

Alteraciones genéticas en el cáncer del páncreas exocrino

F.X. Real

Unidad de Biología Celular y Molecular. Instituto Municipal de Investigación Médica. Universidad Autónoma de Barcelona.

Al rato, los viajeros comenzaron a regresar contando maravillas del páncreas y de las cataratas de jugos que éste volcaba...

JUAN JOSÉ MILLÁS, *Viaje al páncreas*

El cáncer del páncreas exocrino (CPE) es uno de los tumores en que se han producido menos avances, tanto a nivel etiológico como diagnóstico o terapéutico, en los últimos 25 años.

La mayoría de los tumores del páncreas se originan en el componente exocrino y, de ellos, más del 90% se clasifican como «adenocarcinomas ductales»¹. En los EE.UU., los tumores del páncreas constituyen la cuarta causa de mortalidad por cáncer, si bien representan solamente un 3% de todas las neoplasias malignas. Los datos disponibles indican que la incidencia del CPE en España es ligeramente inferior². La supervivencia del CPE a los 5 años es inferior al 2%³ y es posible que esta estimación sea incluso optimista: un estudio reciente basado en el registro poblacional de cáncer de Finlandia revisó la información clínico-patológica de los 78 casos registrados como CPE cuya supervivencia era superior a 5 años y solamente en uno de ellos se consideró que la probabilidad de que el diagnóstico fuese correcto era alta⁴.

Aunque no es el objetivo fundamental de esta revisión, cabe recordar algunas de las dificultades que se asocian al estudio del CPE:

1) Dificultades relacionadas con la prevención. El único factor claramente asociado al CPE es el tabaco, con un riesgo aproximado de dos⁵. El papel de otros factores como el alcohol, la dieta, la pancreatitis crónica y la diabetes es objeto de controversia⁵. Por ello, la prevención primaria del CPE es hoy prácticamente imposible. Por otra parte, la inespecificidad de los síntomas de presentación del tumor, la localización retroperitoneal

del páncreas y la ausencia de marcadores específicos hacen inviable su prevención secundaria o cribado.

2) Dificultades relacionadas con el diagnóstico. El CPE es uno de los tumores en que con menor frecuencia se obtiene confirmación citohistológica del diagnóstico, oscilando ésta entre el 37 y el 100%^{6,7}. Esto es consecuencia del mal estado general en que se presentan la mayoría de los pacientes y la localización profunda del tumor. Por otra parte, la abundante reacción desmoplásica que caracteriza al CPE y las dificultades en el diagnóstico diferencial con la pancreatitis crónica y con las metástasis de otro tumor primario pueden conducir a errores diagnósticos: Lyon et al⁸ han descrito que hasta un 30% de los casos de CPE del registro de cáncer de Utah con confirmación histológica podrían corresponder, en realidad, a diagnósticos erróneos⁸. En España, los resultados de nuestros estudios confirman estas dificultades⁹.

3) Dificultades relacionadas con la presentación y tratamiento de la enfermedad. La mayoría de pacientes con CPE se presentan en estadios avanzados del tumor, lo cual, junto con su mal estado general⁷, impide la utilización de tratamientos agresivos, ya sea con cirugía, radio o quimioterapia. Por otra parte, el CPE es un tumor relativamente quimio y radiorresistente.

Así, los avances en genética molecular que se han producido en los últimos años, y los derivados de un mejor conocimiento de la biología del tumor¹⁰, constituyen la mayor fuente de esperanza de progreso en el manejo de estos pacientes.

ALTERACIONES GENÉTICAS SOMÁTICAS

Se incluyen bajo este epígrafe aquellas presentes en las células tumorales y ausentes de las células normales somáticas del paciente (tabla I).

K-ras

Este protooncogén codifica una proteína de membrana de Mr 21.000 con actividad guanosín trifosfatasa que participa en la transducción de señales inducidas por

Correspondencia: Dr. F.X. Real.
Unidad de Biología Celular y Molecular.
Instituto Municipal de Investigación Médica.
Doctor Aiguader, 80. 08003 Barcelona.

TABLA I. Alteraciones moleculares en el cáncer de páncreas exocrino*

Gen	Tipo de alteración	Frecuencia (%)	Referencias
K-ras	Mutación	70	
p53	Delección	80	
	Mutación	32-70	
p16	Delección	85	
	Mutación	40	
APC	Mutación	< 10	
DCC	No expresión	50	
Rb	Delección	< 10	
Fenotipo mutador		< 5	
Amplificación génica		20	

*En algunos de estos estudios el número de casos analizados es reducido y, por tanto, las estimaciones de frecuencia pueden ser poco precisas.

factores de crecimiento¹¹. En 1988 Almoguera et al¹² describieron que más del 90% de los casos de CPE presentaban mutaciones en el codón 12 del gen K-ras. Desde entonces, unas 40 publicaciones han analizado la prevalencia y/o espectro de mutaciones en K-ras utilizando una variedad de técnicas basadas en la amplificación de ácidos nucleicos utilizando la reacción en cadena de la polimerasa (PCR, *polimerase chain reaction*). Entre ellos, la hibridación con oligonucleótidos alelospecíficos, la detección de polimorfismos artificiales con enzimas de restricción, la rotura por *mismatch* y reacción de la ligasa constituyen los métodos más habituales. Las mutaciones en los codones 13 y 61 de K-ras y las mutaciones en los genes H- y N-ras parecen ser poco frecuentes en el CPE^{2,13}.

A pesar de las numerosas publicaciones de los últimos años, aún no es posible contestar algunas de las cuestiones más importantes planteadas por el hallazgo inicial de Almoguera et al¹².

¿Cuál es la prevalencia real de mutaciones en K-ras en CPE?

La mayoría de los estudios publicados describen una prevalencia que oscila entre un 55 y un 100%^{2,12,14-20}. Globalmente, un 70% de casos presentan mutaciones en el codón 12 de K-ras. Una de las limitaciones más importantes de estos estudios es el número de casos analizados, que solamente en cinco de ellos es superior a 50^{2,16,20}. La comparación de las diversas series es difícil como consecuencia de las diferencias en los criterios utilizados para la inclusión de los casos, las técnicas empleadas para la detección de mutaciones y el tipo de material biológico utilizado (p. ej., fresco/parafinado, tejido/citología de punción aspiración/citología de jugo pancreático), entre otras.

