



Universitat Autònoma de Barcelona

ADVERTIMENT. L'accés als continguts d'aquesta tesi queda condicionat a l'acceptació de les condicions d'ús establertes per la següent llicència Creative Commons:  http://cat.creativecommons.org/?page_id=184

ADVERTENCIA. El acceso a los contenidos de esta tesis queda condicionado a la aceptación de las condiciones de uso establecidas por la siguiente licencia Creative Commons:  <http://es.creativecommons.org/blog/licencias/>

WARNING. The access to the contents of this doctoral thesis it is limited to the acceptance of the use conditions set by the following Creative Commons license:  <https://creativecommons.org/licenses/?lang=en>



**Universitat Autònoma
de Barcelona**

.....
DEPARTAMENTO DE MEDICINA

TESIS DOCTORAL

Estudio de bases moleculares adicionales que definen la eficacia de vismodegib y fenómenos de resistencia en pacientes con carcinoma basocelular localmente avanzado y/o metastásico mediante la recogida de biopsias cutáneas seriadas durante el tratamiento con este fármaco

VERÓNICA RUIZ SALAS

.....
DIRECTORES DE LA TESIS

DR. LLUÍS PUIG SANZ

DR. JOAN RAMÓN GARCÉS GATNAU

DRA. MARTA ALEGRE FERNÁNDEZ

SERVICIO DE DERMATOLOGÍA

HOSPITAL DE LA SANTA CREU I SANT PAU
BARCELONA

2016

A MIS PADRES, CARLOS Y M^a JESÚS

AGRADECIMIENTOS

AL DR. LLUÍS PUIG, JEFE DE SERVICIO DE DERMATOLOGÍA DEL HOSPITAL DE SANT PAU, DIRECTOR Y TUTOR DE LA TESIS DOCTORAL, POR LA CONFIANZA DEPOSITADA, HABERME DADO LA OPORTUNIDAD DE PODER DESEMPEÑAR CON GRAN ENTUSIASMO MI LABOR PROFESIONAL DENTRO DE LA DERMATOLOGÍA ONCOLÓGICA Y QUIRÚRGICA, Y HACERME PARTÍCIPE DEL ENSAYO CLÍNICO STEVIE QUE HA SIDO OBJETO DE ESTE TRABAJO.

AL DR. JOAN RAMÓN GARCÉS, JEFE CLÍNICO DE LA UNIDAD DE ONCOLOGÍA CUTÁNEA DEL HOSPITAL DE SANT PAU, DIRECTOR DE LA TESIS E INVESTIGADOR COLABORADOR DEL ENSAYO STEVIE, POR SU APOYO CONSTANTE, SUS BUENOS CONSEJOS, SU GENEROSIDAD, Y POR ENSEÑARME Y GUIARME DURANTE EL EJERCICIO DIARIO DE MI PROFESIÓN DENTRO DEL ÁMBITO DE LA DERMATOLOGÍA ONCOLÓGICA Y QUIRÚRGICA, HACIÉNDOME CRECER PROFESIONALMENTE A SU LADO.

A LA **DRA. MARTA ALEGRE**, JEFE DE SERVICIO DE DERMATOLOGÍA DEL HOSPITAL PLATÓ, DIRECTORA DE LA TESIS DOCTORAL E INVESTIGADORA PRINCIPAL DEL ENSAYO STEVIE, POR SU APOYO Y COLABORACIÓN EN MI PRÁCTICA QUIRÚRGICA DIARIA Y EN LA ATENCIÓN PERIÓDICA DE LOS PACIENTES DE ESTE ESTUDIO.

AL DR. RAFAEL ROSELL, DIRECTOR MÉDICO DEL INSTITUTO ONCOLÓGICO DR. ROSELL Y DIRECTOR DEL PROGRAMA DE LA BIOLOGÍA DEL CÁNCER Y LA MEDICINA PRECISA DEL INSTITUTO CATALÁN DE ONCOLOGÍA EN EL HOSPITAL GERMANS TRIAS I PUJOL, A LA **DRA. NIKI KARACHALIOU**, INVESTIGADORA DEL INSTITUTO ONCOLÓGICO DR. ROSELL Y A **ANNA DROZDOWSKYJ**, ESTADÍSTICA COLABORADORA DEL INSTITUTO ONCOLÓGICO DR. ROSELL, POR EL IMPECABLE SOPORTE REALIZADO PARA PODER LLEVAR A CABO EL ESTUDIO GENÉTICO DE LAS MUESTRAS CUTÁNEAS Y EL ANÁLISIS ESTADÍSTICO E INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS, SIN EL CUAL NO HUBIERA PODIDO LLEVARSE A CABO ESTE PROYECTO.

A LA **DRA. MARGARIDA MAJEM**, FACULTATIVA ESPECIALISTA Y MÉDICO ADJUNTO DEL SERVICIO DE ONCOLOGÍA DEL HOSPITAL DE SANT PAU E INVESTIGADORA COLABORADORA DEL ENSAYO STEVIE, POR SU CONTRIBUCIÓN DURANTE EL DESARROLLO DEL MISMO Y POR AYUDAR A ESTABLECER LA CONEXIÓN CON EL INSTITUTO ONCOLÓGICO DR. ROSELL PARA HACER POSIBLE ESTE TRABAJO.

A LA **DRA. ANNA MOZOS**, FACULTATIVA ESPECIALISTA Y MÉDICO ADJUNTO DEL SERVICIO DE ANATOMÍA PATOLÓGICA DEL HOSPITAL DE SANT PAU, POR SU DISPONIBILIDAD Y AYUDA PRESTADA PARA LA HOMOGENEIZACIÓN DE LA REVISIÓN DE LAS BIOPSIAS CUTÁNEAS DE LOS PACIENTES DE ESTE ESTUDIO.

AL DR. JOSEP ISERN, FACULTATIVO ESPECIALISTA Y MÉDICO ADJUNTO DEL SERVICIO DE ONCOLOGÍA RADIOTERÁPICA DEL HOSPITAL DE SANT PAU E INVESTIGADOR COLABORADOR DEL ENSAYO STEVIE, POR SU COLABORACIÓN Y SOPORTE EN LA ASISTENCIA CLÍNICA REGULAR DE LOS PACIENTES EN EL TRANCURSO DEL MISMO.

AL DR. IGNASI GICH, FACULTATIVO ESPECIALISTA Y MÉDICO ADJUNTO DEL SERVICIO DE EPIDEMIOLOGÍA CLÍNICA Y SALUD PÚBLICA DEL HOSPITAL DE SANT PAU, POR LA DISPONIBILIDAD Y CONTRIBUCIÓN EN EL ANÁLISIS ESTADÍSTICO E INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS DE ESTE TRABAJO.

A **ROCHE PHARMA**, POR PROMOVER EL DESARROLLO DEL ENSAYO STEVIE EN EL HOSPITAL DE SANT PAU Y PERMITIR LA RECOGIDA Y ESTUDIO DE LAS BIOPSIAS CUTÁNEAS NECESARIAS PARA PODER LLEVAR A CABO ESTE TRABAJO.

A MI FAMILIA, ESPECIALMENTE A MIS PADRES, POR EL GRAN APOYO RECIBIDO DURANTE TODA MI ETAPA ACADÉMICA Y PROFESIONAL, POR ESTAR CONMIGO EN LOS BUENOS Y SOBRE TODO EN LOS MALOS MOMENTOS Y POR AYUDARME A MANTENER Y POTENCIAR LA MOTIVACIÓN NECESARIA PARA MI CRECIMIENTO PROFESIONAL Y PERSONAL.

1. INTRODUCCIÓN	9
2. EL CARCINOMA BASOCELULAR	11
2.1. EPIDEMIOLOGÍA	12
2.1.1. INCIDENCIA Y PREVALENCIA	12
2.1.2. FACTORES DE RIESGO	14
2.1.3. POLIMORFISMOS GENÉTICOS	33
2.1.4. RIESGO SUBSECUENTE DE CÁNCER TRAS EL DESARROLLO DE CARCINOMA BASOCELULAR	35
2.2. PATOGÉNESIS MOLECULAR	36
2.2.1. ALTERACIONES GENÉTICAS	38
2.2.1.1. VIA HEDGEHOG	38
2.2.1.2. VIA DEL RECEPTOR DEL FACTOR DE CRECIMIENTO EPIDÉRMICO	45
2.2.1.3. ALTERACIÓN EN P53	46
2.2.1.4. COOPERACIÓN ENTRE VIA HEDGEHOG Y OTRAS ONCOGÉNICAS DE SEÑALIZACIÓN	47
2.3. DIAGNÓSTICO DEL CARCINOMA BASOCELULAR	50
2.3.1. VARIANTES CLÍNICAS	50
2.3.2. DERMATOSCOPIA DEL CARCINOMA BASOCELULAR	51
2.3.2.1. DIAGNÓSTICO DIGITAL DEL CARCINOMA BASOCELULAR	53
2.3.3. ANATOMÍA PATOLÓGICA DEL CARCINOMA BASOCELULAR	54
2.4. DEFINICIÓN DEL CARCINOMA BASOCELULAR LOCALMENTE AVANZADO	58
2.5. DEFINICIÓN DE CARCINOMA BASOCELULAR METASTÁSICO	63

2.6. TRATAMIENTO DEL CARCINOMA BASOCELULAR	63
2.6.1. OPCIONES TERAPÉUTICAS PARA EL CARCINOMA BASOCELULAR NO LOCALMENTE AVANZADO	63
2.6.1.1. TERAPIAS FARMACOLÓGICAS TÓPICAS	66
2.6.1.2. TERAPIA FOTODINÁMICA	69
2.6.1.3. TRATAMIENTO QUIRÚRGICO	73
2.6.1.4. RADIOTERAPIA	78
2.6.2. TRATAMIENTO DEL CARCINOMA BASOCELULAR LOCALMENTE AVANZADO Y CARCINOMA BASOCELULAR METASTÁSICO	82
2.6.2.1. TRATAMIENTO QUIRÚRGICO	82
2.6.2.2. RADIOTERAPIA	82
2.6.2.3. QUIMIOTERAPIA CLÁSICA	82
3. ANTECEDENTES: VISMODEGIB	85
3.1. DESARROLLO PRECLÍNICO DE	86
3.2. FARMACOCINÉTICA DE VISMODEGIB	87
3.3. ENSAYOS CLÍNICOS CON VISMODEGIB EN EL CARCINOMA BASOCELULAR	88
3.4. EXPERIENCIA DEL USO DE VISMODEGIB EN OTROS TUMORES	98
3.5. MECANISMOS DE RESISTENCIA A VISMODEGIB	102
3.6. EFECTOS ADVERSOS DE VISMODEGIB E INTERACCIÓN CON OTROS FÁRMACOS	105
3.7. DESARROLLO DE CE CONCOMITANTE CON EL TRATAMIENTO CON VISMODEGIB	109
3.8. MONITORIZACIÓN DE LA RESPUESTA A VISMODEGIB	110
3.9. VISMODEGIB EN SITUACIONES ESPECIALES	111
3.10. OTROS INHIBIDORES DE LA VIA HEDGEHOG EN DESARROLLO	112

4. JUSTIFICACIÓN, HIPÓTESIS Y OBJETIVOS DEL ESTUDIO	115
4.1. JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO	116
4.2. HIPÓTESIS	117
4.3. OBJETIVOS	118
5. DISEÑO DEL ESTUDIO	119
5.1. DISEÑO DEL ESTUDIO	120
6. PACIENTES Y MÉTODOS	126
6.1. PACIENTES	127
6.1.1. POBLACIÓN EN ESTUDIO	127
6.1.2. CRITERIOS DE INCLUSIÓN	127
6.1.3. CRITERIOS DE EXCLUSIÓN	128
6.1.4. CARACTERÍSTICAS DE LOS PACIENTES EN ESTUDIO	128
6.2. MÉTODOS	134
6.2.1. TRATAMIENTO	134
6.2.2. OBTENCIÓN DE LAS MUESTRAS CUTÁNEAS	134
6.2.3. PROCESADO DE LAS MUESTRAS CUTÁNEAS	134
6.2.4. DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LAS MOLÉCULAS ESTUDIADAS Y SU RELACIÓN CON VÍA HEDGEHOG	135
6.2.5. METODOLOGÍA ESTADÍSTICA	139
6.2.5.1. ESTUDIO DE LOS PACIENTES	139
6.2.5.2. ESTUDIO MOLECULAR Y GENÉTICO	139

