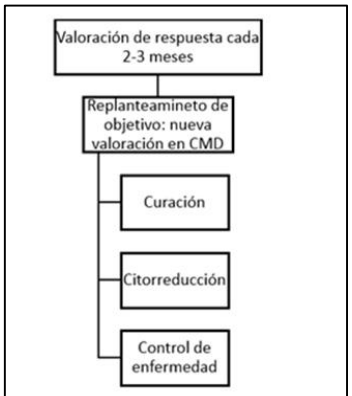



**Diagrama 2**. Representación de la importancia de reevaluar al paciente periódicamente.

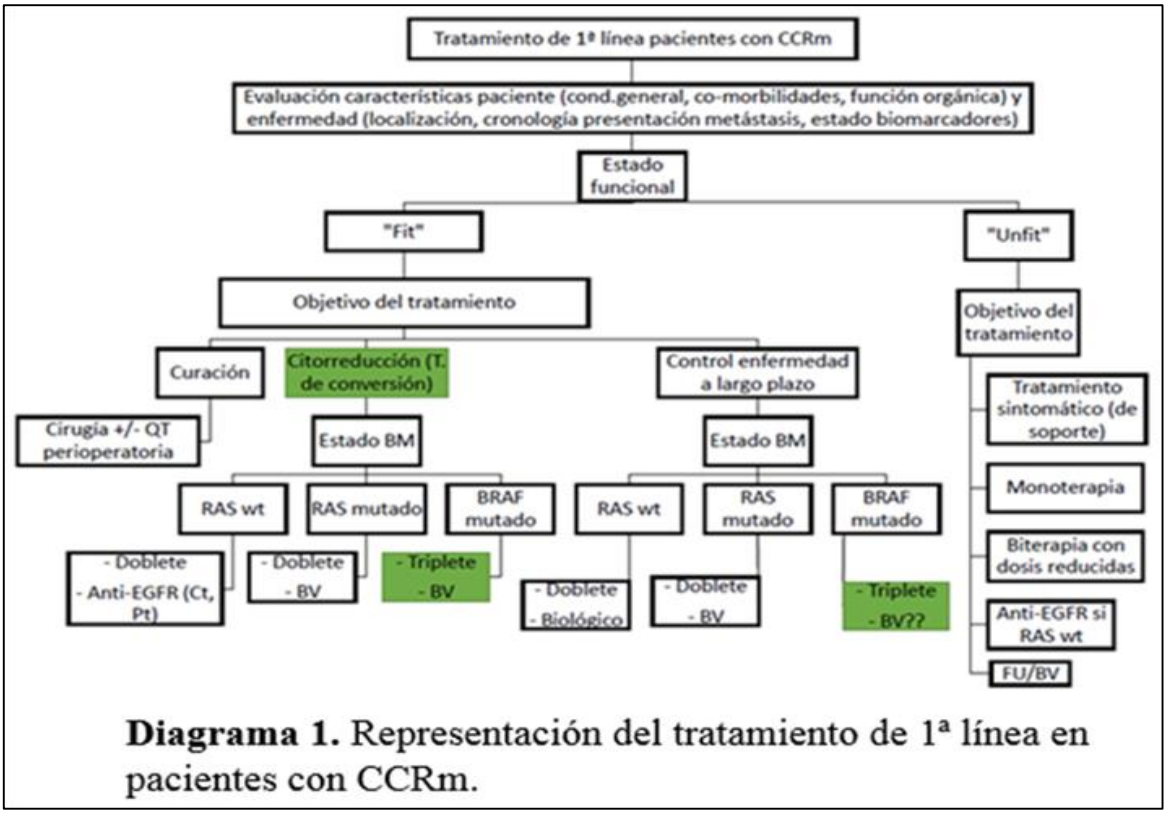



**Diagrama 1.** Representación del tratamiento de 1ª línea en pacientes con CCRm.

*Este trabajo tiene una finalidad docente. La Facultad de Farmacia no se hace responsable de la información contenida en el mismo.*

Este trabajo tiene una finalidad docente. La Facultad de Farmacia no se hace responsable de la información contenida en el mismo.