¿Cuándo se producen las mutaciones en K-ras durante el proceso de carcinogénesis en el páncreas?

Las evidencias actuales indican que las mutaciones en K-ras son un acontecimiento molecular relativamente precoz y a ello nos referiremos con más detalle más adelante.

Se han descrito diferencias en la prevalencia de mutaciones en tumores primarios o en metástasis, si bien son pocos los estudios que han analizado múltiples lesiones del mismo paciente.

En una proporción baja de casos (aproximadamente el 5%) se han detectado múltiples mutaciones en el mismo tumor o en diversas lesiones preneoplásicas de un mismo paciente^{2,21}. Se ha propuesto que —como ocurre en el cáncer colorrectal— podrían coexistir múltiples mutaciones en lesiones premalignas pero que durante el proceso de progresión tumoral se seleccionarían poblaciones clonales²².

¿Cuál es el espectro mutacional en CPE?

Dado que el tipo de alteración genética puede proporcionar información sobre potenciales agentes etiológicos²³, el espectro mutacional ha sido objeto importante de estudio. La sustitución de GGT (Gly) en el codón 12 de K-ras por AGT (Asp) es la mutación más frecuente, presente en el 48% de los casos de CPE mutados, y las sustituciones por GTT (Val) o CGT (Arg) se han descrito en el 31 y 13% de casos, respectivamente².

¿Existen diferencias geográficas en la prevalencia o espectro mutacional?

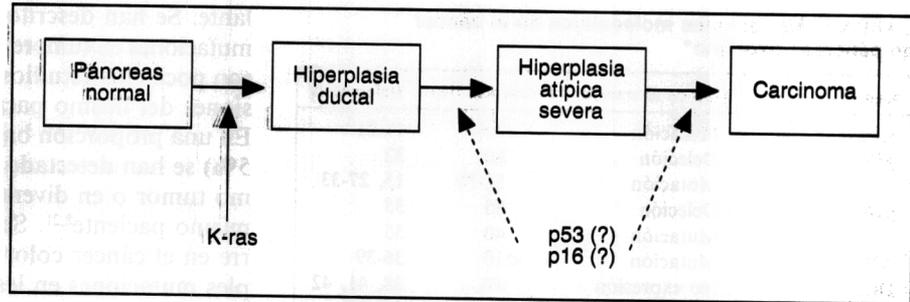
Globalmente, la proporción media de mutaciones en los estudios europeos y norteamericanos es del 75 y 73%, respectivamente, mientras que en los estudios japoneses es del 83%^{2,19}, siendo más frecuente la mutación a Asp en estos últimos (59%). Las razones que subyacen a estas diferencias no se conocen, pudiendo contribuir tanto algunos de los sesgos descritos anteriormente como diferencias en la exposición a factores de riesgo. Así, nuestro grupo ha observado que las mutaciones en K-ras se asocian al consumo de tabaco y alcohol¹⁶, dos exposiciones que pueden variar en diferentes poblaciones. Para poder establecer las causas de la variabilidad geográfica descrita anteriormente son necesarios más estudios, preferiblemente de base poblacional o, al menos, con unos criterios de inclusión más amplios.

p53

El gen p53 constituye el prototipo de gen supresor tumoral y es el que está alterado con mayor frecuencia en los tumores humanos (50% de casos)^{24,25}. Cuando se producen lesiones en el ADN, se induce la transcripción del gen p53 y su producto inhibe la entrada en la fase G₁ del ciclo celular gracias a la capacidad de p53 para activar la transcripción de genes cuyos productos regulan negativamente la progresión del ciclo celular, por ejemplo p21. Si la célula no es capaz de reparar la lesión genética, la sobreproducción de p53 puede llevar a la muerte celular programada o apoptosis.

La proteína p53 puede también interactuar directamente con el complejo de replicación del ADN. Por tan-

Fig. 1. Esquema del proceso de carcinogénesis en CPE humano. Siguiendo el modelo propuesto por Vogelstein et al para el cáncer colorrectal, cada lesión anatomopatológica se caracteriza por una o más alteraciones moleculares que, al acumularse, dan lugar a un tumor maligno.



to, p53 funciona como un «control de calidad» de la integridad del material genético. La forma activa de la proteína p53 es un tetrámero. Las mutaciones en p53 dan lugar tanto a la pérdida de la función normal como a la adquisición de nuevas propiedades que contribuyen al proceso de transformación celular. La proteína p53 mutada es incapaz de unirse al ADN pero sí puede formar tetrámeros con p53 normal que no son funcionales. Dado que la proteína mutada inhibe la actividad de la proteína normal, se dice que p53 se comporta como un oncogén dominante²⁴.

Las dos principales alteraciones que se producen en el gen p53 son deleciones (pérdida de heterocigosidad) y mutaciones²⁵. En la carcinogénesis colorrectal las deleciones preceden en general a las mutaciones, aunque existen excepciones a esta secuencia. Al contrario que las mutaciones en el gen K-ras, las mutaciones en el gen p53 se producen en muchos codones distintos, especialmente en los exones 5-9²⁵. Los métodos moleculares para la detección de mutaciones en el gen p53 se basan en la amplificación de ácidos nucleicos utilizando la PCR y el estudio de los productos de la amplificación por las técnicas de análisis de los polimorfismos conformacionales de cadena sencilla (SSCP, *single chain conformation polymorphism*), electroforesis en geles de gradiente desnaturizantes (DGGE, *denaturing gel gradient electrophoresis*) y secuenciación directa. Mientras que la proteína p53 normal tiene una vida media de aproximadamente 30 min, las formas mutadas tienen una vida media mucho más larga (del orden de 24 horas), lo cual conduce a un aumento de los niveles totales de p53 en el núcleo²⁴. Esta particularidad permite que, utilizando técnicas inmunohistoquímicas, sea posible detectar la acumulación nuclear de p53, si bien ésta puede producirse también ocasionalmente en ausencia de mutación²⁶. Pocos estudios han comparado diversas técnicas de detección de mutaciones en la misma serie de tumores. Scarpa et al²⁷ han descrito que el análisis inmunohistoquímico y la secuenciación proporcionan resultados concordantes sólo en un 50% de los casos, mientras que en un 35% se demuestra la acumulación nuclear de p53 en ausencia de evidencia de mutaciones.

