



**FACULTAD DE FARMACIA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE**

**TRABAJO FIN DE GRADO:
BMP-9 como diana farmacológica**

Autor: Carmen Tapia Tardón

Tutor: Blanca Herrera González

Convocatoria: Junio 2017

Índice

Índice	2
Resumen	3
Introducción y antecedentes	3
1. Cáncer.....	3
2. Angiogénesis	4
3. Terapia antiangiogénica.....	5
4. Superfamilia TGF- β y BMP	8
Objetivos y metodología	9
Resultados y discusión	9
1. Señalización por BMP-9 en células endoteliales.....	10
2. Efectos celulares de la señalización ALK1 en células endoteliales.	11
3. Fármacos con mecanismos basados en la inhibición de ALK1.	12
Conclusiones	16
Bibliografía	17

Resumen

La angiogénesis es la formación de vasos sanguíneos a partir de los que ya existen y se trata de un proceso fundamental en el desarrollo tumores sólidos puesto que necesitan suministro de nutrientes y oxígeno para continuar creciendo. La inhibición de la angiogénesis es, por tanto, una estrategia atractiva para el tratamiento de este tipo de cánceres. Los fármacos antiangiogénicos que ya se usan en la práctica clínica han demostrado un pequeño beneficio, pero en muchos casos las células tumorales han desarrollado resistencias. Se descubrió el papel de BMP-9 en la proliferación de células endoteliales y, en los últimos años, se ha comenzado a investigar una vía diferente por la que inhibir la angiogénesis: el bloqueo de la cascada de señalización que el ligando BMP-9 genera al unirse al receptor de membrana ALK1 de la célula endotelial. En este trabajo se expone el potencial terapéutico de nuevos fármacos en desarrollo que actúan a este nivel a través de la revisión de bibliografía.

Introducción y antecedentes

1. Cáncer

El término cáncer se utiliza para denominar a un conjunto de enfermedades relacionadas, que implican la multiplicación y diseminación descontrolada de formas anormales de las propias células del cuerpo. Normalmente, las células humanas crecen y se dividen para formar nuevas células a medida que el cuerpo las necesita. Cuando las células normales envejecen o se dañan, mueren, siendo reemplazadas por células nuevas. Sin embargo, en el cáncer, este proceso está alterado de manera que, bien sea porque existe un número excesivo de los receptores que median la proliferación y supervivencia celular, porque estos están inadecuadamente activados o porque la cascada de señalización se activa independientemente de la llegada del ligando, la señal de crecimiento mantiene a las células reproduciéndose continuamente, induciendo la formación de tumores ¹.

El cáncer es una de las principales causas de morbilidad y mortalidad en el mundo. Se prevé que el número de nuevos casos aumente aproximadamente un 70% en los próximos 20 años. Según la Organización Mundial de la Salud, los tipos de cáncer que causan un mayor número de fallecimientos son el cáncer de pulmón, hepático, colorrectal, gástrico y mamario ².

El cáncer se produce por la transformación de células normales en células tumorales en un proceso en varias etapas que suele consistir en la progresión de una lesión precancerosa a un tumor maligno. Se acepta generalmente que los cánceres sólidos se desarrollan a través de dos fases, una fase avascular y una fase vascular. Durante la fase avascular inicial, los tumores existen como pequeños agregados de células malignas soportadas por la simple difusión de oxígeno y nutrientes. El crecimiento progresivo de cánceres sólidos requiere la formación continua de nuevos vasos sanguíneos (fase vascular)³.

2. Angiogénesis

La angiogénesis consiste en la formación de nuevos vasos sanguíneos a partir de los ya existentes. A pesar de ser un proceso esencial para diversas funciones biológicas, la regulación anormal de la angiogénesis está implicada en la patogénesis de varios trastornos, incluido el cáncer ⁴. La angiogénesis se inicia como respuesta a la hipoxia tisular con la liberación de citoquinas, que conducen a la vasodilatación de los vasos existentes y al aumento de su permeabilidad. La matriz extracelular circundante comienza a degradarse, facilitando la migración y proliferación de células endoteliales. Tras las células endoteliales en proliferación se encuentra una zona en la que las células comienzan a organizarse para formar el nuevo capilar. Finalmente, estos vasos se fusionan y generan una red vascular que pasará por un proceso de maduración y remodelación para constituir un sistema vascular estable. Este proceso depende del balance entre los factores inhibidores (antiangiogénicos) y los factores que promueven la angiogénesis (angiogénicos). El factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF, *vascular endothelial growth factor*), las distintas familias del factor de crecimiento fibroblástico (FGF, *fibroblast growth factor*), el factor de crecimiento transformante (TGF, *transforming growth factor*) y las angiopoyetinas 1 y 2 están entre los factores angiogénicos identificados ⁵.

La angiogénesis es necesaria para la supervivencia y el crecimiento de cánceres sólidos y por ello, los componentes del eje de señalización de VEGF han sido dianas terapéuticas para el desarrollo de diferentes fármacos. Sin embargo, en las últimas décadas se ha conocido la implicación en la regulación de la angiogénesis de las proteínas morfogenéticas óseas (BMP, *bone morphogenetic protein*), pertenecientes a la superfamilia del factor de crecimiento transformante beta (TGF- β). Dentro de las BMPs,

está adquiriendo importancia el papel que pueda jugar en los procesos de angiogénesis un miembro de la familia de BMPs, como es el BMP-9. De hecho, su receptor de alta afinidad, ALK1 (*activin receptor-like kinase*), se expresa principalmente en células endoteliales y se ha demostrado que actúa como mediador del proceso angiogénico ⁶.