**Cronoterapia en pacientes con CCRm**

Estudios experimentales en animales permiten extrapolar los momentos de máxima tolerancia a antineoplásicos en humanos. En cuanto a los fármacos de interés en CCR, dichos momentos son: 5-FU y LV (04:00 am), y complejos de platino (16:00 pm) (ver figura 7). A continuación, se ilustran algunos ensayos cronomodulados:

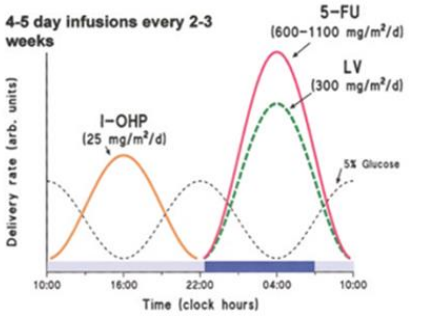



**Figura 7:** Cronoterapia basada en tres fármacos (FOLFOX) contra el CCRm. El gráfico muestra el perfil cronomodulado de infusión del 5-FU, Leucovorin (LV) y Oxaliplatino (I-OHP) durante las 24 horas del día. Este ciclo se repite durante 5 días.

En un ensayo monoinstitucional en fase II [7] con 93 pacientes con CCRm (46 ya tratados) se programó una cronoterapia ambulatoria (ver figura 7) obteniéndose respuestas objetivas del 58%. Menos del 10% de los cursos se asociaron con toxicidad severa. Los resultados positivos se achacaron a 2 factores: el nuevo fármaco testado (I-OHP: oxaliplatino) y la cronomodulación. Para evaluar el verdadero papel de la cronomodulación se comparó la eficacia de la cronoterapia frente a la terapia convencional en un ensayo randomizado multiinstitucional con 92 pacientes con CCRm [9]. El tratamiento se administró ambulatoriamente de 2 formas: a tasa constante (*esquema A*) y cronomodulada (*esquema B*) con bombas multicanal programables dando respuestas objetivas del 32% y 53%, respectivamente. La estomatitis (mucositis) fue la toxicidad más limitante para la dosis máxima, y en concreto fue 5 veces mayor en el *esquema A*. Además, la dosis media de 5-FU efectivamente administrada fue de 700 mg/m$^2$/d (*esquema B*) y de 500 mg/m$^2$/d (*A*). Es decir, se logró un incremento de la dosis del 22% con la cronoterapia.

Estos resultados fueron corroborados por otro estudio [12] [28] con 186 pacientes con CCRm previamente no tratados, 93 de los cuales recibieron cronoterapia y los 93 restantes infusión constante, obteniéndose respuestas objetivas del 51% y 29%, respectivamente. De nuevo, la cronoterapia fue menos tóxica (reducción de mucositis severa en 5 veces, neuropatía sensorial periférica en el 16% de los que recibieron cronoterapia y en el 31% de los que no). La supervivencia media fue de 16 meses en ambos regímenes, probablemente porque bastantes pacientes se adhirieron a la cronoterapia tras recibir terapia convencional.

Los ensayos cronomodulados sugieren mejoras en la tolerabilidad e intensificación de las dosis, y además se han descrito mejoras en la supervivencia, que en otro estudio multicéntrico fue de 18, 5 meses con respuestas objetivas del 66% [15]. Más allá, en un estudio (retrospectivo) [14] en pacientes con CCRm, aquellos con metástasis hepática inicialmente no resecable pudieron someterse a cirugía tras responder a una *terapia de conversión cronomodulada*. De un total de 151 pacientes, 77 de ellos se beneficiaron de cirugía tras la terapia de conversión, y 55 de estos fueron resecados

completamente. Estos resultados muestran que la cronoterapia sola o combinada con cirugía incrementa el índice terapéutico (IT) de la quimioterapia para el CCRm.

Todo lo descrito es obra de la programación cronoterápica. A continuación, se indican los ritmos circadianos de los determinantes celulares que explican una mejor tolerancia de los agentes citotóxicos (además, ver tabla 10):

- ✓ Existen ritmos en la fase S de células de la mucosa colorrectal y otros tejidos. Esta fase es la de mayor susceptibilidad y cae más del 50% entre las 00:00-04:00 am. Dicho periodo coincide con el de referencia para la administración de 5-FU y LV en el esquema cronoterápico ya comentado (ver figura 7) porque al adecuar la administración al momento de menor síntesis de ADN se observa que menos pacientes experimentan toxicidad severa (la proporción de células sanas en fase S es menor, lo que hace a los tejidos menos susceptibles al daño, y las que están en otra fase tienen más tiempo de reparar el daño sufrido antes entrar en fase S [19]). Por tanto, la administración de 5-FU por la noche reduce potencialmente la proporción de células sanas dañadas.