La frecuencia de mutaciones en el gen p53 descrita en el CPE oscila entre el 32 y el 70% y en la mayoría de los casos son mutaciones puntuales que dan lugar a la sustitución de un aminoácido, seguidas de deleciones o

inserciones que conducen a cambios en la pauta de lectura traducional^{15,27-32}. La abundante reacción desmoplásica e inflamatoria que acompaña a los adenocarcinomas ductales dificulta la detección de las mutaciones, particularmente cuando se utilizan técnicas moleculares. Las mutaciones más frecuentes son transiciones (sustitución de una purina o una pirimidina por otra purina o pirimidina, respectivamente) (70%), la mitad de las cuales se producen en el dinucleótido CpG. Se cree que este tipo de mutaciones puntuales ocurre espontáneamente por desaminación de una base de metilcitosina. Los codones con mayor prevalencia de mutaciones son 175, 248 y 273³². Este espectro mutacional es parecido al descrito en tumores de colon, esófago, vejiga urinaria y sarcomas, y es distinto del observado en cáncer de pulmón no microcítico, en el que predominan las transversiones (sustitución de una purina por una pirimidina o viceversa), presumiblemente relacionadas con la exposición a carcinógenos del tabaco²⁵. Redston et al³² han descrito microdeleciones en regiones de homopolímeros de purinas o pirimidinas de este gen, una alteración que es relativamente infrecuente en otros tumores y que podría proporcionar información sobre los mutágenos endógenos y/o ambientales implicados en el CPE.

Hoshi et al³³ han descrito que los tumores mucinosos intraductales del páncreas, una variedad histológica del adenocarcinoma ductal común, no se asocian a mutaciones en el gen p53 pero sí contienen mutaciones en K-ras. Estos tumores tienen un pronóstico más favorable.

p16

La proteína p16 es un inhibidor del complejo ciclina D/cdk4 y participa en el control del ciclo celular³⁴. El gen supresor que codifica p16, denominado MTS1 o INK4, se localiza en 9p21, una región que con frecuencia está delecionada en varios tipos de tumores. Aunque hasta el momento solamente un estudio ha analizado con detalle las alteraciones en este gen en CPE, la prevalencia de pérdidas alélicas descritas es del 85% (22/26 casos) y en un 41% de tumores (n=27) y líneas celulares (n=10) se producen deleciones homocigóticas. El análisis por secuenciación ha demostrado la presencia de mutaciones en aproximadamente un 60% de los casos, incluyendo sustituciones puntuales de aminoácidos, deleciones que dan lugar a cambios en la pauta de

lectura y aparición prematura de codones de terminación. Las mutaciones se producen especialmente en el exón 2 y afectan preferentemente a los codones 72 y 102. En todos los casos, la presencia de mutaciones se asociaba a la pérdida del alelo normal. En el único estudio publicado, se ha descrito una frecuente asociación de mutaciones en los genes p53 y p16³⁵.

APC (*adenomatous polyposis coli*)

Las mutaciones en el gen supresor APC, localizado en 5q21, son responsables de la poliposis adenomatosa familiar. El producto de este gen es una proteína de Mr 300.000 que se une a la beta catenina y participa en los procesos de interacción célula-célula. Horii et al³⁶ describieron la presencia de mutaciones en el gen APC en el tejido de 4/10 CPE, si bien posteriormente se han publicado 3 series más extensas, una europea³⁷, una americana³⁸ y una japonesa³⁹, en las que las alteraciones en APC (mutaciones y/o deleciones) son mucho menos frecuentes.

DCC (*deleted in colorectal cancer*)

El gen supresor DCC se localiza en 18q21 y codifica una proteína de membrana de Mr 180.000 que pertenece a la superfamilia de las inmunoglobulinas. Su función no está claramente establecida, pero se ha propuesto un papel en la interacción de las células epiteliales con el mesénquima así como en los procesos de diferenciación celular⁴⁰. Se ha descrito la pérdida de expresión de DCC en líneas celulares y tumores pancreáticos^{41,42}, posiblemente como resultado de pérdidas alélicas³⁸. Son necesarios más estudios del gen DCC en el CPE.

Rb

El producto del gen supresor Rb tiene un papel central en la regulación del ciclo celular a través de su interacción con el factor de transcripción E2F³⁴. Se han descrito alteraciones en el gen Rb en 2/7 líneas celulares y en 2/17 tumores pancreáticos^{29,38}. Las evidencias actuales indican que las alteraciones en Rb son poco frecuentes en el CPE.

Inestabilidad genética

En los últimos años se han descrito defectos en la replicación del ADN que contribuyen al desarrollo de neoplasias y pueden evidenciarse como alteraciones en la replicación de regiones repetitivas cortas denominadas microsatélites. Estas regiones presentan un elevado grado de polimorfismo en la población y tienen una tendencia alta a sufrir mutaciones in vitro e in vivo. Los defectos en la reparación de los errores de replicación de microsatélites fueron descritos inicialmente en pacientes con cáncer colorrectal hereditario no polipoide (síndrome de Lynch), conducen a una gran inestabilidad genética y son debidos a mutaciones en los genes que

codifican para las enzimas reparadoras del ADN⁴³. No existen evidencias sólidas de la participación de este mecanismo en el desarrollo del CPE^{32,44}.

Pérdidas y ganancias de material genético en el CPE

Durante muchos años, las pérdidas y ganancias globales de material genético en tumores han sido evaluadas por medio de la citometría de flujo. La identificación de polimorfismos alélicos (fragmentos de restricción de longitud variable [RFLP, *restriction fragment length polymorphisms*], número variable de repeticiones en tándem [VNTR, *variable number of tandem repeats*] y de microsatélites ha tenido un gran impacto sobre la caracterización de genes o regiones genéticas que se pierden, o se ganan, durante el proceso de transformación neoplásica. Las técnicas de PCR utilizando cebadores arbitrarios (AP-PCR, *arbitrarily primed PCR*), que se basan en la amplificación al azar del ADN, y la hibridación genómica compleja permiten llevar a cabo un análisis molecular muy preciso de la ploidía.