7. RESULTADOS	141
7.1. CARACTERÍSTICAS BASALES	142
7.2. HALLAZGOS HISTOPATOLÓGICOS EN LAS BIOPSIAS DE SEGUIMIENTO	144
7.3. TRATAMIENTO CON VISMODEGIB	146
7.4. SEGURIDAD DE VISMODEGIB	152
7.5. ANÁLISIS GENÉTICO Y SU RELACIÓN CON LA RESPUESTA A VISMODEGIB	154
7.5.1. DISTRIBUCIÓN DE LOS VALORES DE EXPRESIÓN DE ARNm DE LOS BIOMARCADORES SELECCIONADOS EN DIFERENTES MOMENTOS EVOLUTIVOS DURANTE EL TRATAMIENTO	156
7.5.2. EXPLORACIÓN GRÁFICA DE LA EVOLUCIÓN DE LOS VALORES DE EXPRESIÓN DE ARNm DE LOS BIOMARCADORES SELECCIONADOS EN EL TRATAMIENTO EN TODOS LOS PACIENTES	158
7.5.3. CORRELACIÓN ENTRE LOS VALORES DE EXPRESIÓN DE ARNm DE LOS BIOMARCADORES SELECCIONADOS EN LAS BIOPSIAS BASALES EN TODOS LOS PACIENTES	164
7.5.4. RELACIÓN ENTRE LOS NIVELES BASALES DE EXPRESIÓN DE ARNm DE LOS BIOMARCADORES Y LA RESPUESTA AL TRATAMIENTO	166
7.5.5. ANÁLISIS UNIVARIANTE DE LA RELACIÓN ENTRE LA SUPERVIVENCIA GLOBAL Y SUPERVIVENCIA LIBRE DE PROGRESIÓN CON LA EXPRESIÓN DE ARNm DE LOS BIOMARCADORES SELECCIONADOS EN BIOPSIAS BASALES	179
7.5.6. EVOLUCIÓN DE LOS NIVELES DE LOS BIOMARCADORES EN AQUELLOS PACIENTES QUE PRESENTAN ≥ 2 BIOPSIAS ANALIZADAS	185
8. DISCUSIÓN	217
8.1. PACIENTES	218
8.2. EVALUACIÓN SOBRE LA EFICACIA Y SEGURIDAD DE VISMODEGIB	219
8.3. EVALUACIÓN HISTOPATOLÓGICA	223
8.4. ESTUDIO DE TRANSCRIPCIÓN GENÉTICA	224
9. CONCLUSIONES	226
10. ANEXOS	232
11. ICONOGRAFÍA	239
12. BIBLIOGRAFÍA	246

1. INTRODUCCIÓN

La oncología dermatológica es un área de trabajo fundamental dentro de la Dermatología, donde la asistencia a pacientes con neoplasias cutáneas, principalmente con Carcinoma basocelular, es una práctica clínica habitual dentro de nuestro ejercicio laboral.

En la actualidad, y centrándonos en el Carcinoma basocelular, disponemos de un amplio arsenal terapéutico para el tratamiento de esta patología, y la elección de la opción más adecuada dependerá fundamentalmente del tipo, tamaño y localización tumoral así como del contexto clínico del paciente. Sin embargo, existe un grupo de pacientes con tumores “complejos”, que globalmente podríamos clasificar dentro de la denominación de Carcinoma basocelular localmente avanzado y metastásico, tratándose en la mayoría de los casos de lesiones de gran tamaño con invasión en profundidad de estructuras extracutáneas y a distancia, que dificultan el abordaje con los métodos disponibles habituales y con los que no se puede garantizar la resolución completa tumoral. Esto ha generado la necesidad de desarrollo en los últimos años de lo que conocemos como “terapias diana” o dirigidas, con capacidad para inhibir de forma selectiva la vía molecular de señalización principalmente implicada en el desarrollo de este tumor. Vismodegib representa el primer fármaco de esta categoría aprobado por la FDA y la EMA para el tratamiento del Carcinoma basocelular localmente avanzado y/o metastásico, avalado por unos datos de eficacia y seguridad razonablemente aceptables. Sin embargo, nuestro conocimiento sobre la efectividad y actividad real del mismo en la práctica clínica habitual, sobre cada tumor y en cada paciente concreto, así como la aparición de acontecimientos paralelos con el uso concomitante del fármaco, es limitado, necesitando de una mayor experiencia clínica y sobre todo de estudios moleculares adicionales que permitan explicarlo.

El presente trabajo, que ha motivado y permitido la realización de mi tesis doctoral, pretende ampliar el conocimiento sobre esta patología y aportar nuevos datos que permitan avanzar en la comprensión del mecanismo de acción de vismodegib y que pudieran proporcionar una base de otras vías de estudio futuras.

2. EL CARCINOMA BASOCELULAR

2.1. EPIDEMIOLOGÍA

2.1.1. INCIDENCIA Y PREVALENCIA

El Carcinoma basocelular (CBC) es una neoplasia cutánea maligna que representa el cáncer más frecuente en los seres humanos y el 80% del cáncer cutáneo no melanoma (CCNM), siendo 4 veces más frecuente que el Carcinoma escamoso (CE) en la población general ⁽¹⁾. Actualmente, todavía no se ha establecido de forma clara el origen celular del CBC, ni tampoco la existencia de lesiones cutáneas precursoras. Un trabajo reciente plantea que la célula a partir de la cual podría desarrollarse el CBC se encuentra en la epidermis interfolicular y en el infundíbulo, no en el bulbo del folículo ⁽²⁻⁴⁾. Teniendo en cuenta las diversas teorías, podríamos hipotetizar que el origen celular para el desarrollo del CBC se ubicaría en varios niveles o compartimentos cutáneos. La verdadera incidencia y prevalencia de este tumor es difícil de establecer porque la mayoría de los registros de cáncer, tales como el de Vigilancia, Epidemiología y Programa de Resultados Finales (SEER) excluyen el CCNM. Es un tumor que, generalmente, afecta a personas mayores de 50 años y, en éste grupo de edad, la incidencia se está incrementando en los últimos años. Globalmente, se ha objetivado un incremento importante en el diagnóstico y tratamiento de este tumor en las últimas 2 décadas, lo que podría atribuirse a varias causas como son el envejecimiento de la población, cambios en los hábitos de fotoexposición, modificaciones medioambientales y patrones migratorios, así como el incremento en el consumo de fármacos inmunosupresores. En los últimos años, se ha objetivado un aumento de la incidencia del CBC en menores de 40 años, y particularmente en mujeres jóvenes. Algunas de las causas relacionadas con éste hecho podrían ser la intensa exposición solar durante las actividades recreativas sin fotoprotección y el uso de cámaras de bronceado ^(5, 6).

Las tasas más altas de incidencia corresponden a Australia y Nueva Zelanda, alcanzándose cifras de hasta un 2% y año según el área geográfica. En EEUU se calcula que ocurren más de 1 millón de casos nuevos anuales de CCNM, correspondiendo el 70-80% a CBC y 20-30% a CE. Las tasas de incidencia estandarizadas para la población de EEUU son de 10 veces superior y para Australia de 20 veces superior, en comparación con el resto de países. En Europa, las cifras varían según el país consultado; un estudio reciente danés informó de un aumento en la incidencia ajustada por edad para CBC de 27,1 a 96,6 casos/100.000 habitantes en mujeres y de 34,2 a 91,2 casos/100.000 habitantes para los hombres entre 1978 y 2007, respectivamente, que son similares a las incidencias encontradas en Alemania. De forma similar, las tasas de incidencia en los Países Bajos se han triplicado entre 1973 y 2008 (40 a 148/100.000 habitantes en varones y de 34 a 141/100.000 en mujeres, respectivamente) ⁽¹⁾. En el Reino Unido se ha objetivado un incremento anual del 3% en el diagnóstico de CBC desde 1996 a 2003; un estudio reciente británico comparó la incidencia de CBC en 2 períodos de tiempo en la población del este de Inglaterra en pacientes menores de 30 años. Los datos se obtuvieron del centro de información y registro de cáncer del este de Inglaterra (ECRIC) durante los períodos 1981-1989 y 1998-2006 objetivando un aumento de la incidencia de CBC de un 0.73 a 1.79 por 100.000 habitantes en menores

de 30 años. El 55% de los tumores se localizaron en cabeza y cuello, comparado con el 80-90% en la población global en éste área, y un 29% de los tumores se localizaron en el tronco ⁽⁷⁾. En un estudio realizado en España, la incidencia de CBC ajustada por edad se vió incrementada de 48.5/100.000 habitantes (1994-95) a 60.5/100.000 habitantes (2004-05) ⁽⁸⁾. Recientemente se ha creado en nuestro país una base de datos colectiva nacional (REGESMOHS) que tiene por objetivo recoger y describir los resultados relativos al cáncer cutáneo en nuestro medio, en concreto en relación al empleo de la cirugía de Mohs en España, y favorecer la implantación de criterios terapéuticos comunes respecto a esta actividad. Al igual que en otras series, el CBC representa el tumor cutáneo más frecuente, siendo la localización predominante en cabeza y cuello ⁽⁹⁾.

2.1.2. FACTORES DE RIESGO

- Predisposición genética: Fototipos I-III. Existe asociación estadísticamente significativa entre ojos claros y CBC en 11 de 13 estudios revisados, con pelo claro en 15 de 17 estudios y entre fototipo I-II y CBC en 15 de 16 estudios ^(10, 11).
- Exposición a radiación ultravioleta (RUV): El principal factor de riesgo para CBC es la exposición a RUV. Ambos espectros (UV-A y UV-B) inducen daño en el ADN, que se repara de forma automática, pero en muchas ocasiones esto ocurre solo de forma parcial ⁽¹²⁾. Los genes diana mutados por la RUV están implicados en procesos de reparación y proliferación celular, sobre todo por la radiación UV-B (290-320 nm) que induce mutaciones en los genes supresores y reguladores tumorales ⁽¹³⁾. Se sabe que la RUV contribuye al desarrollo de varios tipos de cáncer cutáneo a través de daño directo al ADN pero también reduciendo la respuesta inmune, de manera que puede favorecer el desarrollo de diversos tumores. Sin embargo, la influencia precisa de este factor depende de la latitud geográfica (existiendo diferencias entre tasas de incidencia según latitud Norte-Sur en Australia y Nueva Zelanda objetivando las tasas más altas en Queensland), fototipo cutáneo y de los patrones y tiempo de exposición a la RUV ⁽¹⁴⁾. Una exposición intensa pero intermitente con antecedente de quemaduras solares especialmente en la niñez y adolescencia se asocia con un riesgo incrementado de CBC. La razón para esta asociación no está clara pero se piensa que la inmunosupresión y los cambios metabólicos inducidos por la RUV en la infancia se mantendrían hasta la edad adulta y predispondrían al desarrollo de diversos tipos de cáncer cutáneo. Scotto y col. demostraron una fuerte correlación entre la latitud y el desarrollo de CBC y CE en hombres y mujeres ⁽¹⁵⁾. Parece ser que el tipo de exposición también podría determinar, aunque no de forma directa, el desarrollo de un determinado subtipo histológico de CBC; mientras que los subtipos nodular y morfeiforme serían más frecuentes en cabeza y cuello, el subtipo superficial es más frecuente en tronco y extremidades, aunque sabemos que no sería el único factor determinante ⁽¹⁶⁾. Los efectos carcinogénicos de la RUV están bien documentados tanto a nivel experimental como epidemiológico. La RUV, en particular la RUV-B, es carcinogénica tanto a nivel directo (produciendo daño directo en el ADN) como indirecto, induciendo inmunosupresión (supresión de linfocitos T). Existe suficiente evidencia científica que demuestra que ésta actúa induciendo cambios específicos en diversos oncogenes, en el gen de la telomerasa y en el gen supresor tumoral p53 (también conocido como ATP53) que son los responsables del inicio y progresión del cáncer cutáneo. La RUV-B induce la formación de uniones covalentes de dímeros de pirimidinas conduciendo a la generación de fotoproductos mutagénicos como dímeros de ciclopirimidina (TT) y pirimidina-pirimidina ⁽¹⁷⁾. Este hecho no es mutagénico en si mismo y casi siempre es reparado mediante enzimas de reparación por escisión de nucleótidos. Sin embargo si esta reparación no se realiza o se realiza de forma incompleta, la ADN polimerasa insiere dinucleótidos de adenosina (AA) opuestos a

dímeros de pirimidina no reparados, lo cual incrementa las mutaciones en los queratinocitos y conduce a la transformación neoplásica. Tales mutaciones son características y únicamente inducidas por la RUV y no por otros mutagénos ⁽¹⁸⁾. Ouhtti y col. desarrollaron un método sensible basado en la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) capaz de detectar y cuantificar las mutaciones específicas por radiación en el gen p53 (codones 247 and 248: AAC CGG - AAT TGG) en la piel normal, de manera que observaron que la odds ratio (OR) para el desarrollo de CBC de incrementaba de forma homogénea y directa con la frecuencia de mutaciones p53 (OR 3.1, 95% CI= 1.3-7.1) ⁽¹⁹⁾.