**Tabla 10.** Tabla que indica los determinantes celulares implicados en la cronotolerancia a ciertos citotóxicos.

| Biologic function | Drug |
|---|---|
| Reduced glutathione | Cisplatin, oxaliplatin |
| Nonprotein sulfydryl groups | |
| Enzymatic activities | |
| Dehydropyrimidine dehydrogenase | 5-Fluorouracil, floxuridine |
| Deoxythymidine kinase | |
| Dihydrofolate reductase | Methotrexate |
| Topoisomerase I | Irinotecan |
| $O^6$-alkylguanine methyltransferase | Cystemustine |
| Cellular proliferation | |
| DNA synthesis (S-phase) | 5-Fluorouracil |
| | Irinotecan |

- ✓ El 5-FU entra en las células y es catabolizado (metabolismo hepático y extrahepático) por la enzima dihidropirimidina deshidrogenasa (DPD), cuya actividad en humanos aumenta cerca de un 40% o más entre las 00:00-04:00 am en comparación con el resto del día [4]. Este hecho contribuye a que la tolerabilidad del 5-FU mejore justo durante el periodo que es administrado en la cronoterapia, evitando su acumulación y elevada toxicidad.

- ✓ El 5-FU es un profármaco que requiere una serie de bioactivaciones, de tal manera que las enzimas anabólicas (orotatofosforribosil transferasa, uridinfosforilasa y deoxitimidina quinasa) que generan las formas tóxicas alcanzan la máxima actividad durante el periodo de actividad humano

Este trabajo tiene una finalidad docente. La Facultad de Farmacia no se hace responsable de la información contenida en el mismo.

y la menor durante la noche, lo que permite una menor toxicidad para los tejidos sanos si se administra el 5-FU durante la noche [22] [31].

- ✓ La expresión de la DPD y la timidilato sintasa (TS) es alta y baja, respectivamente, durante las primeras horas del periodo de reposo (de noche en humanos y de día en ratones). Por tanto, la diana molecular del 5-FU (TS) es menos activa de noche y alcanza su máximo conjuntamente con el de la fase S (en el día). Los hallazgos en la cronofarmacocinética y cronofarmacodinamia humana del 5-FU explican la mejor tolerabilidad por parte de los tejidos sanos cuando el fármaco es administrado de noche [18] [22].
- ✓ Los experimentos en roedores [17] muestran que el mejor IT para los complejos de platino se obtiene hacia la segunda mitad del periodo de actividad (noche), lo que se trasladada en humanos hacia las 16:00-20:00 pm. Su destacable nefrotoxicidad se mide por la reducción del aclaramiento de creatinina (ClCr). Durante su distribución se unen a proteínas plasmáticas por lo que el daño renal es ocasionado por la fracción libre inalterada en orina. Varios estudios [13] muestran que la mayor reducción en el ClCr (> nefrotoxicidad) se da cuando se administran por la mañana (niveles en orina mayores) y además los vómitos y náuseas son también más intensos. La menor toxicidad por la tarde parece guardar relación con la cronofarmacocinética, y concretamente con los ritmos del GSH, que alcanza sus mayores niveles durante la noche en roedores (fase de actividad) y, por tanto, durante el día en humanos. Se ha visto en ensayos *in vitro* que la depleción del GSH intracelular está asociada con una mayor toxicidad de los antitumorales. Tras la difusión de los complejos de platino al interior celular, se unen irreversiblemente a grupos tiol como los del GSH [24]. Por tanto, esto explica la mejor cronotolerancia cuando se administran por la tarde [28].

## CONCLUSIONES

La dificultad del tratamiento del CCR viene determinada por su capacidad para extenderse a los órganos adyacentes y por la resistencia a los tratamientos farmacológicos, siendo este último hecho debido a la heterogeneidad de las células que conforman el tumor. Ello hace que eliminarlo de raíz se convierta en una tarea muy ardua al quedar siempre alguna micrometástasis o célula no afectada por el tratamiento.