El estudio de las pérdidas y ganancias genómicas en el CPE viene dificultado por la abundante «contaminación» por células normales (reacción desmoplásica e inflamatoria), siendo necesaria la microdissección o la selección de células tumorales por medio de su propagación en ratones inmunodeprimidos³⁵. Aunque la utilización de líneas celulares establecidas tiene claras ventajas, es necesario tener en cuenta que las alteraciones detectadas podrían producirse durante la adaptación al cultivo in vitro⁴⁵.

El estudio más extenso de pérdidas alélicas publicado es el de Seymour et al³⁸. La interpretación de sus resultados está limitada por sesgos de selección, ya que el análisis solamente se pudo llevar a cabo en 7 de los 33 casos de CPE en los que se realizó la microdissección del tejido tumoral, puesto que en los 26 restantes la celularidad tumoral era inferior al 50%. La fracción global de pérdidas alélicas fue del 0,18, semejante a la detectada en el cáncer colorrectal, siendo los cromosomas más frecuentemente alterados 7p, 10p, 11q, 12q, 17p y 18q. En un estudio reciente se ha descrito la pérdida homocigótica de la región 13q12, en la que se halla el gen BRCA2, implicado en el cáncer de mama familiar⁴⁶. Otros autores han descrito pérdidas alélicas en 1q, 5 y 11q^{47,48}.

En los últimos 3 años, varios estudios citogenéticos han proporcionado información adicional sobre cromosomas o lugares cromosómicos potencialmente implicados en CPE, ya sea utilizando cultivos primarios⁴⁹⁻⁵² o líneas celulares recién establecidas^{45,53}. Las pérdidas cromosómicas más frecuentes afectan a los cromosomas 6, 12, 13, 17 y 18, y las ganancias más frecuentes, a los cromosomas 7, 11 y 20. Varios estudios han demostrado reordenamientos y deleciones a nivel de 1p y 6q⁵², regiones en las que se ha propuesto la existencia de genes supresores⁵⁴. Por otra parte, en uno de los tumores estudiados se ha descrito una translocación en el 13q12, sugiriendo la posible afectación del gen BRCA2. Sin embargo, los estudios citogenéticos no han demostrado al-

teraciones frecuentes en 5q21, donde se localiza el gen APC, o en 9p21, donde se encuentra el gen MTS1. Griffin et al⁵² han descrito recientemente la presencia de diminutos dobles, material genético extracromosómico asociado a la amplificación génica, en 8/27 tumores primarios y Berrozpe⁵³ ha detectado esta alteración en 4/7 nuevas líneas celulares, sugiriendo que la amplificación génica puede estar implicada en la progresión del CPE.

Aunque las dificultades para realizar el análisis citogenético en el CPE hacen poco probable su utilización rutinaria, Johansson et al⁵⁵ han descrito que el patrón citogenético del tumor podría correlacionarse con el grado tumoral y la supervivencia del paciente.

ALTERACIONES EPIGENÉTICAS

Se incluyen bajo este epígrafe aquellas alteraciones en la expresión de genes que participan en el desarrollo y/o progresión tumoral que son resultado de cambios en la regulación de la expresión génica, probablemente en ausencia de cambios en el ADN. Aunque éstos no son el resultado de la acción directa de los carcinógenos, pueden contribuir a la progresión neoplásica y tienen un papel importante en los procesos de invasión y metástasis.

Diversos estudios han analizado las alteraciones en la expresión de factores de crecimiento y sus receptores en líneas celulares y tejidos de CPE. De ellos se deduce que, en los tumores de páncreas, se produce la expresión concomitante de receptores y ligandos potencialmente implicados en la progresión del CPE a través de mecanismos autocrinos/paracrinos. De entre ellos cabe destacar el receptor del factor crecimiento epidérmico (EGF, *epidermal growth factor*) y el factor de crecimiento transformante alfa (TGF, *transforming growth factor*)^{56,57}, erbB-2⁵⁸, el receptor del factor de crecimiento tipo insulina (IGF-I, *insulin-like growth factor I*)⁵⁹, el receptor de TGF beta tipo II y las tres isoformas de TGF beta⁶⁰, el receptor del factor de crecimiento de hepatocitos (HGF, *hepatocyte growth factor*)^{61,62} y los diversos receptores de la familia del factor de crecimiento fibroblástico (FGF, *fibroblast growth factor*)⁶³⁻⁶⁵. En general, las alteraciones descritas anteriormente se observan también en lesiones no neoplásicas del páncreas exocrino, como la pancreatitis crónica. De todos ellos, solamente en el caso del receptor de EGF se ha descrito amplificación génica en algunos de los casos⁶⁶. Aunque varios de los estudios descritos han sugerido una asociación entre la sobreexpresión de diversos factores de crecimiento y sus receptores con el pronóstico, estos resultados no han sido confirmados en estudios independientes. Recientemente también se han descrito en el CPE alteraciones en la expresión de otras moléculas potencialmente implicadas en la progresión tumoral, como la E-cadherina, las integrinas⁶⁷ y el receptor para el hialuronato CD44⁶⁸, por lo que estas moléculas podrían contribuir al comportamiento biológico agresivo de este tumor.

CÁNCER DE PÁNCREAS FAMILIAR

Ghadirian et al⁶⁹ han descrito que aproximadamente un 8% de pacientes con CPE presentan una historia familiar de CPE, si bien es difícil obtener información fiable como consecuencia de las dificultades diagnósticas de este tumor. Según otros autores, los pacientes con CPE presentan una historia familiar de cáncer con mayor frecuencia que el grupo control⁷⁰. Aunque se han descrito más de 30 casos de agregación familiar, el CPE familiar representa, según Lynch, solamente un 3-5% del total de casos de CPE⁷¹. Algunos síndromes de cáncer hereditario presentan un aumento del riesgo de CPE: poliposis adenomatosa familiar, síndrome de Li-Fraumeni, cáncer colorrectal hereditario no polipoide (HNPCC, *hereditary non-polyposis colorectal cancer*), ataxia-telangiectasia, síndrome de Von Hippel-Lindau, pancreatitis hereditaria y síndrome familiar de múltiples melanomas y lesiones pigmentadas atípicas (FAMMM, *familial atypical mole and multiple melanoma*). En este último, se han descrito recientemente mutaciones en la línea germinal en el gen MTS1 asociadas a un riesgo elevado de CPE^{72,73}.