3. Terapia antiangiogénica

Dada la necesidad de los tumores sólidos de crear nuevos vasos que les provean de nutrientes y oxígeno, la inhibición de la angiogénesis ha sido una importante vía de tratamiento. El VEGF se ha utilizado como principal objetivo antiangiogénico en la clínica durante la última década, destacando dos tipos fármacos: los inhibidores del VEGFR tirosín quinasa y los anticuerpos monoclonales ³.

3.1. Inhibidores del VEGFR tirosín quinasa.

Se unen a residuos de tirosín quinasa del receptor de manera que no se desencadena la cascada de señalización intracelular que provoca proliferación y migración de células endoteliales. Por lo general, bloquean más de un tipo de receptor y, por tanto, varías vías de proliferación tumoral. Entre los fármacos con indicaciones aprobadas por la Agencia Europea de Medicamentos (EMA) que inhiben VEGFR usados en el tratamiento de tumores sólidos, se encuentran el sunitinib (Sutent®)⁷, sorafenib (Nexavar®)⁸, pazopanib (Votrient®)⁹, axitinib (Inlyta®)¹⁰ y vandetanib (Caprelsa®)¹¹. Sus dianas, indicaciones y efectos secundarios más frecuentes se encuentran recogidos en la Tabla 1.

3.2. Anticuerpos monoclonales.

Destaca en este grupo el bevacizumab (Avastin®)¹² por ser el fármaco más ampliamente estudiado y el primero en llegar a la clínica. Se trata un anticuerpo monoclonal humanizado producido por tecnología del ADN recombinante. Bevacizumab se une al VEGF, inhibiendo así la unión de éste a sus receptores (VEGFR-1 y VEGFR-2). VEGF no ejerce su actividad, produciendo la regresión de la vascularización de los tumores e inhibiendo su neovascularización. De esta forma se inhibe el crecimiento del tumor. Bevacizumab está indicado para el tratamiento de diferentes cánceres (carcinoma metastásico de colon o recto, cáncer de mama metastásico, cáncer de pulmón no microcítico, cáncer de células renales avanzado y/o metastásico, cáncer de ovario epitelial, trompa de Falopio y peritoneal primario, cáncer de cérvix), siempre asociado a otros fármacos. Las

reacciones adversas observadas con mayor frecuencia en pacientes tratados con bevacizumab fueron hipertensión, fatiga o astenia, diarrea y dolor abdominal ^{3,11}.

Fármaco	Dianas	Indicaciones aprobadas	Efectos secundarios más frecuentes
Sunitinib	Inhibe VEGFR1, VEGFR2, VEGFR3, PDGFR α y β , FLT3, CSF-1R y RET	Tumor del estroma gastrointestinal, carcinoma de células renales metastásico y tumores neuroendocrinos pancreáticos	Disminución del apetito, alteración del gusto, hipertensión, fatiga, diarrea, náuseas, estomatitis, decoloración de la piel y síndrome de eritrodisestesia palmo-plantar
Sorafenib	Inhibe VEGFR2, VEGFR3, PDGFR- β , CRAF, BRAF, KIT y FLT3	Carcinoma hepatocelular, carcinoma de células renales avanzado y carcinoma diferenciado de tiroides	Diarrea, fatiga, alopecia, infección, síndrome de eritrodisestesia palmoplantar y exantema
Pazopanib	Inhibe VEGFR1, VEGFR2, VEGFR3, PDGFR α y β , KIT	Carcinoma de células renales avanzado y sarcoma de tejidos blandos	Diarrea, cambios en el color del pelo y de la piel, erupción cutánea, hipertensión, náusea, dolor de cabeza, fatiga, anorexia, vómitos, estomatitis, disminución de peso, elevaciones de ALT y AST
Axitinib	Inhibe VEGFR1, VEGFR2 y VEGFR3	Carcinoma avanzado de células renales	Diarrea, hipertensión, fatiga, apetito disminuido, náuseas, disfonía, síndrome de eritrodisestesia palmoplantar, hemorragia, hipotiroidismo, proteinuria y estreñimiento
Vandetanib	Inhibe VEGFR2, EGFR y RET	Cáncer medular de tiroides	Diarrea, erupción, náuseas, hipertensión y cefalea
<p>PDGFR: factor de crecimiento derivado de plaquetas. KIT: del receptor de factor de células madre. FLT3: tirosin-kinasa 3 tipo Fms. CSF-1R: factor estimulador de colonias. RET: receptor del factor neurotrófico derivado de la línea celular glial. ALT: alanina aminotransferasa. AST: aspartato aminotransferasa. EGFR: receptor del factor de crecimiento epidérmico.</p>			

Tabla 1. Fármacos inhibidores de las tirosinas quinasas del VEGFR2.

Desafortunadamente el uso de estos agentes antiangiogénicos como monoterapia ha producido solo un modesto beneficio terapéutico en algunos tipos de tumores ¹³. A pesar de dar lugar a mejoras transitorias y aumentar la supervivencia en algunos casos, los tumores comienzan a crecer de nuevo. Esto se debe a que la supresión a largo plazo de la señalización VEGF genera mecanismos compensatorios por otras vías angiogénicas. Se definen dos mecanismos a través de los cuales se produce esta resistencia ¹⁴:

- Resistencia adquirida. Los tumores responden inicialmente y luego continúan creciendo mientras se sigue recibiendo el tratamiento. Aunque no es definitivo, actualmente se acepta que hay al menos cuatro mecanismos adaptativos distintos que manifiestan resistencia a las terapias antiangiogénicas: activación y/o regulación positiva de vías de señalización alternativas proangiogénicas dentro del tumor; reclutamiento de células proangiogénicas derivadas de médula ósea, las cuales pueden obviar la necesidad de señalización de VEGF, reiniciando y continuando con la angiogénesis tumoral; aumento de la cantidad de pericitos de la vasculatura tumoral, sirviendo para mantener su integridad y reducir la necesidad de señalización de supervivencia mediada por VEGF y, por último, activación y mejora de la invasión y metástasis para proporcionar acceso a la vasculatura tisular normal sin neovascularización obligatoria.
- Resistencia intrínseca. Los tumores no responden completamente desde el inicio del tratamiento. Esta resistencia podría deberse a una rápida adaptación e inicio de la resistencia adquirida, aunque se espera que se demuestre una resistencia preexistente en algunos de los casos. Su base podría residir en tumores que ya han activado alguno de los mecanismos anteriores, no en respuesta a la terapia sino más bien como resultado de presiones selectivas de su microambiente durante el desarrollo pre-maligo ¹⁴.

Por todo esto, comienzan a explorarse nuevas terapias basadas en la inhibición de la vía de señalización desencadenada por ALK1, con mecanismos de acción muy distintos: desde proteínas que se unen con alta afinidad a BMP-9 a anticuerpos que bloquean el receptor o neutralizan la endoglina, una proteína ligada a la vía BMP-9/ALK1.

4. Superfamilia TGF- β y BMP

La homeostasis se logra en el organismo mediante un equilibrio cuidadoso de numerosas vías de señalización. La mayoría de las enfermedades humanas surgen de una activación o inhibición inadecuada de estas vías. Uno de los reguladores más ubicuos del desarrollo embrionario, fisiológico y de los procesos celulares es la superfamilia del factor de crecimiento transformante β . La superfamilia TGF- β consta de más de 30 citoquinas relacionadas estructuralmente que incluyen TGF- β s (1, 2 y 3), activinas (A y B), inhibinas (A y B), BMPs (1-20), miostatina, proteínas nodal, leftys (1 y 2) y sustancia inhibidora mulleriana (SIM). Los miembros de la superfamilia TGF- β comparten una estructura conservada de nudo de cisteína, y se expresan en casi todas las células del cuerpo humano. Entre las funciones normales de la superfamilia TGF- β está regular el desarrollo embrionario y la homeostasis celular, incluida la regulación de la proliferación, diferenciación, apoptosis, y la remodelación de la matriz extracelular ¹⁵.

Siete receptores de tipo I y cinco receptores de tipo II emparejados en diferentes combinaciones proporcionan el sistema receptor para toda la familia de TGF- β [Figura 1]. La región citoplasmática de estos receptores contiene un dominio serina/treonina quinasa. Un dominio GS N-terminal al dominio quinasa en los receptores de tipo I proporciona un interruptor para la activación de quinasa. En el estado basal, el dominio GS bloquea el centro activo de la quinasa, reprimiendo la competencia catalítica. La fosforilación dependiente de ligando por un receptor de tipo II cambia el dominio GS de un elemento represor a un sitio de acoplamiento para proteínas Smad ¹⁶.

B	Ligand	Receptor II	Receptor I	Coreceptor	Smad
TGF β	TGF- β 1,2,3	T β R-II	T β R-I	Betaglycan	Smad2,3 with Smad4
	Activin-A,B,C	ActR-IIA,B	ALK4		
	Myostatin	ActR-IIA,B	ALK4		
	Nodal	ActR-IIA,B	ALK4,7	Cripto	
	GDF-1,3	ActR-IIA,B	ALK4,7	Cripto	
	Inhibin	ActR-IIA,B	—	Betaglycan	
	Lefty-1,2	ActR-IIA,B	—	Cripto	
BMP	BMP-2,4	BMPR-II, ActR-II	BMPR-IA,B	RMG-a,b,c	Smad1,5, 8 with Smad4
	BMP-5,6,7	BMPR-II, ActR-II	BMPR-IA, ALK2		
	BMP-9,10	BMPR-II, ActR-II	ALK1	Endoglin	
	GDF-5,6,7	BMPR-II, ActR-II	BMPR-IA,B		
	AMH/MIS	AMHR-II	BMPR-IA, ALK2		

Figura 1. Relación ligando-receptor-correceptor-Smad en la familia TGF- β .¹⁶

Las BMPs son citoquinas multifuncionales que pertenecen a la superfamilia del TGF- β y constituyen la subfamilia más grande, con más de 15 ligandos en mamíferos. La subfamilia BMP puede subdividirse en 7 grupos diferentes: BMP-2 y 4; BMP-5, 6, 7 y 8; GDF-5, 6 y 7; GDF-8 y 11; BMP- 9 (GDF-2) y 10; GDF-1, 2 y 3 y GDF-10 y BMP-3. Inicialmente, se descubrió de las BMPs su capacidad para inducir la formación de hueso y cartílago y regular el crecimiento y la diferenciación de condroblastos y osteoblasto *in vitro*¹⁷. Su papel como morfógenos en el desarrollo temprano también está bien documentado, pero además, actualmente se consideran los principales reguladores de la homeostasis de tejidos adultos. Se ha demostrado la función de regulación que las BMPs llevan a cabo en muchas actividades biológicas, incluyendo proliferación, diferenciación, migración, quimiotaxis y muerte celular en muchos tipos de células diferentes ¹⁸.

Objetivos y metodología

El objetivo de este trabajo es conocer el papel de los fármacos que tienen como diana la vía de señalización desencadenada por BMP-9 en el tratamiento del cáncer mediante la inhibición de los procesos angiogénicos necesarios para el desarrollo del tumor. La información necesaria para el desarrollo de este trabajo procede de una búsqueda bibliográfica realizada en la base de datos Pubmed, en revistas académicas online (Monografías de la Real Academia Nacional de Farmacia) y en el Centro de Información online de Medicamentos de la AEMPS (CIMA).