La RUV-A (315-400 nm) es menos mutagénica que la RUV-B y causa daño indirecto al ADN a través de un mecanismo foto-oxidativo mediado por estrés, resultando en la formación de especies reactivas de oxígeno que interactúan con los lípidos, proteínas y ADN para generar productos intermedios que se combinan con el ADN para formar moléculas inestables que inducirían el proceso carcinogénico ⁽²⁰⁾. Schmitt y col. llevaron a cabo un metanálisis en el que demostraron que la RUV ocupacional se asociaba de forma estadísticamente significativa con el desarrollo de CE; sería razonable asumir que los trabajadores del exterior con una historia larga de exposición UV presentan también un riesgo incrementado de desarrollo de CBC, sin embargo este hecho no se ha demostrado epidemiológicamente tan claro como para CE ⁽²¹⁾. Recientemente Bauer y col resumieron la evidencia actual en la literatura que relacionaba y comparaba el riesgo epidemiológico para el desarrollo de CBC en trabajadores de interior y exterior, mostrando un riesgo incrementado significativo para los trabajadores en el exterior con una OR acumulada de 1.43 (95% CI1.23-1.66, P=0.0001). Hay 2 medidas que se consideran de particular importancia a la hora de prevenir el desarrollo de CCNM en trabajadores del exterior: empleo de ropa adecuada y uso correcto de fotoprotectores. La ropa adecuada incluye prendas que cubran las extremidades, sombreros que no solo cubran cabeza sino que protejan también orejas y cuello, y de colores oscuros ⁽²²⁾. El comité europeo para la estandarización (CEN) ha desarrollado un documento en el que se detallan aspectos espectrofotométricos de los diferentes materiales textiles que ayudaría a la selección de determinadas prendas de vestir según el nivel de fotoexposición. El uso regular de agentes fotoprotectores ha demostrado proteger contra el desarrollo de cáncer de piel en diversos estudios experimentales, clínicos y epidemiológicos. También el uso de filtros solares con factor de protección alto ha demostrado proteger contra la inmunosupresión inducida por la RUV ⁽²³⁾. La combinación de diversos patrones de conducta como evitar la exposición solar en determinadas horas (11-3h), el uso adecuado de ropa y filtros solares son consideradas las intervenciones más efectivas para la prevención de diversos tipos de cáncer de piel hasta un 45% estimado para el año 2050, según un estudio realizado por de Vries y col empleando PREVENT, un modelo dinámico de simulación diseñado para evaluar la disminución acumulada de riesgo de cáncer de piel inducido por RUV utilizando diversas medidas preventivas. De la misma manera, el empleo de cámaras de bronceado en interiores también se ha relacionado con un riesgo incrementado de CCNM ⁽²⁴⁾. Concretamen-

te, en un metanálisis desarrollado por Mackenzie y col se objetivó un riesgo relativo (RR) para CBC de 1.29 (1.08-1.53) y de 1.67 para CE (1.29-2.17). Del mismo modo, el empleo de éstos dispositivos en menores de 25 años también estaba fuertemente asociado al desarrollo de CBC (RR1.40, 1.29-1.52) y CE (RR 2.02, 0.70-5.86) ⁽²⁵⁾.

Inmunosupresión inducida por RUV: la RUV suprime la inmunidad celular; un estudio reciente objetivó que la RUV induce inmunosupresión a niveles de 300 nm (UV-A) y 370 nm (UV-B). Varios trabajos han demostrado que suprime la activación de las células T en los ganglios linfáticos de drenaje cutáneo durante la respuesta inmune primaria, se afecta la diferenciación de la célula T en célula T memoria y existe interferencia con la presentación de antígenos, sugiriendo que se induce un estado de inmunotolerancia en las células dañadas por la RUV que conduce también a una disminución de la respuesta inmunológica frente a las células tumorales. Además, algunos estudios han propuesto que puede existir una relación dosis-dependiente entre el nivel de inmunosupresión y la RUV recibida. A nivel local cutáneo y en respuesta a la RUV, los queratinocitos secretan el factor activador de plaquetas (PAF) que se une a los monocitos, mastocitos y queratinocitos, ocasionando liberación de prostaglandinas que conduce a la liberación de determinadas interleucinas (IL) inmunosupresoras como son la IL-4 e IL-10, entre otras, así como supresión de la IL-12 proinflamatoria. En general, la RUV conduce a un incremento de células T reguladoras y una disminución en el número de células T efectoras a nivel cutáneo, favoreciendo un ambiente de inmunosupresión. Las células T reguladoras tienen fenotipo CD4, CD25, Foxp3, CTLA4 y suprimen la activación y la proliferación de determinadas citocinas y de otros tipos de células T que estimulan el sistema inmune. También hay alguna evidencia de implicación del receptor Toll-like 4 (TLR4) en la inmunosupresión causada por la RUV. El grupo de células B reguladoras también se activan en respuesta a la RUV, e inhiben las células dendríticas. Los productos resultantes de la activación del complemento también se expresan en la piel fotoexpuesta, y algunos estudios muestran que la unión del fragmento C3 activado del complemento a su receptor CD11b en monocitos resultan en una secreción incrementada de la IL-10 antiinflamatoria y suprime la secreción de IL-12 proinflamatoria ⁽²⁶⁾. En estudios experimentales se ha propuesto que la inmunosupresión mediada por la RUV estaría parcialmente mediada por el ácido urocanico (UCA), un fotorreceptor localizado en el estrato córneo de la epidermis. Welsh y col plantearon la hipótesis de que las variaciones genéticas en el gen de la histidasa (HAL), que cataliza la formación de UCA en la piel, podrían influir en el riesgo de desarrollo de CBC y Carcinoma escamoso (CE); sin embargo no encontraron asociaciones estadísticamente significativas entre el polimorfismo genético principal (HAL I439V) y el desarrollo de CBC y CE, aunque sí encontraron una interacción entre este polimorfismo genético y el antecedente de quemaduras solares para CBC (P=0.040) y para CE (P=0.018) ⁽²⁷⁾.

- **Antecedentes traumáticos:** Cicatrices secundarias a quemaduras y úlceras crónicas. El término Úlcera de Marjolín se emplea para definir la transformación maligna de úlceras crónicas,

tractos sinusoidales y cicatrices de quemaduras. Aproximadamente el 2% de las cicatrices secundarias a quemadura sufren malignización, siendo el CE la neoplasia más frecuentemente observada, seguida por el CBC. El mecanismo patogénico de la Ulcera de Marjolín es desconocido, por lo que se han planteado varias hipótesis. Se han implicado factores como el traumatismo repetido, que dificultaría la reepitelización, el estado de “infra-alimentación” del área traumatizada y la liberación de determinadas toxinas que promoverían la carcinogénesis. Bostwick y col consideran la cicatriz por quemadura como un área inmunológicamente aislada, lo que provoca una disminución de la supervivencia tisular normal para las mutaciones celulares, haciéndola más susceptible a las transformaciones malignas. Se piensa también que los mecanismos patogénicos subyacentes al desarrollo y progresión de los CE asociados a quemaduras son diferentes a los de los CE comunes. Aunque aún no se han realizado estudios funcionales, se postula que mutaciones en el gen Fas, gen implicado en la apoptosis celular, parecen proteger a las células tumorales del sistema inmune del huésped, permitiendo la progresión tumoral ⁽²⁸⁾.

- Estatus socioeconómico: Un trabajo reciente realizado en Dinamarca sugiere que el estatus socioeconómico alto, evaluado mediante el nivel educativo y el capital económico, está fuertemente asociado con un mayor riesgo de CBC, no así para CE. Este hallazgo probablemente refleja los diferentes patrones de exposición solar relacionados con el nivel socioeconómico ⁽²⁹⁾.
- Vitamina D: La vitamina D (VD) se presenta en varias formas; las 2 más importantes son D2 (o ergocalciferol, que se encuentra en algunos productos animales) y D3 (colecalfiferol que se encuentra en algunos tipos de pescado azul como el salmón). La vitamina D3 también es sintetizada por los queratinocitos, que convierten el 7- dehidrocolesterol a la previtamina D3 en una reacción catalizada por la RUV en longitudes de onda de 290 a 320 nm, con una síntesis máxima entre 295 y 300 nm ⁽³⁰⁾. Ya sea a través de la exposición al sol, la alimentación, o suplementos orales, las previtaminas D2 y D3 son biológicamente inertes y debe someterse a 2 hidroxilaciones en el organismo para su activación. La primera ocurre en el hígado y convierte la previtamina a 25-hidroxivitamina D (25 [OH] D), o calcidiol. Debido a que el calcidiol tiene una vida media de varias semanas y refleja los niveles circulantes en el organismo, es la forma utilizada para medir los niveles de VD en el suero, cuyo rango de normalidad oscila entre 15 y 80 ng/mL (37,5 a 200 nmol/L) ⁽³¹⁾. La segunda hidroxilación de la VD se produce en el riñón y da como resultado la formación de la forma fisiológicamente activa 1,25-dihidroxivitamina D3 (1,25 [OH] 2D) o calcitriol. Además de su producción en el riñón, el calcitriol se produce, en cantidades pequeñas, dentro de los queratinocitos, que también presentan receptores de vitamina D (VDR), sin embargo su regulación difiere de la de los riñones, lo que sugiere la existencia de un vía reguladora propia autocrina o paracrina. Su producción cutánea también está implicada en el crecimiento y desarrollo de los queratinocitos, de manera que interactúa con el calcio para regular la diferenciación queratinocítica. Los queratinocitos que carecen

de VDR son hiperproliferativos y muestran una disminución de la apoptosis ⁽³⁴⁾. Después de la síntesis en el riñón, 1,25 (OH) 2D se libera en el sistema circulatorio, donde se une a la proteína de unión a vitamina D (VDBP). Una vez que alcanza el tejido diana, el calcitriol se disocia de la VDBP, entra en la célula por difusión, y se une a VDR nuclear de la célula para regular la transcripción de genes. El VDR se expresa en la mayoría de células y tejidos en el cuerpo, y tiene una amplia gama de acciones biológicas, incluyendo la disminución de la proliferación celular, inducción de la diferenciación terminal, la inhibición de la angiogénesis, estimula la producción de insulina y de la catelicidina por parte de los macrófagos ⁽³³⁾. La síntesis cutánea de VD se realiza gracias a la RUV-B y, curiosamente, el espectro de RUV-B necesario para la VD síntesis, coincide con longitudes de onda implicadas en fotocarcinogénesis ⁽³⁵⁾. No está claro si existe una dosis “segura” de RUV-B (es decir, aquella que maximiza la síntesis de VD al tiempo que minimiza el daño del ADN y fotocarcinogénesis). La síntesis cutánea de vitamina D3 sigue una curva exponencial tras la exposición a RUV-B, de tal manera que, tras un tiempo de exposición prolongada a RUV-B, se logra un equilibrio de síntesis a partir del cual la vitamina D3 comienza a degradarse tan rápido como se ha generado ⁽³⁶⁾. En su reciente informe, la Organización Internacional para las Migraciones (OIM) reconoció la necesidad de potenciar la investigación sobre si la cantidad de exposición solar necesaria para la síntesis cutánea de VD se asocia con un mayor riesgo de cáncer de piel ⁽³⁷⁾. Se sabe que los pacientes con cáncer de piel y aquellos que deben someterse a fotoprotección extrema, como lupus eritematosos sistémico (LES), Xeroderma Pigmentoso (XP), y el síndrome de Gorlin (SG) tienen un mayor riesgo de la deficiencia de VD. En condiciones controladas, una protección solar con un factor de protección de 15 a 30 pueden disminuir la síntesis de VD. Sin embargo, en condiciones normales de utilización, el uso de protección solar no se ha demostrado que se correlacionen con niveles sensiblemente más bajos de VD ⁽³⁸⁾. La VD se ha asociado con efecto protector del desarrollo de diversos tipos de cáncer. La teoría globalmente aceptada para explicar el papel potencial de la VD en la prevención y tratamiento de diversas neoplasias reside en su potencial antiproliferativo y prodiferenciativo. La evidencia epidemiológica actual de la literatura relaciona unos niveles adecuados de VD con la prevención del cáncer de colon, aunque su implicación en otros tipos de cáncer, como el cáncer cutáneo, no está muy registrado en la literatura. Sin embargo, algunos estudios experimentales con ratones sugieren que la VD y sus metabolitos pueden reducir el riesgo de cáncer de piel mediante la inhibición de la vía de señalización hedgehog (Hh) y mediante la sobreexpresión de las enzimas de reparación del ADN por escisión de nucleótidos. Aquellos ratones que carecen del VDR experimentan un aumento en el número de CCNM, de manera que la adición de VD disminuye el crecimiento de células tumorales. En los seres humanos, los estudios epidemiológicos han reportado resultados diversos, con algunos que sugieren una asociación positiva entre niveles más altos de VD y el aumento de riesgo de cáncer de piel, mientras que otros estudios muestran un riesgo disminuido y otros que no muestran ninguna asociación. En general, podemos decir que existen

algunas evidencias de que la vitamina D puede desempeñar un papel en el desarrollo en el CCNM, aunque hasta el momento no existe evidencia directa de tener un efecto protector. Se necesitarían más estudios epidemiológicos en humanos para establecer una relación directa ⁽³⁹⁾.