El tratamiento del CCR y del CCRm se caracteriza por una continua investigación que busca siempre encontrar la mejor combinación citotóxica acompañada de terapia biológica. Por tanto, es un tratamiento sujeto a un gran dinamismo. Sin embargo, a pesar del gran número de ensayos clínicos en esta área oncológica, el CCR sigue constituyendo una de las principales causas de mortalidad mundial. A ello se une que los tratamientos disponibles son considerablemente tóxicos para los pacientes, llevando algunas veces a la interrupción de los cursos de quimioterapia.



*Este trabajo tiene una finalidad docente. La Facultad de Farmacia no se hace responsable de la información contenida en el mismo.*

En este contexto, la cronoterapia del CCR no surge como una alternativa más, sino como una manera diferente de enfocar el tratamiento. Los resultados de la cronoterapia no son milagrosos y las tasas de respuesta, aunque sean altas, no van mucho más allá que las de las terapias convencionales. No obstante, su uso está justificado por los buenos resultados a nivel de tolerancia que ha demostrado, permitiendo al mismo tiempo una mejora notable de la eficacia al poderse aumentar la dosis máxima. También es destacable su uso en terapias de conversión que permite una mejor resección. Pero sobre todo, la diferencia se halla en su gran tolerabilidad por parte del paciente y la menor aparición de toxicidad, aspectos que mejoran considerablemente la calidad de vida del paciente.

La cronoterapia del CCR aúna los marcadores que se utilizan en la actualidad en la terapia convencional ("marcadores genéticos") y los marcadores que definen el estado circadiano del paciente ("marcadores del ritmo"). Estos últimos hacen posible evaluar el estado funcional del paciente y permiten predecir cómo responderá ante la quimioterapia. Pero la posibilidad de implantar la cronofarmacología como parte del tratamiento del CCR pasa antes por una exhaustiva investigación de los ritmos más decisivos que determinan la toxicidad de los agentes antitumorales y también por el estudio de los ritmos que permiten predecir la respuesta al tratamiento.

Los ritmos que afectan a la toxicidad de los fármacos antineoplásicos son evidentes a nivel del ciclo celular, enzimas metabolizadoras de xenobióticos y niveles intracelulares de metabolitos. Y son estos ritmos celulares los principales mecanismos implicados en la cronofarmacología de los agentes quimioterápicos, como se ha comentado en el caso del 5-Fluorouracilo y de los complejos de platino.

La implementación de los regímenes cronoterápicos debe ser mejor estudiada, dado que se observa una gran variabilidad interindividual. Ello explica que a veces las respuestas mostradas por diferentes pacientes a mismos tratamientos sean drásticamente distintas. Por eso, la aplicación de la cronoterapia a nivel del CCR dependerá de las características individuales del paciente y sus propios ritmos. Este hecho hace que la cronofarmacología pueda ser considerada como parte fundamental de la medicina personalizada. Por tanto, para aprovechar los buenos resultados arrojados por recientes ensayos clínicos, deberán desarrollarse nuevas técnicas más precisas que permitan evaluar fácilmente todos los ritmos decisivos para la quimioterapia que recibirá dicho paciente. Además, el desarrollo de la cronoterapia va asociado al desarrollo de sofisticados sistemas de liberación modificada de fármacos multicamerales (ya que estas terapias son combinadas), que permitan la administración ambulatoria de la terapia en los momentos precisos del día.

Por otra parte, aunque los regímenes cronoterápicos plasmados en este trabajo sólo incluyen a los fármacos clásicos (aún utilizados y base del tratamiento del CCR), se hace evidente la necesidad



Este trabajo tiene una finalidad docente. La Facultad de Farmacia no se hace responsable de la información contenida en el mismo.

de un estudio riguroso de los ciclos circadianos que comprometen la eficacia del empleo de las diferentes terapias biológicas.

La aplicación de la cronoterapia se encuentra en la actualidad muy lejos de establecerse de manera clara a nivel del tratamiento del cáncer, pero no sólo eso, sino que su impacto es muy escaso, siendo una nueva disciplina muy poco conocida por los profesionales sanitarios. Ello hace necesaria una mayor difusión de los positivos resultados ya comentados en el trabajo, una mayor inversión para impulsar la investigación en esta área y la ejecución de más ensayos clínicos cronomodulados en los que la terapia biológica también siga un esquema cronomodulado. Uno de los factores que podría explicar su escaso desarrollo sería el elevado coste por paciente, debido al empleo de sistemas de liberación controlada, la monitorización de los ritmos y el coste intrínseco de los propios citotóxicos y la terapia biológica. Pero nunca debemos obviar las ventajas que puede suponer a nivel de la tolerabilidad, eficacia, resecabilidad y mejora de la calidad de vida de los pacientes, que al fin y al cabo son el eje de estos tratamientos.