LESIONES PRECURSORAS DEL CPE

Las dificultades en el estudio del CPE descritas al inicio de esta revisión se hacen extensivas al estudio de las lesiones precursoras de este tumor. A ellas se añade el que, durante el envejecimiento, se producen con frecuencia cambios histopatológicos en el páncreas cuya significación no está claramente establecida.

De las lesiones proliferativas no neoplásicas del páncreas cabe destacar la hiperplasia ductal mucinosa, cuya prevalencia aumenta con la edad, en la pancreatitis crónica y en el parénquima no neoplásico de pacientes con CPE^{74,75}. Varios estudios recientes han descrito la presencia de mutaciones en el codón 12 del gen K-ras en áreas de hiperplasia ductal mucinosa en pacientes con CPE, pancreatitis crónica y colangiocarcinoma^{21,76,77}. También se han descrito mutaciones en K-ras en el páncreas normal de un paciente con historia familiar de CPE⁷⁸. En cada caso estudiado se detectó exclusivamente un tipo de mutación, lo cual sugiere la proliferación clonal de las células con K-ras mutado. Estos resultados sugieren que las mutaciones en K-ras son un evento molecular relativamente precoz en el desarrollo del CPE y que la hiperplasia mucinosa representa realmente una lesión preneoplásica¹³. En la figura 1, se muestra esquemáticamente un modelo de la secuencia de acontecimientos moleculares implicados en el CPE y su correlación anatomopatológica.

APLICACIÓN CLÍNICA DEL ESTUDIO DE LAS ALTERACIONES MOLECULARES EN EL CPE

A pesar de afirmaciones extendidas en la literatura⁷⁹, y aunque los avances que se han producido son numerosos, como se evidencia en esta revisión, no es posible,

por el momento, afirmar que la detección de alteraciones moleculares tenga un papel relevante en el manejo clínico del paciente con CPE.

Tres son los escenarios en que puede vislumbrarse la aplicación clínica de los hallazgos descritos anteriormente:

1. Diagnóstico precoz. Particularmente en grupos de alto riesgo. La principal limitación en esta área es la definición de los grupos de riesgo. Es posible que en casos selectos de pacientes con pancreatitis crónica, pancreatitis hereditaria, o CPE hereditario la detección de mutaciones —particularmente en K-ras dada su elevada prevalencia— podría ser de utilidad. Un estudio reciente describe 2 casos de pacientes con sospecha de CPE en los cuales el análisis del jugo pancreático demostró la presencia de mutación en K-ras 18 y 40 meses antes de que se estableciese el diagnóstico clínico-patológico⁸⁰. Sin embargo, se han descrito mutaciones en K-ras en 2 pacientes sin CPE⁸¹, por lo que todavía no es aconsejable la detección de mutaciones en K-ras para la toma de decisiones clínicas en la práctica diaria. La puesta a punto de métodos para la detección de mutaciones en K-ras en muestras de heces²¹ y en suero⁸² podrían constituir un avance técnico fundamental en la implementación de programas de cribaje del CPE.

2. Diagnóstico diferencial. Algunos estudios sugirieron inicialmente que la detección de mutaciones en K-ras podría tener utilidad en el diagnóstico diferencial del CPE con la pancreatitis crónica y con los tumores del sistema biliar extrahepático (CSBE). Respecto de la primera, la demostración de la existencia de mutaciones en K-ras en áreas de hiperplasia mucinosa ductal asociada a pancreatitis crónica, hace imperativo establecer con mayor precisión la prevalencia de mutaciones en esta patología. En cuanto a los segundos, los datos más recientes indican que la prevalencia de mutaciones en K-ras en CSBE es más alta de lo que inicialmente se había descrito⁸³ mientras que en CPE es algo más baja, por lo que su utilidad en esta situación clínica sería menor.

3. Pronóstico. El pronóstico del CPE es todavía tan nefasto que, al contrario que en otros tumores, no puede vislumbrarse una aplicación a este objetivo en el futuro próximo. Los pacientes con CPE operable podrían constituir una excepción pero serán necesarios estudios multicéntricos prospectivos para establecer su utilidad dado el reducido número de pacientes candidatos a cirugía radical.

EL FUTURO

Tan importante es identificar el optimismo no justificado como el pesimismo ulterior que se deriva de él. Ni uno ni otro pueden ser la base de cambios en el manejo clínico de los pacientes. Los espectaculares avances en la identificación de lesiones genéticas asociadas al cáncer están comenzando a tener un impacto directo en la toma de decisiones clínicas, por ejemplo, en el cáncer colorrectal y de vejiga urinaria, aunque todavía estamos

lejos de ello en el CPE. Los hallazgos efectuados en el laboratorio a partir de series muy seleccionadas de tumores o líneas celulares no pueden extrapolarse automáticamente a pacientes atendidos en las condiciones clínicas habituales; para esto no son necesarios estudios específicos. Las dificultades que el estudio de este tumor conlleva, tanto a nivel clínico como molecular, no deben hacernos arredrar en la esperanza de que en el futuro próximo podamos eliminar la frase —desgastada ya— con que comienza este artículo.

AGRADECIMIENTO

El *viaje al páncreas* de nuestro grupo es posible gracias a los participantes en las *aventuras* PANK-ras I y PANK-ras II y a los muchos colaboradores que, de forma regular, hacen de guía. Las continuadas discusiones con Núria Malats y Miguel Porta han iluminado este *viaje* y a ellos quiero agradecerles sus muchas contribuciones y la revisión crítica de este manuscrito. El Fondo de Investigación Sanitaria (92-007 y 95-0017), la Comisión Interministerial de Ciencia y Tecnología (SAF 94-0971), la Fundación Salud 2000 y la CIRIT (Generalitat de Catalunya) (GRQ93-9301) han contribuido parcialmente a la financiación de nuestro trabajo.