VD y relación con el desarrollo de CBC: La VD se ha demostrado que inhibe la vía de señalización Hh, clave en el desarrollo de CBC. Al igual que los queratinocitos de los que deriva, las células del CBC también expresan VDR. En un estudio se observó que las células tumorales periféricas de CBC en humanos tenían una mayor expresión de VDR que las células adyacentes no tumorales. Varios estudios epidemiológicos han intentado correlacionar los niveles de VD y su implicación en el desarrollo de CBC, encontrándose una asociación positiva directa en dos de ellos⁽⁴⁰⁾. Sin embargo, es difícil establecer dicha relación porque los sujetos de éstos estudios diferían en localización geográfica, no se utilizaron registros que evaluaran de forma rigurosa la ingesta alimentaria (y de forma indirecta de VD) y en algunos de ellos no se especificaba de forma concreta si el riesgo estaba relacionado con CBC o CCNM en general. Asgari MM y col⁽⁴¹⁾ han sugerido una correlación positiva entre los niveles de VD y el desarrollo de CBC. Estos autores investigaron la asociación entre los niveles de 25-hidroxivitamina D (25 (OH) D) y el desarrollo de CBC en un estudio de casos y controles en el Norte de California. Compararon los niveles séricos de vitamina D entre 220 casos de CBC y 220 controles. Los resultados fueron ajustados según el índice de masa corporal (IMC), el tabaquismo, la educación, las variables de exposición al sol, la exposición de rayos X y la historia personal de cáncer. Los resultados sugieren que el aumento de los niveles séricos de 25 (OH) VD pueden estar asociados con un mayor riesgo de desarrollo futuro de CBC. Por cada 1 ng/ml de aumento, hubo un aumento correspondiente del 2% en el riesgo ajustado de CBC. Los autores comentan que la exposición al sol, especialmente la exposición intermitente y aguda, podría actuar como un factor de confusión a ésta asociación, al igual que otras variables no evaluadas como el consumo de suplementos de VD. Se necesitarían más estudios en humanos para definir de una manera más precisa la verdadera relación entre los niveles de vitamina D y el riesgo de CBC ⁽⁴¹⁾.

- Radiación ionizante: Es un factor de riesgo para el desarrollo de CBC, sobre todo entre pacientes que han recibido RT para el tratamiento de determinadas neoplasias u otras patologías. Watt y col intentaron cuantificar la asociación entre la dosis de radiación ionizante recibida y el riesgo de desarrollo de CBC en una población de 192 pacientes que habían sido tratados mediante RT por diferentes neoplasias en la infancia ⁽⁴²⁾. Entre todos los pacientes estudiados, el 83% desarrolló CBC entre los 20-39 años, existiendo un mayor riesgo para aquellos pacientes que recibieron 35 Gy o más en un área cutánea determinada (OR 39,8, 95% IC=8.6-185). Además existía una relación lineal dosis-respuesta, con un OR por Gy de 1,09 (95% CI=0.49-2.64).

- Arsénico: Los mecanismos de acción que expliquen la toxicidad por arsénico no son bien conocidos. La carcinogénesis por arsénico actúa a través de diferentes modos de acción, y se piensa que implica la formación de especies reactivas de oxígeno. Las especies reactivas de oxígeno inducen el daño oxidativo del ADN, incluyendo daño en bases nitrogenadas y roturas de pares de bases. Además inhibe los procesos de reparación del ADN, principalmente a través del daño en proteínas de zinc y probablemente a través de la inducción de una expresión alterada de genes secundaria a cambios en la metilación del ADN. La exposición a arsénico inorgánico ocurre en una gran variedad de lugares de trabajo (por ej fabricación de pesticidas, vidrio y en fundiciones de zinc). Además, el arsénico inorgánico se encuentra en agua potable en muchas regiones del mundo como por ej. Asia, Sudamérica, Norteamérica y Europa central ⁽⁴³⁾. La carcinogénesis por arsénico y RUV puede verse modificada por polimorfismos genéticos u otros factores dependientes del huésped como la pigmentación cutánea o sensibilidad a la fotoexposición ⁽⁴⁴⁾. La evidencia científica disponible sugiere que el estrés oxidativo y la alteración de diversos factores de crecimiento juegan papeles mayores. Byrd y col ⁽⁴⁵⁾ revisaron las hipótesis que podrían explicar en parte la variación en la carcinogénesis por arsénico según la forma de exposición (por ej la inhalación causa primariamente cáncer de pulmón, mientras que la ingestión vía oral causaría primariamente cáncer de piel y además está asociada a cáncer de vejiga, riñón y pulmón) y niveles de exposición (por ej. las diferencias en la distribución de arsénico absorbido tras inhalación versus ingestión oral pueden determinar el órgano diana para la carcinogénesis). La saturación o alteración de la metilación y excreción del arsénico a altas dosis puede magnificar la concentración en los tejidos diana e incrementar el riesgo de desarrollo tumoral. La exposición a arsénico se ha implicado de forma importante en el desarrollo de CCNM, con la evidencia más sólida procedente de estudios poblacionales que consumían agua contaminada ⁽⁴⁶⁾. Incluso existe una fuerte evidencia de que el arsénico puede actuar de forma sinérgica con la RUV y la susceptibilidad genética individual en el desarrollo de CCNM. Sin embargo, los hallazgos procedentes de estudios que intentan relacionar el riesgo de CCNM con el arsénico inhalado no son consistentes ^(46, 47). La exposición a arsénico relacionada con el trabajo se ha registrado en diversas ocupaciones que incluye manipulación de metales, productos agrícolas, madera, aditivos alimentarios animales y productos electrónicos ^(48, 49). Surdu S y col ⁽⁵⁰⁾ desarrollaron un estudio con 618 casos con CCNM incidental y 527 controles procedentes de Hungría, Rumanía y Eslovaquia. La prevalencia de exposición a arsénico relacionada con el trabajo fue del 23.9% para los casos y del 15.5% para los controles sin encontrarse asociaciones estadísticamente significativas para el desarrollo de CCNM, aunque se observó una OR incrementada para aquellos participantes con una exposición más prolongada a arsénico en polvo y humo (OR 1.94, 95% CI=0.76-4.95). De forma paralela se observó un incremento en la susceptibilidad de CCNM en mujeres que presentaban coexposición de arsénico aerotransportado y RUV (OR 10.22, 95% CI=2.48-42.07).

- Consumo de alimentos, suplementos alimenticios y fármacos: De Vries y col ⁽⁵¹⁾ intentaron recoger éstos factores en el proyecto EPIDERM (proyecto nº 2007101). Se trata de un estudio multicéntrico de casos y controles que involucra a 8 países europeos (Finlandia, Alemania, Grecia, Italia, Malta, Polonia, Escocia y España) incluyendo 602 pacientes con CBC, 409 con CE y 360 melanomas, que intenta relacionar el riesgo de desarrollo de CBC y estos factores, además de algunas características fenotípicas. En relación a CBC, encontraron asociaciones estadísticamente significativas con la presencia de un número aumentado de pecas en la cara y presencia de múltiples nevus (OR 2.11). El trabajo en exteriores también se relacionó de forma significativa con CBC (OR 1.55). El uso de ciprofloxacino parecía estar asociado con un riesgo menor de desarrollo de CBC (OR 0.33), sin embargo estos resultados deben interpretarse con precaución por la existencia de factores de confusión como por ej. que los pacientes que estaban enfermos hacían menos salidas al exterior. Existe una evidencia creciente en la creencia de que el estrés puede ser un factor de riesgo importante en el desarrollo de diversos tumores, entre ellos el cutáneo. Es interesante que el estrés crónico determine una mayor susceptibilidad al CE inducido por RUV en ratones. Estos autores intentaron explicar que el mecanismo fisiopatológico era que el estrés crónico afecta negativamente a muchos procesos fisiológicos a través de la exposición prologada a niveles elevados de glucocorticoides y catecolaminas, así como los efectos negativos en la inmunidad afectando a la funcionalidad de las célula T y natural killer. El estrés puede afectar al proceso celular involucrado en la reparación del ADN y facilitar el desarrollo de mutaciones oncogénicas inducidas por RUV ⁽⁵¹⁾.

- Inmunosupresión: El riesgo de cáncer cutáneo está incrementado en diferentes contextos de inmunosupresión como en el trasplante de órgano sólido (TOR), linfoma no Hodgkin, leucemia linfática crónica, enfermedades autoinmunes y la infección por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH). Los contextos más frecuentemente asociados con el desarrollo de un CCNM son el TOR y el linfoma no Hodgkin, incluyendo la leucemia linfocítica crónica ^(52, 53). Los pacientes con linfoma presentan una mayor incidencia de una segunda neoplasia incluyendo cerebro, pulmón, melanoma, CCNM y enfermedad de Hodgkin, entre otros ⁽⁵⁴⁾. La patogénesis de la asociación de linfoma y cáncer cutáneo es desconocida pero se han considerado factores como la RUV, la disfunción inmune asociada al linfoma, uso crónico de agentes inmunosupresores y los efectos mutagénicos de la radioterapia y quimioterapia ⁽⁵⁵⁾. Entre estos factores, parece ser que la disfunción inmune asociada es la más importante en el desarrollo subsecuente de un cáncer cutáneo. La disregulación inmune asociada a linfoma es compleja e incluye alteraciones a nivel humoral y celular ⁽⁵⁶⁾. Los linfocitos malignos poseen factores inmunosupresores que, entre otras actividades, infrarregulan la expresión del ligando CD40 (CD154) sobre las células T normalmente activadas. Esta interferencia inhibe la interacción normal entre la célula T y la célula presentadora de antígenos ⁽⁵⁷⁾. Otros hallazgos de inmunosupresión incluyen hipocomplementemia, alteración del complejo mayor de histocompatibilidad tipo II, presencia de granulocitos disfuncionales y distorsión de la región variable del receptor de la célula T ⁽⁵⁸⁾.

Todos estos factores pueden no solo incrementar la incidencia de una segunda neoplasia en pacientes con linfoma, sino incrementar el comportamiento agresivo de éstas ⁽⁵⁹⁾. En relación al tratamiento del CBC mediante cirugía micrográfica de Mohs (CMM), Mehrany y col encontraron unas cifras muy altas de recurrencia de CBC en pacientes con linfoma; estas recurrencias se han documentado de un 3,12 y 22% a los 1, 3 y 5 años tras la cirugía, siendo su frecuencia 14 veces mayor que en la población general. No se encontró que el tipo histológico influyera en la recurrencia ⁽⁶⁰⁾. A pesar de estas cifras, sí que se recomienda el tratamiento temprano de estos tumores mediante CMM, sobre todo aquellos localizados en cabeza y cuello, en pacientes con linfoma. Estos mismos autores han llevado a cabo un estudio en 717 pacientes con linfoma no Hodgkin y leucemia linfática crónica para evaluar la incidencia de CCNM y tasas de recurrencia de éste tipo de neoplasia tras su tratamiento. Con respecto al CBC objetivaron que el sexo masculino y tratamiento previo del linfoma estaban significativamente asociados con un alto riesgo de desarrollar CBC. Las tasas de recurrencia de CBC tras haber realizado CMM a los 5 y 8 años fueron del 0 y 8.3% respectivamente ⁽⁶¹⁾. La terapia adyuvante tras la CMM podría disminuir el riesgo de recurrencia, pero no se han llevado a cabo estudios hasta el momento.