Palabras clave: BMP-9, TGF- β , ALK1, célula endotelial, angiogénesis, terapia antiangiogénica, anti-ALK1.

Resultados y discusión

La superfamilia TGF- β ejerce sus efectos en diversos compartimentos celulares, especialmente en células epiteliales, fibroblastos, células inmunitarias y células endoteliales y pericitos. TGF- β y BMP-9 son miembros de esta gran familia y provocan diversas respuestas celulares, como detención del crecimiento, supresión inmune, apoptosis y diferenciación celular durante la embriogénesis y la patogénesis.

1. Señalización por BMP-9 en células endoteliales.

Tras su secreción y activación, tanto TGF- β como BMP-9 inician la señalización induciendo complejos heterotetraméricos de serina/treonina quinasa tipo I y tipo II. Su unión da lugar a la propagación de la señal dentro de la célula por fosforilación de proteínas efectoras específicas, denominadas Smads, que se translocan al núcleo, donde moduladores de transcripción colaboran para activar o reprimir la transcripción de genes específicos en la respuesta angiogénica. TGF- β activa ALK1 y ALK5 en la célula endotelial, mientras que BMP-9 solo activa ALK1. La afinidad de BMP-9 por ALK1 es mayor que la de TGF- β , lo que hace que ALK1 sea predominantemente activado por BMP-9 cuando están presentes ambos ligandos. Dependiendo del receptor tipo I que se recluta, se activan diferentes cascadas de señalización Smad; así Smad 1/5/8 son fosforiladas y activadas por ALK1, mientras que Smad 2/3 lo hacen por ALK5. [Figura 2]. Tras la activación de las Smad, ya sean 1, 5 y 8 o 2 y 3, estas deben unirse a Smad 4, la responsable de la translocación del complejo al núcleo ^{16,19}.

Un tercer tipo de receptor de TGF- β , los receptores de tipo III, está representado por endoglina. La endoglina es un receptor auxiliar para la señalización del TGF- β requerido para la angiogénesis durante el desarrollo, la inflamación y la angiogénesis tumoral. No hay actividad quinasa enzimática asociada con endoglina, pero posiblemente mediante la presentación de diversos ligandos a los receptores, la endoglina modula la señalización de ALK1, pero no la señalización de ALK5 ²⁰.

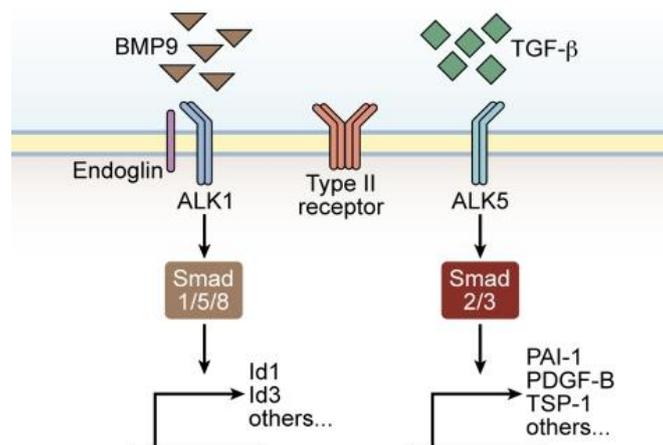


Figura 2. Cascada de señalización de los ligandos TGF- β y BMP-9 a través de los receptores ALK1 y ALK5. ¹⁹

2. Efectos celulares de la señalización ALK1 en células endoteliales.

Varias líneas de evidencia sugieren que el TGF- β regula un equilibrio entre la señalización ALK1 y ALK5 en el endotelio, sin embargo, muchos estudios presentan resultados paradójicos. La activación de la vía de ALK1 por TGF- β conduce a la proliferación y la migración de la célula endotelial como consecuencia de la expresión del gen diana Id1. Si se altera su expresión se inhibe la migración de células endoteliales inducida por ALK1. Otros estudios han demostrado que la administración de una forma activa de ALK1 a células endoteliales *in vitro* inhibe la proliferación, la migración y la adhesión celular, sugiriendo que, en lugar de un activador, ALK1 media la fase de maduración de la angiogénesis. Los motivos para estos resultados opuestos pueden depender de la naturaleza específica del contexto de la señalización de TGF- β , la dosis, el tipo de células, las condiciones de cultivo, así como de los parámetros experimentales artificiales *in vitro*¹⁹. Por otro lado, la activación de ALK5 induce la inhibición de la migración y proliferación de células endoteliales en respuesta a TGF- β , lo que indica que la estimulación de ALK1 y ALK5 da lugar a resultados opuestos^{21,22}.

BMP-9 también presenta efectos dispares en la célula endotelial. Por un lado, BMP-9 muestra efectos antiangiogénicos, inhibiendo la angiogénesis inducida por el FGF en modelos *ex vivo*^{23,24}. En cambio, otros estudios han identificado una inducción de proliferación por BMP-9 en múltiples tipos de células endoteliales y un efecto proangiogénico sobre la angiogénesis tumoral²⁵. Además, se describió un efecto sinérgico de TGF- β con BMP-9, donde la acción combinada de ambos ligandos mejoró la respuesta de la célula endotelial a estímulos angiogénicos, como VEGF y FGF-2, tanto *in vitro* en diferentes líneas celulares como *in vivo*²⁶. Desde el punto de vista molecular, la doble estimulación de células endoteliales con TGF- β y BMP-9 induce una sustancial regulación positiva de productos génicos diana de ALK5, como PAI-1 y PDGF-B. En este contexto es interesante observar que la inhibición relativa, en lugar de los niveles absolutos, de la señalización ALK1 y ALK5 puede ser crucial para la correcta regulación de la expresión génica²⁷.