**BIBLIOGRAFÍA**


1. Bailleul F, Levi F, Reinberg A, Mathe G. Interindividual differences in the circadian hematologic time structure of cancer patients. Chronobiology international. 1986;3(1):47-54.
2. Lee FY, Siemann DW, Allalunis-Turner MJ, Keng PC. Glutathione contents in human and rodent tumor cells in various phases of the cell cycle. Cancer research. 1988;48(13):3661-5.
3. Levi F, Blazsek I, Ferle-Vidovic A. Circadian and seasonal rhythms in murine bone marrow colony-forming cells affect tolerance for the anticancer agent 4'-O-tetrahydropyranyladriamycin (THP). Experimental hematology. 1988;16(8):696-701.
4. Harris BE, Song R, Soong SJ, Diasio RB. Relationship between dihydropyrimidine dehydrogenase activity and plasma 5-fluorouracil levels with evidence for circadian variation of enzyme activity and plasma drug levels in cancer patients receiving 5-fluorouracil by protracted continuous infusion. Cancer research. 1990;50(1):197-201.
5. Buchi KN, Moore JG, Hrushesky WJ, Sothern RB, Rubin NH. Circadian rhythm of cellular proliferation in the human rectal mucosa. Gastroenterology. 1991;101(2):410-5.
6. Smaaland R, Svardal AM, Lote K, Ueland M, Laerum OD. Glutathione content in human bone marrow and circadian stage relation to DNA synthesis. Journal of the National Cancer Institute. 1991;83(15):1092-8.
7. Levi F, Misset JL, Brienza S, Adam R, Metzger G, Itzakhi M, et al. A chronopharmacologic phase II clinical trial with 5-fluorouracil, folinic acid, and oxaliplatin using an ambulatory multichannel programmable pump. High antitumor effectiveness against metastatic colorectal cancer. Cancer. 1992;69(4):893-900.
8. Smaaland R, Abrahamsen JF, Svardal AM, Lote K, Ueland PM. DNA cell cycle distribution and glutathione (GSH) content according to circadian stage in bone marrow of cancer patients. British journal of cancer. 1992;66(1):39-45.
9. Levi FA, Zidani R, Vannetzel JM, Perpoint B, Focan C, Faggiuolo R, et al. Chronomodulated versus fixed-infusion-rate delivery of ambulatory chemotherapy with oxaliplatin, fluorouracil, and folinic acid (leucovorin) in patients with colorectal cancer metastases: a randomized multi-institutional trial. Journal of the National Cancer Institute. 1994;86(21):1608-17.
10. Focan C. Circadian rhythms and cancer chemotherapy. Pharmacology & therapeutics. 1995;67(1):1-52.


*Este trabajo tiene una finalidad docente. La Facultad de Farmacia no se hace responsable de la información contenida en el mismo.*