Trasplante y cáncer cutáneo: El CCNM es el cáncer más frecuente en pacientes trasplantados (tanto órgano sólido como no sólido), con el CE y CBC representando el 95% de los tumores. Los principales factores de riesgo asociados incluyen la terapia inmunosupresora (dosis y duración de la misma), infecciones virales como el virus del papiloma humano (VPH), UV, edad avanzada en el momento del trasplante, fototipos I-III, sexo masculino y otros factores genéticos. La presencia de inmunodeficiencia local y/o sistémica promueve la proliferación del VPH, que actúa como un co-carcinógeno ⁽⁶²⁾. Es bien conocido que los pacientes trasplantados de corazón son el grupo de mayor riesgo para el desarrollo de CCNM, con una incidencia 3 veces mayor y de aparición más temprana (media de 2 años tras el trasplante) en comparación con otros tipos de trasplante, debido en parte, a que éstos pacientes están sometidos a regímenes inmunosupresores más intensos. Le siguen en frecuencia los pacientes trasplantados de riñón e hígado. Por el contrario, el sexo del donante o receptor, si es de donante vivo o cadáver y la duración de la diálisis (en el caso de trasplante de riñón), no parece influir en la incidencia de CCNM tras el trasplante ⁽⁶³⁾. En pacientes trasplantados y en numerosos estudios llevados a cabo en países occidentales, se observa que el CCNM presenta una incidencia 20 veces mayor que en la población general y esta incidencia se incrementa de forma paralela con el tiempo tras el trasplante de manera que se estima que se alcanza un 60% a los 20 años del trasplante ⁽⁶⁴⁾; en ciertas latitudes como en Australia se estima que es del 80% a los 20 años. En Australia, los casos de CCNM ocurren en aproximadamente el 3% de los pacientes trasplantados renales al año del trasplante, en el 25% a los 5 años, en el 44% a los 9 años ⁽⁶⁵⁾. Otros países como Países Bajos, Reino Unido e Italia presentan incidencias del 10-15% para CCNM a los 10 años de un TOR ^(66, 67). El CE es 4 veces más frecuente que el CBC en pacientes trasplantados (y 65 veces más frecuente que en la población general), con una inversión de la ratio en la

población general, en la que el CBC es entre 3 y 4 veces más frecuente que el CE (y 10 veces mayor que en la población general en trasplantados), todo ello debido, en parte, a que la respuesta inmunológica jugaría un papel predominante en el control del CE, en relación al CBC ⁽⁶⁸⁾. Los dos tipos de cáncer cutáneo son más frecuentes en áreas fotoexpuestas y están asociadas con el desarrollo de otras lesiones fotoinducidas como queratosis actínicas o enfermedad de Bowen; además, el CE exhibe un comportamiento biológico y evolución clínica más agresiva en pacientes trasplantados. El tiempo medio estimado para el desarrollo del primer CCNM en pacientes trasplantados es alrededor de 4-9 años tras el trasplante ⁽⁶⁴⁾. Tessari y col llevaron a cabo un estudio multicentrico para analizar las tasas de incidencia, el tiempo y los factores de riesgo asociados para el desarrollo de un segundo CCNM tras haber presentado un primer CCNM en una cohorte italiana de pacientes trasplantados renales y de corazón. De los 200 pacientes que habían presentado un primer CCNM, el 45.5% presentaron un segundo CCNM con un tiempo medio de seguimiento de 1.4 años (rango 3 meses-10 años). La incidencia acumulada de un primer CCNM desde el trasplante se incrementa progresivamente desde un 0.4% tras 1 año al 21.3% tras 20 años del trasplante. La incidencia acumulada de un segundo CCNM fue mucho mayor, del 14.4% tras el primer año de seguimiento hasta un 61.5% tras 10 años de seguimiento. El riesgo a los 3 años de desarrollar un segundo CCNM fue del 32.2%. La cabeza y cuello fueron las áreas más frecuentemente afectadas. El desarrollo de un segundo CCNM no se relaciona con edad, sexo, edad en el momento del trasplante, tipo de trasplante, tipo de terapia inmunosupresora, ni con el tiempo desde el trasplante al diagnóstico del primer CCNM; sin embargo el subtipo histológico del primer CCNM sí que predecía fuertemente el riesgo de presentar un CCNM del mismo tipo histológico ⁽⁶⁹⁾. La incidencia relativa de presentar otras neoplasias de órgano sólido como pulmón, mama, vejiga, próstata y neoplasias ginecológicas es de 2-5 veces mayor que la población general ⁽⁷⁰⁾.

El principal carcinógeno relacionado con el desarrollo de CCNM en pacientes trasplantados es la RUV, y está directamente relacionada con la patogénesis del CCNM en los años pre y post-trasplante, especialmente la exposición crónica en los casos de CE, mientras que para el CBC, las exposiciones intermitentes pero intensas parecen jugar un papel mayor. De igual manera, la fotoexposición acumulada antes del trasplante también parece ser predictiva en el desarrollo de CCNM ⁽⁷¹⁾. En relación a la terapia inmunosupresora, el número de CCNM incidentes parece correlacionarse con la duración de la misma de forma que la incidencia de CCNM en pacientes trasplantados o inmunodeprimidos está directamente relacionada con el nivel de inmunosupresión ⁽⁷²⁾. Los pacientes trasplantados con CCNM tienen un número significativamente menor de linfocitos CD4 a nivel cutáneo que los trasplantados sin CCNM. También el efecto de la inmunosupresión parece ser reversible, con una reducción en el número de nuevos tumores en pacientes trasplantados de riñón que discontinúan la terapia inmunosupresora y vuelven a diálisis. La reducción de la inmunosupresión permite la restauración de una reacción inmune innata más efectiva y de una respuesta antineoplásica y antiviral más eficaz, controvertido si

el riesgo incrementado de CCNM es debido a un inmunosupresor particular o únicamente depende del nivel de inmunosupresión ⁽⁶⁹⁾. Los agentes inmunosupresores pueden alterar la función del sistema inmune en la piel incrementando el riesgo de CCNM y esto ocurre a través de 2 mecanismos principales: el hecho de ser directamente carcinogénicos e intervenir o alterar el sistema de inmunovigilancia previniendo la erradicación de cambios precancerosos ⁽⁷³⁾. Básicamente podemos distinguir 4 clases diferentes de fármacos inmunosupresores de acuerdo a su nivel molecular de acción: los inhibidores de la proliferación celular, inhibidores de la amplificación de señales, inhibidores de la activación de la transcripción y transducción de señales (STATs) e inhibidores de la síntesis de ADN. La azatioprina (antimetabolito que actúa a través de la inhibición de la síntesis de purinas de novo) y la ciclosporina (pertenece al grupo de los inhibidores de la calcineurina que modulan la amplificación de señales intracelulares) son los fármacos inmunosupresores más antiguos y, por lo tanto, de los que se dispone de más experiencia. Otros fármacos más recientes incluyen everolimus, sirolimus y agentes biológicos como el muromonab-CD3, basiliximab y daclizumab ^(74, 75). El riesgo individual de CCNM asociado a cada agente inmunosupresor es difícil de establecer porque la mayoría de los pacientes reciben regímenes inmunosupresores combinados. Se sabe que los regímenes basados en azatioprina y ciclosporina se consideran mutagénicos a través de modulación inmune sin encontrar diferencias estadísticamente significativas entre ellos y que la terapia triple inmunosupresora está asociada con un riesgo incrementado de CCNM en comparación con la doble terapia ⁽⁷⁶⁾. El empleo de los nuevos agentes inmunosupresores como los inhibidores mTOR (rapamicina, everolimus) o micofenolato mofetilo se han asociado con un menor riesgo de desarrollo de CCNM en pacientes trasplantados ⁽⁷⁷⁾. La decisión de modificar un régimen inmunosupresor en pacientes trasplantados que han desarrollado CCNM es difícil y estará basada principalmente en variables como el tiempo desde el trasplante, tipo de fármaco y dosis empleada. Aunque no existe consenso, a la hora de valorar un régimen inmunosupresor debería valorarse la mortalidad asociada a CCNM y el riesgo de rechazo del injerto, por ello hay algunos autores que han sugerido discontinuación intermitente de la terapia inmunosupresora ^(78, 79). Recientemente se ha discutido la interacción de determinados inmunosupresores con la RUV en el desarrollo de CCNM. Por ejemplo, se ha encontrado que la azatioprina sensibiliza a las células dañadas por RUV-A mediante la incorporación de un metabolito del fármaco dentro del ADN que genera especies reactivas de oxígeno tras la exposición a RUV ⁽⁸⁰⁾. Los inhibidores de la calcineurina como la ciclosporina y tacrolimus han demostrado disminuir la reparación del ADN y la apoptosis en queratinocitos humanos tras exposición a RUV-B, permitiendo el acúmulo de ADN dañado. El sexo masculino, edad avanzada, alta exposición solar y el número de tumores cutáneos fueron considerados como factores predictores independientes del desarrollo de subsecuentes CCNM ⁽⁶⁹⁾.

- Genodermatosis: Existen algunas entidades como el síndrome del nevus basocelular o síndrome de Gorlin (SG), Xeroderma pigmentoso (XP), síndrome de Rombo (SR) y síndrome de

Bazex-Dupre-Christol en los que el desarrollo de CBC representa una característica principal. En otras enfermedades, el desarrollo del CBC es frecuente pero menos específico, e incluyen genodermatosis con alteración de la reparación del ADN, síndromes que afectan la unidad pilosebácea, la respuesta inmune, la biosíntesis de melanina y algunos síndromes de nevus epidérmicos ⁽⁸¹⁾.

- *Síndrome del nevus basocelular o síndrome de Gorlin (SG)*: Se trata de un trastorno autosómico dominante (AD) con una prevalencia de 1:19000 nacimientos que se caracteriza por el desarrollo de una amplia gama de defectos y predisposición a varios tipos de cáncer, principalmente el CBC. El SG es el trastorno genético más conocido asociado con CBC y sus manifestaciones son muy variables, incluyendo al menos 100 características diferentes asociadas. En la actualidad, el diagnóstico de SG es clínico y está basado en el cumplimiento de una serie de criterios mayores y menores. Los criterios principales o mayores consisten en el desarrollo de múltiples (>5) y/o la aparición temprana (<30 años) de CBC, queratoquistes mandibulares, "pits" palmo-plantares, calcificación de la hoz del cerebro y presencia de familiares de primer grado afectados. Los criterios menores comprenden la presencia de malformaciones axiales o apendiculares (polidactilia), labio/paladar hendido, macrocefalia, fibromas ováricos/cardiacos, anomalías oculares, quistes linfomesentéricos y meduloblastoma de la infancia. El diagnóstico se establece si se cumplen al menos dos criterios mayores o uno mayor y dos o más menores ⁽⁸²⁾. En el SG, las CBC son multifocales y suelen aparecer antes de los 30 años de edad (media de presentación a los 25 años), aunque pueden desarrollarse a la edad temprana de 2 años o más tardíamente alrededor de los 65 años ⁽⁸³⁾. El CBC puede tener presentaciones clínicas variables. La predisposición a cáncer también se refiere al desarrollo de meduloblastoma y, en menor medida, el rabdomiosarcoma. El primero afecta a aproximadamente el 2% de los pacientes con SG y tiene un pico de incidencia en los dos primeros años de edad. La radioterapia es una modalidad terapéutica que debe evitarse, ya que puede causar la proliferación de CBC o que éstos tengan un comportamiento más agresivo ⁽⁸⁴⁾. El SG es causado por mutaciones heterocigotas en Ptch1 (9q22.3), un gen que codifica una proteína crucial de la vía de señalización Hedgehog (Hh). Se han identificado otras variantes patógenas de éste gen en aproximadamente el 60% de los pacientes y ocurren de novo como un evento post-cigótico en el 20-30%. No se han identificado correlaciones genotipo-fenotípicas. El análisis genético puede ser útil como prueba diagnóstica en familiares de alto riesgo y para confirmar casos dudosos ⁽⁸²⁾. El síndrome de microdelección 9q22.3 es un fenotipo mucho más raro que comprende las características de SG y, entre otros, la predisposición al desarrollo de CBC. Esta condición se debe a la supresión de un pequeño segmento cromosómico que incluye diversos genes incluyendo Ptch1 (es decir, es un síndrome de genes contiguos). El fenotipo resultante es complejo y dominado principalmente por retraso en el desarrollo, la craneosinostosis metópica, hidrocefalia, sobrecrecimiento de pre y post-natal y convulsiones ⁽⁸⁵⁾.