La endogлина, el receptor accesorio para la señalización de TGF- β , también es fundamental para el desarrollo de los vasos sanguíneos humanos. BMP se une a un complejo receptor compuesto por BMPRII, ALK1 y endogлина, permitiendo así la

fosforilación de Smad 1/5/8, que activa la expresión de genes relacionados con la proliferación endotelial y la maduración ²⁸.

BMP-10 es otro miembro de la familia BMPs que también es un activador funcional de ALK1 y da lugar a efectos celulares comparables a los de BMP-9. Sin embargo, BMP-10 se une a ALK1 con menor afinidad que BMP-9 y se expresa principalmente en el corazón murino. Suprimir BMP-10 conduce a la letalidad embrionaria debido al deterioro del crecimiento cardíaco, lo que sugiere que su acción puede ser específica del tejido cardíaco ²³. Tomados en conjunto, los diversos ligandos BMPs y receptores de tipo I ejercen una diversidad de efectos en células endoteliales, y no todos se explican con el hecho de que los receptores activan el mismo conjunto de mediadores Smad. Algunos estudios sugieren que los complejos de receptores BMP preformados inducen principalmente la señalización dependiente de Smad, mientras que la oligomerización inducida por ligando de receptores de tipo I y tipo II activa predominantemente la señalización no Smad ²⁹. Se sabe también que la elección del receptor de tipo II puede influir en el resultado de señalización de la estimulación de BMP ³⁰. Es evidente que la señalización a través de efectores no Smad y el reclutamiento de distintos receptores de tipo II deben examinarse más a fondo como explicaciones de los diversos efectos.

3. Fármacos con mecanismos basados en la inhibición de ALK1.

Pese a la controversia que existe en el campo de la bioquímica sobre el papel exacto que tiene BMP-9 en el proceso de angiogénesis, la industria farmacéutica ha comenzado ya a diseñar moléculas que bloquean los efectos de este ligando a través de su unión al receptor ALK1. Aunque el patrón y la extensión de la expresión de ALK1 en tejidos humanos normales y malignos todavía no se conoce por completo, sí se sabe de la amplia presencia de ALK1 en vasos sanguíneos tumorales, sobre todo en cánceres de próstata, piel, tiroides, riñón, ovario, pulmón, páncreas e hígado ³¹. Los inhibidores de receptores de activina que bloquean ALK1 que se han estudiado hasta el momento son dalantercept (Acceleron Pharma), PF-03446962 (Pfizer) y TRC105 (Tracon).

3.1 Dalantercept es una proteína de fusión recombinante formada por la unión del dominio extracelular del receptor humano ALK1 y los dominios Fc (bisagra, CH2 y CH3) de la inmunoglobulina G1 humana (IgG1). Dalantercept actúa como una trampa para BMP-9 y BMP-10, inhibiendo así la activación de ALK1 endógeno ³², ³³. En los modelos preclínicos, su versión murina (RAP-041) inhibió la maduración

de las células endoteliales vasculares y alteró el desarrollo vascular, demostrando una potente actividad antitumoral en modelos de ratón transgénico. RAP-041 demostró efectos antitumorales en cáncer de páncreas e inhibió la vascularización y el crecimiento de cáncer de mama. Para caracterizar los efectos de RAP-041 sobre tumores pancreáticos se usó el modelo de ratón RIP1-Tag2 de la tumorigénesis pancreática endocrina. Los tumores, independientemente de la etapa en la que se encontrasen, mostraron una disminución de la densidad vascular y de la perfusión en comparación con los controles. Los resultados de este estudio indicaron que RAP-041 inhibe la angiogénesis tumoral in vivo. Además, durante este mismo estudio, se analizaron mediante RT-PCR los niveles de ALK1 y se encontró que su expresión estaba aumentada significativamente en los islotes angiogénicos pancreáticos de los ratones RIP1-Tag2, en comparación con otras etapas de islotes normales o malignos ²⁶.

RAP-041 demostró la pérdida significativa de formación de vasos in vivo en cáncer de mama en un estudio en el que se usaron ratones desnudos atómicos hembra. A los ratones se les implantaron gránulos de estradiol y se les inyectaron células tumorales de MCF-7-luc-F5, una línea celular de cáncer metastásico de mama. Tras siete semanas, estos animales mostraron una reducción de aproximadamente el 70% en la carga tumoral en comparación con los ratones que no habían recibido este tratamiento, reduciéndose también el peso tumoral final en casi un 75% ³⁴.

El primer estudio en humanos (37 pacientes con tumores sólidos avanzados) concluyó que la administración subcutánea de dalantercept era generalmente bien tolerada y mostró una actividad anti-cáncer preliminar alentadora. La mayoría de los efectos adversos fueron de grado 1 y 2, siendo el más frecuente el edema periférico de las extremidades inferiores, seguido de anemia, telangiectasias y epistaxis ³³.

La Tabla 2 recoge los ensayos de fase 2 de dalantercept. El estudio NCT01458392 finalizó concluyendo que la administración subcutánea de dalantercept en monoterapia en carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello presentaba una modesta actividad antitumoral dosis dependiente. Los resultados obtenidos con dalantercept en monoterapia para el tratamiento de cáncer de endometrio (NCT01642082) no sugieren una actividad suficiente como agente único.