BIBLIOGRAFÍA

1. Klöppel G. Pancreatic, non-endocrine tumors. En: Klöppel G, Heitz PU, editores. *Pancreatic pathology*. Edimburgo: Churchill Livingstone, 1984.
2. Malats N. Prevalença i factors associats a les mutacions en l'oncogen Ki-ras en el càncer de pàncreas exocrí i els càncers del sistema biliar extrahepàtic (Estudi PANK-ras I). Barcelona: Universitat Autònoma de Barcelona, 1995.
3. Fernández del Castillo C, Warshaw AL. Pancreatic carcinoma. *Curr Opin Gastroenterol* 1994; 10: 507-512.
4. Alanen KA, Joensuu H. Long-term survival after pancreatic adenocarcinoma—often a misdiagnosis? *Br J Cancer* 1993; 68: 1.004-1.005.
5. Bolye P, Hsieh CC, Maisonneuve P et al. Epidemiology of pancreas cancer. *Int J Pancreatol* 1989; 5: 327-346.
6. Gudjonsson B, Livstone EM, Spiro HM. Cancer of the pancreas: diagnostic accuracy and survival statistics. *Cancer* 1978; 42: 2.492-2.506.
7. Brennan MF, Kinsella T, Friedman M. Cancer of the pancreas. En: DeVita VJT, Hellman S, Rosenberg SA, editores. *Principles and Practice of Oncology* (3ª ed.) Filadelfia: J.B. Lippincott, 1989; 563-589.
8. Lyon J, Robinson L, Moser R. Uncertainty in the diagnosis of histologically confirmed pancreatic cancer cases. *Int J Epidemiol* 1989; 18: 305-308.
9. Porta M, Malats N, Piñol L et al. Diagnostic certainty and potential for misclassification in exocrine pancreatic cancer. *J Clin Epidemiol* 1994; 47: 1.069-1.079.
10. Real FX. The cell biology of pancreatic cancer. En: Neoptolemos J, Lemoine NR, editores. *Pancreatic cancer. Molecular and clinical advances*. Londres: Blackwell Sci Press, 1995; 3-17.
11. Barbacid M. Ras genes. *Annu Rev Biochem* 1987; 56: 779-827.
12. Almoguera C, Shibata D, Forrester K et al. Most human carcinomas of the exocrine pancreas contain mutant c-K-ras genes. *Cell* 1988; 53: 549-554.
13. Caldas C, Kern SE. K-ras mutation and pancreatic adenocarcinoma. *Int J Pancreatol* 1995; 18: 1-6.
14. Smit VTHBM, Boot AJM, Smits AMM et al. K-ras codon 12 mutations occur very frequently in pancreatic adenocarcinomas. *Nucleic Acids Res* 1988; 16: 7.773-7.782.
15. Berrozpe G, Schaeffer J, Peinado MA et al. Comparative analysis of mutations in the p53 and K-ras genes in pancreatic cancer. *Int J Cancer* 1994; 58: 185-191.