- *S Bazex-Dupré-Christol (SBDC)*: es una genodermatosis infrecuente descrita por primera vez en 1964 y, hasta la fecha, se han reportado unos 90 casos ⁽⁸⁶⁾. Clínicamente se caracteriza por presentar atrofodermia folicular, hipotricosis, hipohidrosis, quistes de milium y la aparición temprana de CBC. La atrofodermia folicular es más frecuente en el dorso de manos y pies, en la cara extensora de hombros y rodillas y en la cara. La hipotricosis afecta al cuero cabelludo y en ocasiones a las cejas. Los quistes de milium y los CBC se observan principalmente en la cara y se desarrollan en el 40% de los pacientes, a lo largo de la segunda o tercera década de vida. Otros rasgos adicionales incluyen hamartomas basocelulares, tricoepiteliomas y, de forma excepcional, atopia, queratosis pilar, ictiosis, aracnodactilia con hiperlaxitud articular, osteocondritis, sordera y dificultades en el aprendizaje ⁽⁸⁷⁾. La transmisión del síndrome es dominante ligada a X. Se ha identificado el gen implicado en el brazo largo del cromosoma X, en posición Xq24-q27.1 ⁽⁸⁸⁾. El gen candidato podría ser UBE2A, que codifica para una proteína implicada en la reparación de los daños causados por la RUV. El llamado síndrome de Oley es un trastorno ligado al cromosoma X que puede representar una variante de SBDC y comprende la presencia de múltiples milium, hipotricosis, anomalías del tallo piloso y la predisposición a CBC ⁽⁸⁹⁾. Los hombres generalmente presentan el fenotipo más grave.
- *Xeroderma Pigmentoso (XP)*: Es una rara enfermedad autosómica recesiva (AR) debido a mutaciones en genes implicados en el sistema de reparación del ADN por escisión de nucleótidos. Estos incluyen ocho genes que comprenden desde XPA a XPG y POLH, éste último codifica para la polimerasa η y ocasiona una forma leve de XP denominada variante del XP. El XP tiene una incidencia de 1: 250.000 nacimientos en Europa y los Estados Unidos ⁽⁹⁰⁾. Clásicamente, se manifiesta con fotosensibilidad cutánea, múltiples lentigos de aparición temprana (≤ 6 años) en áreas fotoexpuestas y un mayor riesgo de cáncer. En áreas fotoexpuestas, la piel envejece de forma prematura, mostrando atrofia, pigmentación moteada, telangiectasias y queratosis actínicas. Los pacientes con XP presentan un riesgo incrementado de 2000 y 4800 veces mayor de desarrollar melanoma y CCNM respectivamente, predominantemente en áreas fotoexpuestas ⁽⁹¹⁾. Entre un 14-40% de los pacientes desarrollan anomalías neurológicas como neuropatías periféricas, trastornos del movimiento y retraso mental. En el 40% de los pacientes existen anomalías oculares relacionadas con hipersensibilidad de la conjuntiva y de la cámara anterior. El XP es clínica y genéticamente heterogéneo por lo que puede solaparse con otros trastornos como el síndrome de Cockayne ⁽⁹²⁾.
- *Síndrome de Rombo (SR)*: Es una condición extremadamente rara, caracterizada por lesiones eritematosas acrales y lesiones faciales, atrofodermia vermiculatum, en cara y codos, hipotricosis facial, múltiples quistes vellosos con apariencia de milium, telangiectasias en áreas expuestas al sol y la predisposición a CBC ⁽⁹³⁾. Aunque

algunos hallazgos son compartidos con el SBDC, la evolución clínica de la enfermedad sugiere una nosología distinta. En particular, ninguna característica del SR es congénita. La enfermedad generalmente comienza al final de la primera década de la vida con el desarrollo de una piel atrófica y eritematosa y, en ocasiones, lesiones cutáneas dolorosas en cara y extremidades. Posteriormente, suelen desarrollarse los quistes vellosos y las telangiectasias. Los CBC suelen aparecer de media a la edad de 35 años ⁽⁹⁴⁾. El SR ha sido reportado en sólo tres familias, aunque en una de ellas el diagnóstico ha sido cuestionado. La base molecular del síndrome de Rombo permanece desconocida ^(93, 94, 95).

- *Hamartomas foliculares basalioides múltiples (HFBM)*: Los HFBM son malformaciones raras, benignas, congénitas del folículo piloso, que se caracterizan histológicamente por una proliferación de las células epiteliales y basaliodes y clínicamente por la presencia de papulo-placas eritematomarronas o eucrómicas, múltiples distribuidas de forma generalizada en cara, cuero cabelludo y, en menor frecuencia en tronco. El diagnóstico diferencial clínico e histológico con CBC es a menudo difícil ⁽⁹⁶⁾. Los HFBM generalizados (GFBHS) son un subtipo de HFBM familiares, que combina el desarrollo de múltiples hamartomas piel con hipotricosis, hipohidrosis, “pits” palmares, milium y comedones ⁽⁹⁷⁾. Esta rara condición se hereda como un rasgo AD y se desconoce el gen implicado. El diagnóstico diferencial con SG puede ser difícil y está basado principalmente en la ausencia de tumores malignos viscerales, óseos, malformaciones intracraneales, queratoquistes odontogénicos, y calcificaciones de la hoz del cerebro ⁽⁹⁸⁾. De manera similar al SBDC, las características de displasia ectodérmica son generalmente congénitas. Los hamartomas cutáneos se localizan principalmente en la cara, suelen aparecer en la infancia y se estabilizan en la edad adulta. Ricks y col informó de una forma familiar aparentemente diferente con múltiples HFBM asociados con acrocordones, queratosis seborreica y osteosarcoma. En ocasiones se han publicado la asociación de HFBM con varios trastornos autoinmunes como miastenia gravis, aminoaciduria y el LES ⁽⁹⁹⁾.

Genodermatosis con alteraciones en la reparación del ADN

- *Síndrome de Bloom (SB)*: SB es un síndrome de inestabilidad genómica causada por mutaciones recesivas en el gen RECQL3 (15q26.1), que codifica para una helicasa específica humana. El diagnóstico de la BS se realizó por primera vez mediante análisis citogenético, que mostró figuras tetrarradiales y un aumento en el intercambio de cromátides hermanas. Clínicamente se caracteriza principalmente por la tríada de baja estatura de inicio prenatal, fotosensibilidad cutánea manifestándose en forma de máculas eritematosas faciales en “alas de mariposa” localizadas en el dorso de nariz y mejillas, múltiple manchas café con leche y disregulación inmune. El retraso en el crecimiento es de-

bido en parte a un reflujo gastroesofágico grave, que contribuye al desarrollo de neumonías y otitis de repetición, y a una inmunodeficiencia principalmente humoral con disminución de las inmunoglobulinas plasmáticas y que se manifiesta en forma de infecciones recurrentes ^(100, 101). Otros hallazgos incluyen la infertilidad (masculina), la bronquitis crónica y bronquiectasias, diabetes mellitus, mielodisplasia y mayor riesgo de cáncer, principalmente linfomas, leucemias y neoplasias epiteliales. Los CBC son más frecuentes que en la población general. Debido a la inestabilidad cromosómica que caracteriza al SB, se deben evitar el uso de radiaciones ionizantes en el manejo y vigilancia del cáncer ^(102, 103).

- *Síndrome de Werner (SW)*: Es otro síndrome de inestabilidad genómica AR asociado con mutaciones en el gen RECQL2 (8p12-p11.2). El SW también se denomina “progeria del adulto” (para diferenciarse del síndrome de Hutchinson-Gilford o “progeria de la infancia”) y se caracteriza clínicamente por el envejecimiento prematuro que suele comenzar en la segunda década de la vida, manifestándose con una apariencia facial de “pájaro”, baja estatura, cataratas bilaterales, hiperqueratosis plantar, cambios cutáneos como esclerodermia y atrofia cutánea. La consanguinidad de los padres es otra característica importante. Las complicaciones más comunes son diabetes mellitus tipo 2, hipogonadismo secundario a la atrofia gonadal con subdesarrollo sexual secundario, agudo/voz ronca/chillona, aterosclerosis y osteoporosis prematura, en contraste con osteosclerosis de las falanges distales, calcificaciones de los tejidos blandos, pies planos, neuropatía periférica y una predisposición a neoplasias, en particular los sarcomas de tejidos blandos, osteosarcomas y melanomas ^(104,105). Hay artículos en los que se han registrado la aparición temprana de CBC en algunos casos de SW ⁽¹⁰⁶⁾.
- *Síndrome de Rothmund-Thomson (SRT)*: RTS, o poiquilodermia congénita, es causada por mutaciones recesivas en el gen que codifica para la helicasa humana 4 RECQL4 (8q24), en aproximadamente 2/3 de los casos. De igual manera que en el SB y SW, se transmite según herencia AR y presenta predisposición a diversos tipos de cáncer. Típicamente, el SRT se presenta clínicamente con una erupción cutánea que aparece antes del séptimo mes de vida, formación de ampollas y edema facial, que posteriormente afecta a las extremidades. Tras la fase aguda, la erupción es sustituida progresivamente por una poiquilodermia fija, que persiste a lo largo de la vida. Otros hallazgos comunes son fotosensibilidad cutánea, pelo ralo, queratodermia palmoplantar, distrofia ungueal y anomalías dentales. La dismorfia facial consiste de abombamiento frontal y una nariz “en silla de montar”. El retraso en el crecimiento ocasionando baja estatura, la osteoporosis, cataratas y otras anomalías oculares de inicio temprano, mielodisplasia y alteraciones gastrointestinales completan el cuadro clínico ⁽¹⁰⁷⁾. Los tipos de cáncer más comunes en SRT son el osteosarcoma y neoplasias cutáneas, que ocurren en el 30% y el 5% de los pacientes, respectivamente. El cáncer de piel más frecuente incluye CE, CBC, enfermedad de Bowen, y aparecen a la edad media de 34,4

años ⁽¹⁰⁸⁾. Recientemente se ha registrado un paciente con RTS y melanoma amelanótico ⁽¹⁰⁹⁾. Se ha descrito una relación genotipo-fenotípica respecto a la predisposición a osteosarcoma, pero no se ha definido tal relación respecto al desarrollo de cáncer cutáneo ⁽¹¹⁰⁾.

- *Síndrome de Muir-Torre (SMT)*: Es una variante clínica del cáncer hereditario no asociado a poliposis o síndrome de Lynch, y se caracteriza por la asociación de tumores sebáceos (y queratoacantomas) y neoplasias viscerales, que involucran principalmente el tracto gastrointestinal, aparato urinario y endometrio. Se hereda como un rasgo AD y se debe a mutaciones en varios genes de reparación, como MLH1 (3p21.3) o MSH2 (2p22-p21). El diagnóstico se establece mediante el hallazgo de inestabilidad en microsatélites y/o examen inmunohistoquímico de un tumor seguido por screening molecular de ADN de sangre periférica. Se han registrado casos que han desarrollado múltiples CBC con diferenciación sebácea ⁽¹¹¹⁾.