Identificador	n	Indicaciones	Descripción	Estado
NCT01458392	45	Carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello	Monoterapia para carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello recurrente o metastásico previamente tratado con terapia de platino	Completado
NCT01642082	28	Cáncer de endometrio	Monoterapia para cáncer de endometrio persistente o recurrente	Completado
NCT01720173	56	Cáncer de ovario, trompas de falopio	Monoterapia en cáncer de ovario persistente o recurrente	En curso
NCT01727336	174	Carcinoma de células renales	Dalantercept y axitinib vs placebo y axitinib en carcinoma avanzado de células renales con 3 líneas previas de tratamiento, incluyendo un VEGF-TKI	En curso
NCT02024087	20	Carcinoma hepatocelular	Dalantercept y sorafenib para carcinoma hepatocelular avanzado local o metastásico	En curso

Tabla 2. Estudios en fase 2 de dalantercept en monoterapia y en combinación y estado en el que se encuentran.³²

A la vista de estos resultados y la participación de VEGF en la señalización de ALK1, se investigó si los tumores que secretan un mayor nivel de VEGF son más sensibles al tratamiento anti-ALK1. En ratones con tumores de xenoinjerto M24met/R se observó una inhibición del crecimiento tumoral del 57% (estadísticamente significativo) con anti-ALK1 más un inhibidor de TK de VEGFR en comparación con el anti-VEGF solo. A continuación, anti-ALK1 se combinó con bevacizumab; se observó inhibición del crecimiento tumoral significativo [Figura 3] del 58% en comparación con el control ³¹.

Estos datos orientan hacia la combinación de dalantercept con VEGF-TKIs, puesto que puede ayudar a lograr la inhibición óptima de la vía angiogénica y la progresión tumoral inducida angiogénicamente. Actualmente dos estudios de combinación de dalantercept con VEGF-TKI están en curso, en pacientes con carcinoma de células renales avanzado (NCT01727336) y en pacientes con carcinoma hepatocelular avanzado (NCT02024087), que está previsto que finalicen en diciembre de 2018 y en septiembre de 2017 respectivamente.

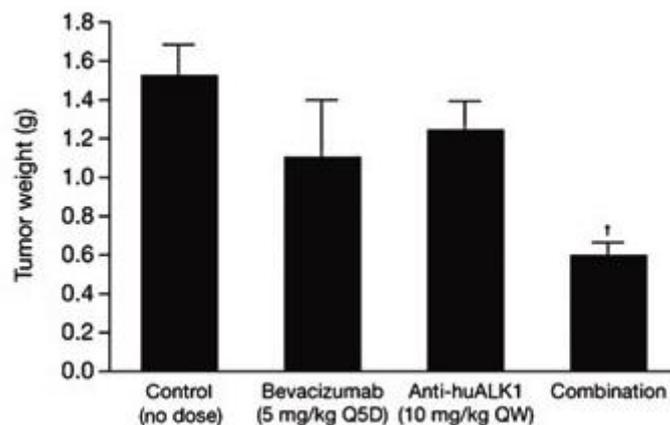


Figura 3. Peso tumoral promedio en gramos de cada grupo del estudio.³¹

3.2 PF-03446962 es un anticuerpo monoclonal humano contra ALK1 ^{35,36}. Se realizó un estudio de PF-03446962 en pacientes con mesotelioma pleural maligno tratados anteriormente con quimioterapia basada en platino ³⁶. A pesar de ser bien tolerado por los pacientes incluidos en el estudio, no se observaron respuestas totales o parciales, por lo que no se pudo demostrar eficacia en el tratamiento de mesotelioma pleural maligno como agente único. La investigación con este anticuerpo se ha interrumpido.

3.3 TRC105 es un anticuerpo monoclonal que se une a endoglin, inhibiendo competitivamente la unión a BMP-9 e impidiendo así la angiogénesis [Figura 4]^{28,37}. Un estudio de fase 1 (NCT00582985) para valorar la seguridad, farmacocinética y actividad antitumoral de este anticuerpo con pacientes con distintos tipos de tumores sólidos refractarios avanzados mostró que TRC105 era bien tolerado administrado por vía intravenosa y había evidencia de actividad clínica como monoterapia en esa población ³⁷. Los efectos adversos más comunes detectados fueron anemia, telangiectasias y reacciones debidas a la infusión del fármaco. Se cree que la anemia puede ser debida a la supresión mediada por TRC105 de proeritroblastos, las únicas células en la médula ósea que expresan niveles sustanciales de endoglin.

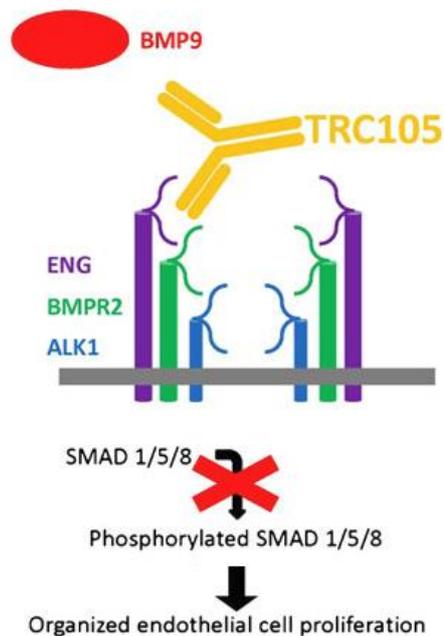


Figura 4. Mecanismo de acción del anticuerpo anti-endoglina TRC105.²⁸

El ensayo con TRC105 dio como resultado una enfermedad estable y duradera (47% de los pacientes evaluables) en una variedad de tipos de tumores refractarios, incluyendo dos respuestas en curso a los 18 y 48 meses tras el inicio del tratamiento. Basándose en estos resultados se pusieron en marcha estudios fase 2 con el fin de evaluar TRC105 solo y en combinación con otros agentes en una amplia variedad de tumores. Existe un estudio fase 2 en pacientes con carcinoma hepatocelular que habían progresado con sorafenib y, aunque hubo evidencia de actividad clínica, no se cumplieron los criterios para pasar a la siguiente etapa ³⁸. Estos resultados han servido para impulsar otros ensayos clínicos de TRC105 en combinación con sorafenib para el tratamiento de carcinoma hepatocelular que están actualmente en curso ³⁹.