16. Malats N, Porta M, Piñol J et al. Association of tobacco and alcohol consumption with Ki-ras mutations in exocrine pancreatic cancer.
17. Hruban RH, Van Mansfeld AD, Offerhaus GJ et al. K-ras oncogene activation in adenocarcinoma of the human pancreas. A study of 82 carcinomas using a combination of mutant-enriched polymerase chain reaction analysis and allele-specific oligonucleotide hybridization. *Am J Pathol* 1993; 143: 545-554.
18. Grünwald K, Lyons J, Fröhlich A et al. High frequency of K-ras codon 12 mutations in pancreatic adenocarcinomas. *Int J Cancer* 1989; 43: 1.037-1.041.
19. Scarpa A, Capelli P, Villanueva A et al. Pancreatic cancer in Europe: Ki-ras mutation pattern shows geographical differences. *Int J Cancer* 1994; 57: 167-171.
20. Finkelstein SD, Przygodzki R, Pricolo VE et al. K-ras-2 topographic genotyping of pancreatic adenocarcinoma. *Arch Surg* 1994; 129: 367-372.
21. Caldas C, Hahn SA, Hruban RH et al. Detection of K-ras mutations in the stool of patients with pancreatic adenocarcinoma and pancreatic ductal hyperplasia. *Cancer Res* 1994; 54: 3.568-3.573.
22. Shibata D, Schaeffer J, Li ZH et al. Genetic heterogeneity of the c-K-ras locus in colorectal adenomas but not in adenocarcinomas. *J Natl Cancer Inst* 1993; 85: 1.058-1.063.
23. Jones PA, Buckley JD, Henderson BE et al. From gene to carcinogen: a rapidly evolving field in molecular epidemiology. *Cancer Res* 1991; 51: 3.617-3.620.
24. Lane DP, Benichou S. p53: oncogene or anti-oncogene? *Genes Dev* 1990; 1: 1-8.
25. Greenblatt M, Bennett W, Hollstein M et al. Mutations in the p53 tumor suppressor gene: clues to cancer etiology and molecular pathogenesis. *Cancer Res* 1994; 54: 4.855-4.878.
26. Battifora H. p53 immunohistochemistry: a world of caution. *Human Pathol* 1994; 25: 435-437.
27. Scarpa A, Capelli P, Mukai K et al. Pancreatic adenocarcinomas frequently show p53 gene mutations. *Am J Pathol* 1993; 142: 1.534-1.543.
28. Barton CM, Staddon SL, Hughes CM et al. Abnormalities of the p53 tumour suppressor gene in human pancreatic cancer. *Br J Cancer* 1991; 64: 1.076-1.082.
29. Ruggeri B, Zhang S-Y, Caamano J et al. Human pancreatic carcinomas and cell lines reveal frequent and multiple alteration in the Rb-1 tumor-suppressor genes. *Oncogene* 1992; 7: 1.503-1.511.
30. Kalthoff H, Schmiegel W, Roeder C et al. p53 and K-RAS alterations in pancreatic epithelial cell lesions. *Oncogene* 1993; 8: 289-298.
31. Boschman CR, Stryker S, Reddy JK et al. Expression of p53 protein in precursor lesions and adenocarcinoma of human pancreas. *Am J Pathol* 1994; 145: 1.291-1.295.
32. Redston MS, Caldas C, Seymour AB et al. p53 mutations in pancreatic carcinoma and evidence of common involvement of homocopolymer tracts in DNA microdeletions. *Cancer Res* 1994; 54: 3.025-3.033.
33. Hoshi T, Imai M, Ogawa K et al. Frequent K-ras mutations and absence of p53 mutations in mucin-producing tumors of the pancreas. *J Surg Oncol* 1994; 55: 84-91.
34. Graña X, Reddy EP. Cell cycle control in mammalian cells: role of cyclins, cyclin-dependent kinases (CDKs), growth suppressor genes and cyclin-dependent kinase inhibitors. *Oncogene* 1995; 11: 211-219.
35. Caldas C, Hahn S, Da Costa L et al. Frequent somatic mutations and homozygous deletions of the p16 (MTS1) gene in pancreatic adenocarcinoma. *Nat Genet* 1994; 8: 27-32.
36. Horii A, Nakatsuru S, Miyoshi Y et al. Frequent somatic mutations of the APC gene in human pancreatic cancer. *Cancer Res* 1992; 52: 6.696-6.698.
37. McKie AB, Filipe MI, Lemoine NR. Abnormalities affecting the APC and MCC tumour suppressor gene loci on chromosome 5q occur frequently in gastric cancer but not in pancreatic cancer. *Int J Cancer* 1993; 55: 598-603.
38. Seymour AB, Hruban RH, Redston M et al. Allelotype of pancreatic carcinoma. *Cancer Res* 1994; 54: 2.761-2.764.
39. Yashima K, Nakamori S, Murakami Y et al. Mutations of the adenomatous polyposis coli gene in the mutation cluster region: comparison of human pancreatic and colorectal cancers. *Int J Cancer* 1994; 59: 43-47.
40. Pierceall WE, Cho KR, Getzenberg RH et al. NIH3T3 cells expressing the deleted in colorectal cancer tumor suppressor gene product stimulate neurite outgrowth in rat PC12 pheochromocytoma cells. *J Cell Biol* 1994; 124: 1.017-1.027.
41. Höhne MW, Halatsch M-E, Kahl GF et al. Frequent loss of expression of the potential tumor suppressor gene DCC in ductal pancreatic carcinoma. *Cancer Res* 1992; 52: 2.616-2.619.
42. Simon B, Weinel R, Höhne M et al. Frequent alterations of the tumor suppressor genes p53 and DCC in human pancreatic carcinoma. *Gastroenterology* 1994; 106: 1.645-1.651.
43. Loeb LA. Microsatellite instability: marker of a mutator phenotype in cancer. *Cancer Res* 1994; 54: 5.059-5.063.
44. Han H-J, Yanagisawa YK, Kato Y. Genetic instability in pancreatic cancer and poorly differentiated type of gastric cancer. *Cancer Res* 1993; 53: 5.087-5.089.
45. Vilá MR, Lloreta J, Schüssler MH et al. New pancreas cancer lines that represent distinct stages of ductal differentiation. *Lab Invest* 1995; 72: 395-404.
46. Schutte M, Da Costa LT, Hahn SA et al. Identification by representational difference analysis of a homozygous deletion in pancreatic carcinoma that lies within the BRCA2 region. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995; 92: 5.950-5.954.
47. Neuman WL, Wasylshyn ML, Jacoby R et al. Evidence for a common molecular pathogenesis in colorectal, gastric, and pancreatic cancer. *Genes Chrom Cancer* 1991; 6: 468-473.
48. Ding SF, Habbib NA, Delhanty JD et al. Loss of heterozygosity on chromosomes 1 and 11 in carcinoma of the pancreas. *Br J Cancer* 1992; 65: 809-812.
49. Bardi G, Johansson B, Pandis N. Karyotypic abnormalities in tumours of the pancreas. *Br J Cancer* 1993; 67: 1.106-1.112.
50. Johansson B, Bardi G, Heim S. Nonrandom chromosomal rearrangements in pancreatic carcinomas. *Cancer* 1992; 69: 1.674-1.681.
51. Griffin CA, Hruban RH, Long PP. Chromosome abnormalities in pancreatic adenocarcinoma. *Genes Chrom Cancer* 1994; 9: 93-100.
52. Griffin CA, Hruban RH, Morsberger LA et al. Consistent chromosome abnormalities in adenocarcinoma of the pancreas. *Cancer Res* 1995; 55: 2.394-2.399.
53. Berrozpe G. Estudio citogenético de tumores sólidos: carcinoma de vejiga, renal y líneas celulares de tumores de páncreas. Barcelona: Universitat Autònoma de Barcelona, 1991.
54. Trent JM, Stanbridge EJ, McBride HL et al. The expression of tumorigenicity in human melanoma cell lines is controlled by the introduction of human chromosome 6. *Science* 1990; 247: 568-571.
55. Johansson B, Bardi G, Pandis N et al. Karyotypic pattern of pancreatic adenocarcinomas correlates with survival and tumor grade. *Int J Cancer* 1994; 58: 8-13.
56. Korc M, Chandrasekar B, Yamanaka Y et al. Overexpression of the epidermal growth factor receptor in human pancreatic cancer is associated with concomitant increases in the levels of epidermal growth factor and transforming growth factor alpha. *J Clin Invest* 1992; 90: 1.352-1.360.
57. Friess H, Yamanaka Y, Büchler M et al. Cripto, a member of the epidermal growth factor family is over-expressed in human pancreatic cancer an chronic pancreatitis. *Int J Cancer* 1994; 56: 668-674.
58. Williams TM, Weiner DB, Greene MI et al. Expression of c-erbB-2 in human pancreatic adenocarcinomas. *Pathology* 1991; 59: 46-52.
59. Bergmann U, Funatomi H, Yokoyama M et al. Insulin-like growth factor I overexpression in human pancreatic cancer: Evidence for autocrine and paracrine roles. *Cancer Res* 1995; 55: 2.007-2.011.
60. Friess H, Yamanaka Y, Büchler M et al. Enhanced expression of transforming growth factor beta isoforms in pancreatic cancer correlates with decreased survival. *Gastroenterology* 1993; 105: 1.846-1.856.
61. Ebert CM, Yokoyama M, Friess H et al. Coexpression of the c-met protooncogene and hepatocyte growth factor in human pancreatic cancer. *Cancer Res* 1994; 54: 5.775-5.778.
62. Vilá MR, Adell T, Nakamura T et al. c-met/HGF in exocrine pancreas cancer: relationship to cell differentiation and neoplastic transformation.
63. Leung HY, Hughes CM, Klöppel G et al. Localisation of fibroblast growth factors and their receptors in pancreatic adenocarcinoma by in situ hybridization. *Int J Oncol* 1994; 4: 1.219-1.233.
64. Yamanaka Y, Friess H, Büchler M et al. Overexpression of acidic and basic fibroblast growth factors in human pancreatic cancer correlates with advanced tumor stage. *Cancer Res* 1993; 53: 5.289-5.296.