11. Lemmer B. From the biological clock to chronopharmacology: Medpharm; 1996.
12. Levi F, Zidani R, Misset JL. Randomised multicentre trial of chronotherapy with oxaliplatin, fluorouracil, and folinic acid in metastatic colorectal cancer. International Organization for Cancer Chronotherapy. Lancet (London, England). 1997;350(9079):681-6.
13. Ferriols Lisart F. FL, R. Cronofarmacoterapia oncológica. Farmacia Hospitalaria. 1998:261-4.
14. Giacchetti S, Itzhaki M, Gruia G, Adam R, Zidani R, Kunstlinger F, et al. Long-term survival of patients with unresectable colorectal cancer liver metastases following infusional chemotherapy with 5-fluorouracil, leucovorin, oxaliplatin and surgery. Annals of oncology : official journal of the European Society for Medical Oncology / ESMO. 1999;10(6):663-9.
15. Levi F, Zidani R, Brienza S, Dogliotti L, Perpoint B, Rotarski M, et al. A multicenter evaluation of intensified, ambulatory, chronomodulated chemotherapy with oxaliplatin, 5-fluorouracil, and leucovorin as initial treatment of patients with metastatic colorectal carcinoma. International Organization for Cancer Chronotherapy. Cancer. 1999;85(12):2532-40.
16. Cooper GM. The Cell: A Molecular Approach: ASM Press; 2000.
17. Levi F. Circadian chronotherapy for human cancers. The Lancet Oncology. 2001;2(5):307-15.
18. Bjarnason GA, Jordan R. Rhythms in human gastrointestinal mucosa and skin. Chronobiology international. 2002;19(1):129-40.
19. Smaaland R, Sothern RB, Laerum OD, Abrahamsen JF. Rhythms in human bone marrow and blood cells. Chronobiology international. 2002;19(1):101-27.
20. Mormont MC, Levi F. Cancer chronotherapy: principles, applications, and perspectives. Cancer. 2003;97(1):155-69.
21. Hurwitz H, Fehrenbacher L, Novotny W, Cartwright T, Hainsworth J, Heim W, et al. Bevacizumab plus irinotecan, fluorouracil, and leucovorin for metastatic colorectal cancer. The New England journal of medicine. 2004;350(23):2335-42.
22. Levi F. The circadian timing system, a coordinator of life processes. implications for the rhythmic delivery of cancer therapeutics. Conference proceedings : Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society IEEE Engineering in Medicine and Biology Society Annual Conference. 2006;Suppl:6736-9.
23. Madrid JA, de los Ángeles Rol de Lama M. Cronobiología básica y clínica: Editec@Rec; 2006.
24. Levi F, Altinok A, Clairambault J, Goldbeter A. Implications of circadian clocks for the rhythmic delivery of cancer therapeutics. Philosophical transactions Series A, Mathematical, physical, and engineering sciences. 2008;366(1880):3575-98.
25. Folprecht G, Gruenberger T, Bechstein WO, Raab HR, Lordick F, Hartmann JT, et al. Tumour response and secondary resectability of colorectal liver metastases following neoadjuvant chemotherapy with cetuximab: the CELIM randomised phase 2 trial. The Lancet Oncology. 2010;11(1):38-47.
26. Garufi C, Torsello A, Tumolo S, Ettorre GM, Zeuli M, Campanella C, et al. Cetuximab plus chronomodulated irinotecan, 5-fluorouracil, leucovorin and oxaliplatin as neoadjuvant chemotherapy in colorectal liver metastases: POCHER trial. British journal of cancer. 2010;103(10):1542-7.
27. Masi G, Loupakis F, Salvatore L, Fornaro L, Cremolini C, Cupini S, et al. Bevacizumab with FOLFOXIRI (irinotecan, oxaliplatin, fluorouracil, and folinate) as first-line treatment for metastatic colorectal cancer: a phase 2 trial. The Lancet Oncology. 2010;11(9):845-52.
28. Ohdo S. Chronotherapeutic strategy: Rhythm monitoring, manipulation and disruption. Advanced drug delivery reviews. 2010;62(9-10):859-75.
29. Taylor I G-AJ, Ward R. Fast Facts: Colorectal Cancer: Health Press; 2010.
30. Van Cutsem EN, B.; Cervantes, A. Advanced colorectal cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for treatment. Annals of Oncology. 2010;21(5):93-7.
31. Erkekoglu P, Baydar T. Chronopharmacodynamics of drugs in toxicological aspects: A short review for clinical pharmacists and pharmacy practitioners. Journal of research in pharmacy practice. 2012;1(2):41-7.

*Este trabajo tiene una finalidad docente. La Facultad de Farmacia no se hace responsable de la información contenida en el mismo.*

32. Cadenas C, van de Sandt L, Edlund K, Lohr M, Hellwig B, Marchan R, et al. Loss of circadian clock gene expression is associated with tumor progression in breast cancer. Cell cycle (Georgetown, Tex). 2014;13(20):3282-91.
33. González A. Principios de Bioquímica Clínica y Patología Molecular: Elsevier; 2014.
34. Barros-Núñez P R-RM, Barros-Medina P. Hallmarks in Colorectal Cancer: Reprogramming of Metabolic Pathways and Cancer Stem-Like Cells. International Journal of Cancer Research and Prevention. 2015;8(2):243-65.
35. Salgado M. Consenso ESMO 2015: manejo del cáncer colorrectal avanzado. Revisiones en cáncer. 2016:115-21.

*Este trabajo tiene una finalidad docente. La Facultad de Farmacia no se hace responsable de la información contenida en el mismo.*