Síndromes con tumores cutáneos anexiales

- *Síndrome de Brooke-Spiegler (SBS)*: Es una genodermatosis AD que combina el desarrollo de múltiples cilindromas, tricoepiteliomas y/o espiroadenomas. Es causada por mutaciones heterocigotas en el gen CYLD (16q12-q13). La penetrancia es edad-dependiente de manera que los tumores generalmente comienzan al final de la niñez y comienzo de la edad adulta. Las variantes alélicas de SBS son la cilindromatosis familiar y los tricoepiteliomas familiares múltiples, que confieren predisposición limitada a un tipo concreto de tumor ⁽¹¹²⁾. Dada la predilección del cuero cabelludo para cilindromas y la región centrorfacial para los tricoepiteliomas, la desventaja principal de estos trastornos benignos es principalmente estética. Sin embargo, la degeneración maligna de cilindromas en cilindrocarcinomas se ha descrito en varias ocasiones, así como la transformación maligna de tricoepiteliomas en CBC ⁽¹¹³⁾.
- *Síndrome Schöpf-Schulz-Passarge (SSSP)*: Es un síndrome raro con herencia AR debido a mutaciones en el gen WNT10A, de displasia ectodérmica hipohidrotica clínicamente caracterizada por hipotricosis, hipo/oligodoncia, distrofia ungueal, queratodermia palmoplantar, telangiectasias faciales y múltiples quistes palpebrales. El fenotipo histológico de la queratodermia palmoplantar y los quistes del párpado son siringofibroadenomas ecrinos y cistadenomas apocrinos. Otras asociaciones son la aparición de poromas ecrinos, siringofibroadenoma ecrino maligno, hidracistoma ecrino, CE y CBC ⁽¹¹⁴⁾.
- *Síndrome de Cowden (SC)*: También denominado síndrome de hamartomas múltiples, es un trastorno AD caracterizado por la aparición de múltiples trichilemomas faciales, lesiones papilomatosas en los labios, y queratosis acrales pseudoverrucoideas. Otros hallazgos cutáneos adicionales comprenden lipomas, fibromas, malformaciones vasculares y acrocordones. Algunas características clínicas relevantes son la presencia de tumores benignos y malignos

de mama, útero, ovario y tiroides, múltiples hamartomas polipoides del colon, macrocefalia, y la enfermedad de Lhermitte-Duclos (gangliocitoma cerebelar displásico). Más del 80% de los pacientes SC son portadores de mutaciones en el gen PTEN (10q23.31) ⁽¹¹⁵⁾. El desarrollo de CBC se ha documentado como una característica poco común de esta condición ⁽¹¹⁶⁾.

Síndromes con inmunodeficiencia

- *Hipoplasia cartilago-pilosa*: También denominada condrodisplasia metafisaria de McKusick, en una condición genéticamente homogénea ocasionada por mutaciones recesivas en el gen de la endoribonucleasa de procesamiento del ARN mitocondrial (RMRP) localizada en el cromosoma 9p13.3 ⁽¹¹⁷⁾. Clínicamente se caracteriza por baja estatura, extremidades cortas y anchas, hiperlaxitud articular periférica, y angulación del fémur. Otros hallazgos clínicos son hipotricosis/alopecia, trastornos en la inmunidad de las células T provocando susceptibilidad a diversas infecciones, e hipoplasia de la médula ósea con grado variable de anemia, linfopenia y neutropenia. Presentan mayor riesgo al desarrollo de linfoma no Hodgkin y CBC múltiples y de manifestación temprana ^(118, 119).
- *Epidermodisplasia verruciforme (EV)*: Es una rara genodermatosis caracterizada por un aumento de susceptibilidad a las infecciones cutáneas por el VPH, que puede resultar en la formación de múltiples lesiones cutáneas precancerosas y cancerosas. En más de 70% de los casos, la EV es causada por mutaciones recesivas en cualquiera de dos genes adyacentes, EVER1 y EVER2, situados en 17q25 y la codificación de proteínas similares a canales transmembrana ⁽¹²⁰⁾. La enfermedad comienza en la infancia con clínica cutánea polimorfa que incluye máculo-placas verrucosas pitiriasis versicolor-like. Alrededor del 50% de los pacientes desarrollan CCNM, especialmente enfermedad de Bowen y CE, que ocurre principalmente en piel fotoexpuesta en la cuarta y quinta décadas de la vida. También existe un riesgo incrementado de CBC con respecto a la población general ⁽¹²¹⁾.

Trastornos en la biosíntesis de melanina

- *Albinismo oculocutáneo (AOC)*: Engloba una serie de trastornos hereditarios AR caracterizados por melanina ausente o reducida con la consiguiente producción de hipopigmentación congénita de la piel, el pelo y algunas estructuras del ojo. Se han descrito 5 tipos genéticamente diferentes de AOC: OCA1A, OCA1B, OCA2, OCA3 y OCA4. Así como la hipopigmentación de la piel y el cabello, están presentes algunas anomalías oculares que incluyen la reducción de la pigmentación del iris y la retina, hipoplasia foveal y adelgazamiento del nervio óptico. Estas características producen nistagmo congénito, reducción de la agudeza visual, estrabismo, deterioro de la visión estereoscópi-

ca, fotofobia y, a veces, reducción de la visión del color. OCA1A y 1B son causados por mutaciones en TYR (11q14.3), OCA2 en el gen P (15q11.2-q12), OCA3 en TYRP1 (9q23), y OCA4 en MATP (5p13.3) ⁽¹²²⁾. Debido a la reducción de la producción de melanina producción, OCA predispone naturalmente al desarrollo CBC, especialmente en zonas fotoexpuestas, que tienden a ser recurrentes y más agresivos que en la población general, hecho que es particularmente evidente entre los nativos africanos ⁽¹²³⁾.

- *El síndrome de Hermansky-Pudlak*: Es un forma sindrómica genéticamente heterogénea de AOC, que muestra las características adicionales de diátesis hemorrágica y riesgo incrementado de fibrosis pulmonar y colitis granulomatosa. También presenta un riesgo mayor de CBC. El riesgo de degeneración maligna de estas lesiones existe, no sólo en CBC sino en otro tipo de neoplasias cutáneas por lo que éstas lesiones deben vigilarse de forma estrecha ⁽¹²⁴⁾.

Síndromes del nevus epidérmico

- *Síndrome Schimmelpenning (SS)*: Es un ejemplo de fenotipo cutáneo inusual que presenta predisposición congénita a varios tipos de cáncer cutáneo, incluyendo CBC. Se caracteriza principalmente por la presencia de nevus sebáceos que afectan principalmente a la cabeza y siguiendo las líneas de Blaschko con anomalías esqueléticas (dismorfismo craneofacial, displasia de cadera), del sistema nervioso central (hemimegalencefalia, defectos de migración neuronal, agenesia del cuerpo caloso, malformación de Dandy-Walker, anomalías en la vascularización cerebral) y oculares (coloboma, anomalías en el nervio óptico). Otras complicaciones funcionales incluyen retardo mental y en el desarrollo e hipofosfatemia VD resistente ⁽¹²⁵⁾.
- *Facomatosis pigmentoqueratótica (FP)*: Es un síndrome que combina la existencia de nevus sebáceos extensos y nevus spilus. Esta condición esporádica es considerada la suma fenotípica de SS y el síndrome del nevus lentiginoso moteado. Comparte la afectación neurológica similar a SS y síndrome de nevo lentiginoso moteado, así como el requisito hipofosfatémico VD resistente, que es más común que en SS ⁽¹²⁶⁾. Se ha documentado el desarrollo frecuente de CBC en éste síndrome ⁽¹²⁷⁾.

Síndromes con asociación incierta a CBC

- En algunos artículos se ha registrado el desarrollo de CBC en pacientes con facomatosis vascular. Estas condiciones se tratan de un grupo de trastornos clínicamente heterogéneos caracterizados principalmente por “manchas” de nacimiento vasculares dispuestas de forma segmentaria, que pueden combinar la asociación de diferentes malformaciones

vasculares viscerales. Se han documentado el desarrollo de CBC se en los síndromes de Sturge-Weber ⁽¹²⁸⁾, Klippel-Trenaunay ⁽¹²⁹⁾ y el síndrome Wyburn-Mason ⁽¹³⁰⁾. Se han encontrado casos aislados de CBC en asociación con el síndrome de Sotos, síndrome Ivemark, la microdelección 22q11.1, la distrofia muscular miotónica de Steinert y el síndrome poliglandular autoinmune ^(131, 132).

2.1.3. POLIMORFISMOS GENÉTICOS

Además de evaluar los factores de riesgo medioambientales y patogénesis molecular que influyen en el desarrollo de CBC, es importante determinar el sinergismo entre éstos y diferentes polimorfismos genéticos para comprender y evaluar los riesgos humanos individuales. Los polimorfismos de nucleótido único (SNPs) son variaciones naturales en las secuencias del ADN humano y se han utilizado para identificar las diferencias individuales en la susceptibilidad a varias enfermedades, incluyendo el cáncer cutáneo asociado a exposiciones medioambientales. Los individuos con dificultad en la reparación del ADN presentan un riesgo incrementado de acumular alteraciones genéticas que podrían conducir a una transformación mutagénica y desarrollar cáncer cutáneo ⁽¹⁶¹⁾. En la década pasada, una gran cantidad de estudios epidemiológicos revelaron asociaciones entre diversos polimorfismos de genes de reparación del ADN, incluyendo los grupos 1 y 3 de reparación transversal complementaria de rayos X (XRCC1 y XRCC3 respectivamente) y la susceptibilidad a cáncer. Concretamente, más de 40 estudios han investigado la asociación de los polimorfismos XRCC1 R399Q y XRCC3 T241M y la susceptibilidad a cáncer ⁽¹⁶²⁾. En un reciente metanálisis, Dong y col ⁽¹⁶³⁾ registraron un riesgo disminuido de CBC en asociación con el polimorfismo genético XRCC3 T241M, mientras que, por el contrario, Jacobson y col ⁽¹⁶⁴⁾ detectaron un riesgo elevado de CBC en portadores heterocigotos de éste polimorfismo y un descenso de riesgo de CBC entre portadores homocigotos de ésta variante genotípica, aunque sin significancia estadística. Nelson y col ⁽¹⁶⁵⁾ registraron riesgo disminuido de CBC y CE en asociación con el polimorfismo XRCC1 R399Q mientras que Kang y col ⁽¹⁶⁶⁾ objetivaron riesgo incrementado de CBC y CE en portadores heterocigotos del polimorfismo XRCC1 R399Q con significancia estadística para CBC (OR 2.78, 95%CI 1.30-5.92). Surdu y col ⁽⁵⁰⁾ investigaron el impacto de los polimorfismos anteriores en el riesgo de CCNM asociado con la exposición solar y la exposición a arsénico. Entre los 618 participantes encontraron un efecto protector para CBC de la variante homocigota XRCC3 T241M (OR 0.61 95% CI 0.41-0.92). También encontraron evidencia de interacción entre el polimorfismo XRCC3 T241M con la exposición solar en el trabajo y la exposición a arsénico en el agua potable. Farzan y col ⁽¹⁶⁷⁾ investigaron el impacto de las variaciones o polimorfismos genéticos de 2 factores reguladores clave del sistema inmune en el desarrollo de CCNM. MiR-146^a es un microARN (miARN) de particular interés en la etiología del CCNM y es un importante modulador de la respuesta inflamatoria, coordinando la función linfocítica y mieloide a diversos niveles de la inmunidad innata y adquirida. MiR-146^a tiene 224 dianas potenciales de ARNm, incluyendo el gen de la ribonucleasa L de susceptibilidad a cáncer (RNASEL). La ribonucleasa L es una ribonucleasa activada por interferón que degrada el ARN viral y celular tras su activación. Esta actividad es crítica para la defensa celular contra una infección viral, mediante la limitación de la propagación viral y la inducción de la apoptosis de las células infectadas, previas a una respuesta inmune más completa. RNASEL se mantiene en niveles muy bajos en la célula y su regulación no está clara (Li XL). Mientras que en condiciones normales RNASEL tiene funciones supresivas tumorales y antiproliferativas, las variantes como rs486907 se ha asociado a un riesgo incrementado de diferentes tipos de cáncer como próstata, colorrectal y páncreas. Estos autores examinaron el impacto de la asociación MiR-146^a y la variante RNASEL rs2910164 en el desarrollo

de CBC y CE. No observaron cambios globales en la OR para CBC o CE entre los individuos portadores de variantes del MiR-146^a o RNASEL sin embargo si que hallaron una asociación específica de género entre CBC y Mir146-a en mujeres (OR 0.73, 95% CI 0.52-1.03) y un riesgo disminuido aunque no estadísticamente significativo asociando CE y RNASEL en varones (OR 0.88 95% CI 0.65-1.19). Entre los individuos portadores de las 2 variantes alélicas rs2910164 y rs486907, observaron relaciones inversas con CE (OR 0.56 95% CI 0.38-0.81) y CBC (OR 0.57 95% CI 0.40-0.80) ⁽¹⁶⁷⁾.