65. Leung HY, Gullick WJ, Lemoine NR. Expression and function activity of fibroblast growth factors and their receptors in human pancreatic cancer. *Int J Cancer* 1994; 59: 667-675.
 66. Korck M, Meltzer P, Trent J. Enhanced expression of epidermal growth factor receptor correlates with alterations of chromosome 7 in human pancreatic cancer. *Proc Natl Acad Sci USA* 1986; 83: 5.141-5.144.
 67. Weinel R, Rosendhal A, Pinschmidt E et al. The alpha6-integrin receptor in pancreatic carcinoma. *Gastroenterology* 1995; 108: 523-532.
 68. Rall CJN, Rustgi AK. CD44 isoform expression in primary and metastatic pancreatic adenocarcinoma. *Cancer Res* 1995; 55: 1.831-1.835.
 69. Ghradirian P, Boyle P, Simard A et al. Reported family aggregation of pancreatic cancer within a population-based case-control study in the francophone community in Montreal, Canada. *Int J Pancreatol* 1991; 10: 183-196.
 70. Falk RT, Pickle LW, Fonham ET et al. Life-style risk factors for pancreatic cancer in Louisiana: a case-control study. *Am J Epidemiol* 1988; 128: 324-336.
 71. Lynch HT. Genetics and pancreatic cancer. *Arch Surg* 1994; 129: 266-268.
 72. Goldstein AM, Fraser MC, Struewing JP et al. Increased risk of pancreatic cancer in melanoma-prone kindreds with p16INK4 mutations. *N Engl J Med* 1995; 333: 970-974.
 73. Whelan AJ, Bartsch D, Goodfellow PJ. Brief report: a familial syndrome of pancreatic cancer and melanoma with a mutation in the CDKN2 tumor-suppressor gene. *N Engl J Med* 1995; 333: 975-977.
 74. Cubilla AL, Fitzgerald PJ. Tumors of exocrine pancreas. Atlas of tumor pathology. Vol 19 (1ª ed.). Bethesda: Armed Forces Institute of Pathology, 1984.
 75. Klöppel G. Pathology of nonendocrine pancreatic tumors. En: Go VLW, Dimagno EP, Gardner JD et al, editores. *The pancreas. Biology, pathology and disease*. Nueva York: Raven Press, Ltd., 1993; 871-897.
 76. Yanagisawa A, Ohtake K, Ohashi K et al. Frequent c-Ki-ras oncogene activation in mucous cell hyperplasias of pancreas suffering from chronic inflammation. *Cancer Res* 1993; 53: 953-956.
 77. Trümper LH, Bürger B, Von Bonin F et al. Diagnosis of pancreatic adenocarcinoma by polymerase chain reaction from pancreatic secretions. *Br J Cancer* 1994; 70: 278-284.
 78. DiGiuseppe JA, Hruban RH, Offerhaus GJA et al. Detection of Ki-ras mutations in mucinous pancreatic duct hyperplasia from a patient with a family history of pancreatic carcinoma. *Am J Pathol* 1994; 144: 889-895.
 79. Schmid RM, Adler G. Chronic pancreatitis. *N Engl J Med* 1995; 333: 1.222.
 80. Berthélemy P, Bouisson M, Escourrou J et al. Identification of K-ras mutations in pancreatic juice in the early diagnosis of pancreatic cancer. *Ann Intern Med* 1995; 123: 188-191.
 81. Suzuki H, Yoshida S, Ichikawa Y et al. Ki-ras mutations in pancreatic secretions and aspirates from two patients without pancreatic cancer. *J Natl Cancer Inst* 1994; 86: 1.547-1.549.
 82. Sorenson GD, Pribish DM, Valone FH et al. Soluble normal and mutated DNA sequences from single-copy genes in human blood. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1994; 3: 67-71.
 83. Malats N, Porta M, Piñol J et al. K-ras mutations as a prognostic factor in extrahepatic bile system cancer. *J Clin Oncol* 1995; 13: 1.679-1.686.
- Desde la elaboración de esta revisión se han producido algunas publicaciones de interés que merecen ser consideradas por los lectores. Las más destacables son las siguientes:
- Huang L, Goodrow T, Zhang S-Y et al. Deletion and mutation analysis of the P16/MTS-1 tumor suppressor gene in human ductal pancreatic cancer reveals a higher frequency of abnormalities in tumor-derived cell lines than in primary ductal adenocarcinomas. *Cancer Res* 1996; 56: 1.137-1.141.
 - Villanueva A, Reyes G, Guatrecasas M et al. Diagnostic utility of K-ras mutations in fine-needle aspirates of pancreatic masses. *Gastroenterology* 1996; 110: 1.587-1.594.
 - Hahn S, Schutte M, Hoque ATMS et al. DPC4, a candidate tumor suppressor gene at human chromosome 18q21.1. *Science* 1996; 271: 350-353.
 - Hahn S, Hoque ATMS, Moskaluk CA et al. Homozygous deletion map at 18q21.1 in pancreatic cancer. *Cancer Res* 1996; 56: 490-494.
 - Weyrer K, Feichtinger H, Haun M et al. P53, K-ras, and DNA ploidy in human pancreatic ductal adenocarcinomas. *Lab Invest* 1996; 74: 279-289.
 - Tada M, Ohashi M, Shiratori Y et al. Analysis of K-ras mutation in hyperplastic duct cells of the pancreas without pancreatic disease. *Gastroenterology* 1996; 110: 227-231.