Conclusiones

El cáncer es una de las principales causas de mortalidad en el mundo y su incidencia va en aumento. La investigación es fundamental para encontrar nuevos posibles tratamientos, cada vez más precisos y dirigidos.

Inhibir la angiogénesis necesaria para el crecimiento del tumor es una de las estrategias terapéuticas claras en la lucha contra la enfermedad y el objetivo más importante ha sido el VEGF. Los fármacos antiangiogénicos que se basan en la inhibición del VEGF,

aunque han demostrado eficacia en muchos casos, acaban generando resistencia por parte de las células endoteliales mediante mecanismos compensatorios.

La inhibición de la vía BMP-9/ALK1 ofrece una alternativa a esa forma de bloquear el proceso angiogénico tumoral. Dalantercept es una proteína de fusión recombinante que actúa como una trampa para BMP-9 y BMP-10. Ha demostrado una robusta actividad en carcinoma de células renales, y el estudio de su combinación con diferente anti-VEGF es esperanzador. TRC105 es un anticuerpo monoclonal que se une a endoglin, compitiendo con BMP-9. También está siendo estudiado en combinación con otros agentes inhibidores de la angiogénesis para carcinoma hepatocelular. Estas nuevas moléculas necesitan seguir siendo investigadas puesto que pueden suponer un beneficio, complementando a la terapia utilizada en la práctica clínica actual.

Bibliografía

- 1 Instituto nacional del cáncer. ¿Qué es el cáncer? [Internet] Actualizado 9 de febrero de 2015. [Consultado 11 de abril de 2017] Disponible en: <http://www.cancer.gov/espanol/cancer/que-es>
- 2 Organización Mundial de la Salud. Centro de prensa. Nota descriptiva. Cáncer. [Internet] Actualizado febrero de 2017. [Consultado 11 de abril de 2017] Disponible en: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs297/es>
- 3 Martínez-Amores B, Molina Villaverde R, Álvarez-Mon M. Terapia dirigida en tumores sólidos. Monografías de la Real Academia Nacional de Farmacia. Monografía XXX: Biomarcadores: Analítica, diagnóstico y terapéutica (2010); 11: 415-443.
- 4 Ferrara N. *Role of vascular endothelial growth factor in physiologic and pathologic angiogenesis: therapeutic implications*. Semin Oncol 2002; 29: 10-14
- 5 Adair TH, Montani JP. *Angiogenesis*. San Rafael (CA): Morgan & Claypool Life Sciences; 2010.
- 6 Vecchia L, Olivieri C, Scotti C. *Activin Receptor-like kinase 1: a novel anti-angiogenesis target from TGF- β family*. Mini Rev Med Chem. 2013 Aug;13(10):1398-406.

- 7 European Medicines Agency. Ficha técnica sunitinib. [Internet] [Consultado 17 de marzo de 2017] Disponible en: <https://www.aemps.gob.es/cima/fichasTecnicas.do?metodo=detalleForm>
- 8 European Medicines Agency. Ficha técnica sorafenib.[Internet] [Consultado 17 de marzo de 2017] Disponible en: <https://www.aemps.gob.es/cima/fichasTecnicas.do?metodo=detalleForm>
- 9 European Medicines Agency. Ficha técnica pazopanib. [Internet] [Consultado 17 de marzo de 2017] Disponible en: <https://www.aemps.gob.es/cima/fichasTecnicas.do?metodo=detalleForm>
- 10 European Medicines Agency. Ficha técnica axitinib. [Internet] [Consultado 17 de marzo de 2017] Disponible en: <https://www.aemps.gob.es/cima/fichasTecnicas.do?metodo=detalleForm>
- 11 European Medicines Agency. Ficha técnica vandetanib. [Internet] [Consultado 17 de marzo de 2017] Disponible en: <https://www.aemps.gob.es/cima/fichasTecnicas.do?metodo=detalleForm>
- 12 European Medicines Agency. Ficha técnica bevacizumab. [Internet] [Consultado 25 de marzo de 2017] Disponible en: <https://www.aemps.gob.es/cima/fichasTecnicas.do?metodo=detalleForm>
- 13 Hawinkels LJ, de Vinuesa AG, Paauwe M, Kruithof-de Julio M, Wiercinska E et al. *Activin Receptor-like Kinase 1 Ligand Trap Reduces Microvascular Density and Improves Chemotherapy Efficiency to Various Solid Tumors*. Clin Cancer Res. 2016 Jan 1;22(1):96-106.
- 14 Lupo G, Caporarello N, Olivieri M et al. *Anti-angiogenic Therapy in Cancer: Downsides and New Pivots for Precision Medicine*. Front Pharmacol. 2016; 7: 519. Published online 2017 Jan 6.
- 15 Kelly J. Gordon, Gerard C. Blobel. *Role of transforming growth factor- β superfamily signaling pathways in human disease*. Biochimica et Biophysica Acta. 2008 Apr; 1782 (4):197–228
- 16 Massagué J. *TGF β in Cancer*. Cell. 2008;134(2):215-230.
- 17 Wozney JM, Rosen V, Celeste AJ, Mitsock LM, Whitters MJ, Kriz RW, Hewick RM, Wang EA. *Novel regulators of bone formation: molecular clones and activities*. Science. 1988 Dec 16;242(4885):1528-34.

- 18 Herrera B, Dooley S and Breitkopf-Heinlein K. *Potential Roles of Bone Morphogenetic Protein (BMP)-9 in Human Liver Diseases*. Int. J. Mol. Sci. 2014, 15, 5199-5220.
- 19 Sara I. Cunha and Kristian Pietras. *ALK1 as an emerging target for antiangiogenic therapy of cancer*. Blood. 2011 Jun 30; 117(26): 6999–7006.
- 20 Lebrin F, Goumans MJ, Jonker L, et al. *Endoglin promotes endothelial cell proliferation and TGF-beta/alk1 signal transduction*. EMBO J. 2004;23(20):4018–4028.
- 21 Oh SP, Seki T, Goss KA, et al. *Activin receptor-like kinase 1 modulates transforming growth factor-beta 1 signaling in the regulation of angiogenesis*. Proc Natl Acad Sci U S A. 2000;97(6):2626–2631.
- 22 Lamouille S, Mallet C, Feige JJ, Bailly S. *Activin receptor-like kinase 1 is implicated in the maturation phase of angiogenesis*. Blood. 2002;100(13):4495–4501.
- 23 David L, Mallet C, Mazerbourg S, Feige JJ, Bailly S. *Identification of bmp9 and bmp10 as functional activators of the orphan activin receptor-like kinase 1 (alk1) in endothelial cells*. Blood. 2007;109(5):1953–1961.
- 24 Scharpfenecker M, van Dinther M, Liu Z, et al. *Bmp-9 signals via alk1 and inhibits bfgf-induced endothelial cell proliferation and vegf-stimulated angiogenesis*. J Cell Sci. 2007;120(pt 6):964–972.
- 25 Suzuki Y1, Ohga N, Morishita Y, Hida K, Miyazono K, Watabe T.J *BMP-9 induces proliferation of multiple types of endothelial cells in vitro and in vivo*. Cell Sci. 2010 May 15;123(Pt 10):1684-92.
- 26 Cunha SI, Pardali E, Thorikay M, et al. *Genetic and pharmacological targeting of activin receptor-like kinase 1 impairs tumor growth and angiogenesis*. J Exp Med. 2010;207(1):85–100.
- 27 Upton PD, Davies RJ, Trembath RC, Morrell NW. *Bone morphogenetic protein (bmp) and activin type ii receptors balance bmp9 signals mediated by activin receptor-like kinase-1 in human pulmonary artery endothelial cells*. J Biol Chem. 2009;284(23):15794–15804
- 28 Lee S. Rosen & Michael S. Gordon & Francisco Robert & Daniela E. Matei. *Endoglin for Targeted Cancer Treatment*. Curr Oncol Rep (2014) 16:365.

- 29 Nohe A, Hassel S, Ehrlich M, et al. *The mode of bone morphogenetic protein (bmp) receptor oligomerization determines different bmp-2 signaling pathways.* J Biol Chem. 2002;277(7):5330–5338.
- 30 Foletta VC, Lim MA, Soosairajah J, et al. *Direct signaling by the bmp type ii receptor via the cytoskeletal regulator limk1.* J Cell Biol. 2003;162(6):1089–1098
- 31 Hu-Lowe DD, Chen E, Zhang L, Watson KD et al. *Targeting activin receptor-like kinase 1 inhibits angiogenesis and tumorigenesis through a mechanism of action complementary to anti-VEGF therapies.* Cancer Res. 2011 Feb 15;71(4):1362-73.
- 32 Gupta, S., Gill, D., Pal, S.K. et al. *Activin Receptor Inhibitors—Dalantercept.* Curr Oncol Rep (2015) 17:14.
- 33 Bendell JC, Gordon MS, Hurwitz HI, Jones SF, Mendelson DS et al. *Safety, pharmacokinetics, pharmacodynamics, and antitumor activity of dalantercept, an activin receptor-like kinase-1 ligand trap, in patients with advanced cancer.* Clin Cancer Res. 2014 Jan 15;20(2):480-9.
- 34 Mitchell D et al. *ALK1-Fc inhibits multiple mediators of angiogenesis and suppresses tumor growth.* Mol Cancer Ther. 2010;9(2):379–88.
- 35 Necchi, A., Giannatempo, P., Mariani, L. et al. *PF-03446962, a fully-human monoclonal antibody against transforming growth-factor β (TGF β) receptor ALK1, in pre-treated patients with urothelial cancer: an open label, single-group, phase 2 trial.* Invest New Drugs (2014) 32: 555.
- 36 Wheatley-Price P, Chu Q, Bonomi M et al. *A Phase II Study of PF-03446962 in Patients with Advanced Malignant Pleural Mesothelioma. CCTG Trial IND.207.* J Thorac Oncol. 2016 Nov;11(11):2018-2021.
- 37 Rosen LS, Hurwitz HI, Wong MK et al. *A phase I first-in-human study of TRC105 (Anti-Endoglin Antibody) in patients with advanced cancer.* Clin Cancer Res. 2012 Sep 1;18(17):4820-9.
- 38 Duffy AG, Ulahannan SV, Cao L, Rahma OE, Makarova-Rusher OV et al. *A phase II study of TRC105 in patients with hepatocellular carcinoma who have progressed on sorafenib.* United European Gastroenterol J. 2015 Oct;3(5):453-61.
- 39 Duffy A, Ma C, Ulahannan S, Rahma OE, Makarova-Rusher O et al. *Phase I and preliminary Phase II study of TRC105 in combination with Sorafenib in Hepatocellular Carcinoma.* Clin Cancer Res. 2017 May 2.