2.1.4. RIESGO SUBSECUENTE DE CÁNCER TRAS EL DESARROLLO DE CBC

En un metanálisis realizado por Marcil y col ⁽¹⁶⁸⁾ se objetivó que, para un mismo paciente, el riesgo de presentar CBC posteriores tras haber desarrollado un primer CBC era 10 veces superior en comparación con la población normal. Los factores más significativos predictores de este riesgo en el estudio fueron la localización en tronco, edad superior a 60 años, sexo masculino y subtipo histológico de CBCs. Rees y col ⁽¹⁶⁹⁾ llevaron a cabo un estudio poblacional de casos y controles en 3584 pacientes, para evaluar el riesgo y determinar los factores de riesgo individuales de desarrollar cáncer entre aquellos pacientes que habían presentado un primer CCNM. El riesgo de cáncer posterior (excluyendo CCNM) ajustado por edad, sexo y hábito tabáquico, tras haber presentado un primer CBC, era mayor en comparación con los controles (hazard ratio HR 1,40 [95% CI 1,15, 1,71]). Las HR fueron significativamente elevadas entre los varones (HR CI 1,55 [95%: 1,21, 1,99]), pero no en mujeres (HR 1,14 [0,81; 1,60]) y entre los participantes mayores o iguales a 60 años (HR 1,43 [IC del 95% 1,14, 1,80]), pero no entre los menores de 60 años (HR 1,31 [IC 95%: 0,88 a 1,95]). Tras haber presentado un CE, y de forma global, se observó un incremento más discreto de cáncer en comparación con CBC, sin significancia estadística (HR 1,18 [95% CI 0,95, 1,46]). Sin embargo, el riesgo sí que fue significativamente mayor entre aquellos pacientes que habían desarrollado el CE antes de los 60 años (HR 1,96 [IC 95% 1,24, 3,12]) en comparación con los pacientes ≥ 60 años (HR 1,00 [IC del 95%: 0,79, 1,28]) p, 0.003. Otros factores que fueron relacionados con el riesgo de cáncer subsecuente fueron edad avanzada, sexo masculino y hábito tabáquico. La exposición solar ocupacional se asoció con un riesgo de cáncer significativamente menor tras CBC. Otros factores que parecían no tener relación con el riesgo de cáncer posterior incluían el nivel educativo, el índice de masa corporal, vivir en ambiente cálido, antecedentes familiares de cáncer, ingesta de ácido fólico, reacción cutánea a la exposición solar aguda, número de quemaduras solares en la infancia, historia previa de radioterapia, uso regular de corticoides orales, aspirina, antiinflamatorios no esteroideos (AINEs), consumo de café, te y alcohol. Cada uno de ellos fue evaluado por separado y relacionado con género y edad. De forma específica, se encontró un riesgo más alto de Melanoma y cáncer de próstata después de presentar CCNM en comparación con los controles. Respecto al Melanoma, había un riesgo 3 veces mayor tras CBC, ajustado por edad, sexo, hábito tabáquico, reacción cutánea a la exposición solar crónica y antecedentes familiares de CCNM (HR 3.28, IC 95% 1.66, 6.51). En relación al cáncer de próstata, se observó un riesgo incrementado tras CBC, ajustado por edad, sexo y hábito tabáquico (HR 1,64; IC del 95%: 1,10, 2,46), pero no tras CE.

2.2. PATOGÉNESIS MOLECULAR

La carcinogénesis de CBC probablemente constituye un mecanismo de interacciones entre varias vías de señalización y genes mutados que regulan la pigmentación, la reparación del ADN y la apoptosis. Diversas alteraciones en genes que controlan el proceso del desarrollo durante la embriogénesis y organogénesis se consideran fundamentales en el desarrollo del cáncer. Las células necesitan del desarrollo de mecanismos para relacionarse adecuadamente con el entorno y desarrollar respuestas fisiológicas correctas. Aunque hay muchos mecanismos implicados en procesar toda la información que recibe la célula del ambiente exterior, únicamente un número limitado de vías altamente conservadas dentro del proceso evolutivo tienen papeles cruciales en la transmisión de esta información.

Vías como Hedgehog (Hh), Wnt, Notch, la vía de la proteína morfogenética ósea/factor β de crecimiento transformante (BMP/TGF β), la vía fosfatidilinositol-3-quinasa/proto-oncogen viral del timoma (PI3K/AKT), y la vía del transductor de señal Janus-quinasa (JAK/STAT) están implicadas en el desarrollo embrionario a la hora de establecer la posición celular, la segmentación-polaridad corporal y destinos celulares. Cada una de estas vías consiste en un centro de señalización, que sería el grupo de proteínas necesarias para la transducción de la señal, y un número mayor de proteínas auxiliares que pueden modular esta señal pero que no necesariamente pertenecen intrínsecamente a la vía.

Sabemos que una vía Hh aberrante resulta en la expresión de genes responsables para la proliferación celular, supervivencia y renovación celular y se asocia con el desarrollo de múltiples neoplasias. El CBC y meduloblastoma son 2 neoplasias en las que las alteraciones en diferentes componentes de la vía Hh son bien conocidas.

En la mayoría de casos de CBC esporádicos se han encontrado alteraciones en el gen del receptor Patched (Ptch1) de la vía Hh, junto a pérdida de heterocigosidad en el locus Ptch1. Además, en el 10% de los CBC esporádicos se han encontrado mutaciones en el gen del receptor Smoothened (Smo). Independientemente del defecto genético subyacente, todos los CBC evidencian una disregulación de la vía Hh, determinado por la sobreexpresión de ARNm, de tal manera que, al contrario que otros tipos de tumores que poseen la capacidad de alimentarse de señales oncogénicas procedentes de múltiples vías de señalización, la iniciación y desarrollo del CBC depende exclusivamente de una vía Hh aberrante ⁽¹⁴⁸⁾.

El resto de vías de señalización descritas previamente podrían interactuar con Hh en algún momento del desarrollo de determinados tipos de CBC y favorecer su progresión y desdiferenciación ⁽¹³³⁾.

Teoría de las células madre del cáncer

Las denominadas “células madre del cáncer” representan una subpoblación celular autosostenible y autorenovable que pueden dar lugar a una gran cantidad de líneas celulares dentro de un mismo tumor. Esta teoría sostiene que los tumores se componen de 2 tipos diferentes de poblaciones celulares: una población de células más diferenciadas que fenotípicamente son las que caracterizan la enfermedad, y otra subpoblación de células más indiferenciadas, iniciadoras del tumor con propiedades para autorenovarse y que serían las responsables del mantenimiento y recurrencias de la enfermedad. Estas “células madre” han sido identificadas en una gran variedad de tumores y existe una gran evidencia acumulada de que estas células pueden ser las responsables de la recurrencia tumoral y resistencia al tratamiento. Algunos datos preclínicos sugieren un posible papel regulador de la vía Hh en estas células y en la adquisición de un estado celular más indiferenciado en numerosos tumores como Glioblastoma, cáncer de mama, adenocarcinoma de páncreas y diversas neoplasias hematológicas ⁽¹⁵³⁾.

A continuación se describen las vías directamente implicadas en el desarrollo del CBC, según la evidencia científica actual.

2.2.1. ALTERACIONES GENÉTICAS

2.2.1.1. VÍA HEDGEHOG (Hh)

La vía Hh fue descrita por primera vez en 1980 en embriones de la mosca *Drosophila melanogaster* (mosca de la fruta) por Christiane Nusslein Volhard y Eric Wieschaus, que llevaron a cabo un screening de los genes que controlaban el patrón segmentario en el desarrollo de las larvas de esta especie, trabajo por el cual ambos investigadores recibieron el Premio Nobel de Medicina en 1995 ⁽¹³⁴⁾. Los primeros artículos relacionados con la vía Hh aparecen con la identificación de uno de los elementos claves en ésta vía de señalización, el receptor Ptch. El nombre de hedgehog o erizo deriva de la presencia de un fenotipo corto y espiculado de la cutícula ventral de las larvas mutadas por alteraciones en la vía Hh.

La vía Hh es crucial para el normal desarrollo embrionario de la *Drosophila*, determinando la polaridad segmentaria y su estructura morfológica normal. Desempeña un papel muy importante en la organogénesis durante la embriogénesis en múltiples especies, mediando en la proliferación y diferenciación celulares, la transición epitelio-mesénquima (EMT) y el reordenamiento celular mediante cambios en la motilidad y adhesión tisular ⁽¹³⁵⁾. Sin embargo, durante la edad adulta solo esta activa en el folículo piloso y en las células madre, y juega un papel mayor en el mantenimiento de la homeostasis tisular, la reparación celular, desarrollo esquelético postnatal y también se ha sugerido un papel en el desarrollo del sistema hematopoyético ⁽¹³⁶⁻¹³⁸⁾. El mecanismo del procesamiento, secreción y señalización de las proteínas de la vía Hh se ha conservado más o menos inalterado en la evolución entre la mosca y organismos más evolucionados, aunque con algunas diferencias.

La *Drosophila* tiene un único gen que codifica el ligando de Hh, mientras que los vertebrados tienen 3 ligandos Hh homólogos: Sonic (Sh), Desert (Dh) e Indian (Ih), de los cuales el mejor conocido es el primero. Dh está implicado en el desarrollo de las células germinales masculinas e Ih es un importante regulador en el crecimiento óseo y desarrollo de cartílago. Sh desarrolla otras múltiples actividades, como establecer la simetría izquierda-derecha, desarrollo del SNC, del ojo y muslos ⁽¹⁴³⁾. El sistema de recepción de éstas proteínas reside en el cilio primario, una estructura no móvil que se encuentra en la mayoría de las células de los vertebrados y representa un área altamente especializada de la membrana plasmática que concentra una gran cantidad de receptores moleculares, por lo que funciona como un sensor y coordinador de la vía Hh. Este sistema está constituido por un receptor proteico transmembrana Ptch y una proteína transmembrana Smo; existen 2 homólogos de Ptch, Ptch1 y Ptch2, de los cuales el mejor conocido es el primero; sin embargo existe un único factor ortólogo Smo en vertebrados. Ptch1 pertenece a la familia de receptor ligado a la proteína G y actúa como un transductor de señal obligatorio en la vía Hh. En ausencia de ligando, el receptor Ptch1 reprime la actividad de Smo; si se une el ligando, la represión de Smo desaparece y subsecuentemente esto resulta en la modulación de los factores de transcripción asociados a glioma (Gli). Los factores o proteínas Gli son las principales moléculas efectoras de la vía Hh. Se distinguen 3 factores Gli: Gli1, Gli2 y Gli3. Gli1 tiene

una función activadora transcripcional, Gli2 puede activar o reprimir la expresión génica dependiendo de modificaciones translacionales o postranscripcionales y Gli3 ejerce su función principalmente como represor en actividades transcripcionales ⁽¹⁴⁴⁾ **(Figura 1)**.

En ausencia de ligando, Ptch bloquea Smo y retiene los factores de transcripción Gli en el citoplasma formando un complejo microtubular inactivo junto con otras proteínas como COSTAL2, la kinasa Fused y el factor supresor de Fused (SUFU). Existen otros componentes celulares que tienen un papel en la activación de la vía Hh. SUFU es un regulador negativo de la vía y consigue su efecto a través de diversos mecanismos. Físicamente SUFU secuestra los factores de transcripción Gli suprimiendo su actividad; KIF7 asume un papel regulador positivo ya que antagoniza la actividad SUFU. Otros factores implicados son PKA, GSK3 β , y CK1 ^(145, 146). Por el contrario, si ocurre la activación de la vía Hh, se activa Smo, que se moviliza hacia la punta del cilio y se desencadena una cascada de eventos que promueven la formación de formas activadoras Gli (principalmente Gli-A), que se translocan al núcleo e inducen la activación e incremento de expresión de determinados genes relacionados con la vía Hh, como Ptch, genes relacionados con la proliferación y diferenciación (ciclina D1 y D2, E2F1, N-Myc, FOXM1, PDGFR, IGFBP3 y IGFBP6, Hes1, Neogenin), la supervivencia celular (BCL-2), la auto-renovación (Bmi1, Nanog, Sox2), angiogénesis (VEGF, Cyr61), cardiomiogénesis (MEF2C), la EMT (Snail 1, Sip1, Elk1 y Msx2) y la invasividad (Osteopontina), diversos genes de la familia FOX, TBX2 y disminución de la expresión de genes apoptóticos como Fas, CCND1. Algunas proteínas de la familia FOX, especialmente FOXM1 Y FOXE1, se hallan sobreexpresados en el CBC en comparación con los queratinocitos normales ⁽¹⁴⁷⁾.

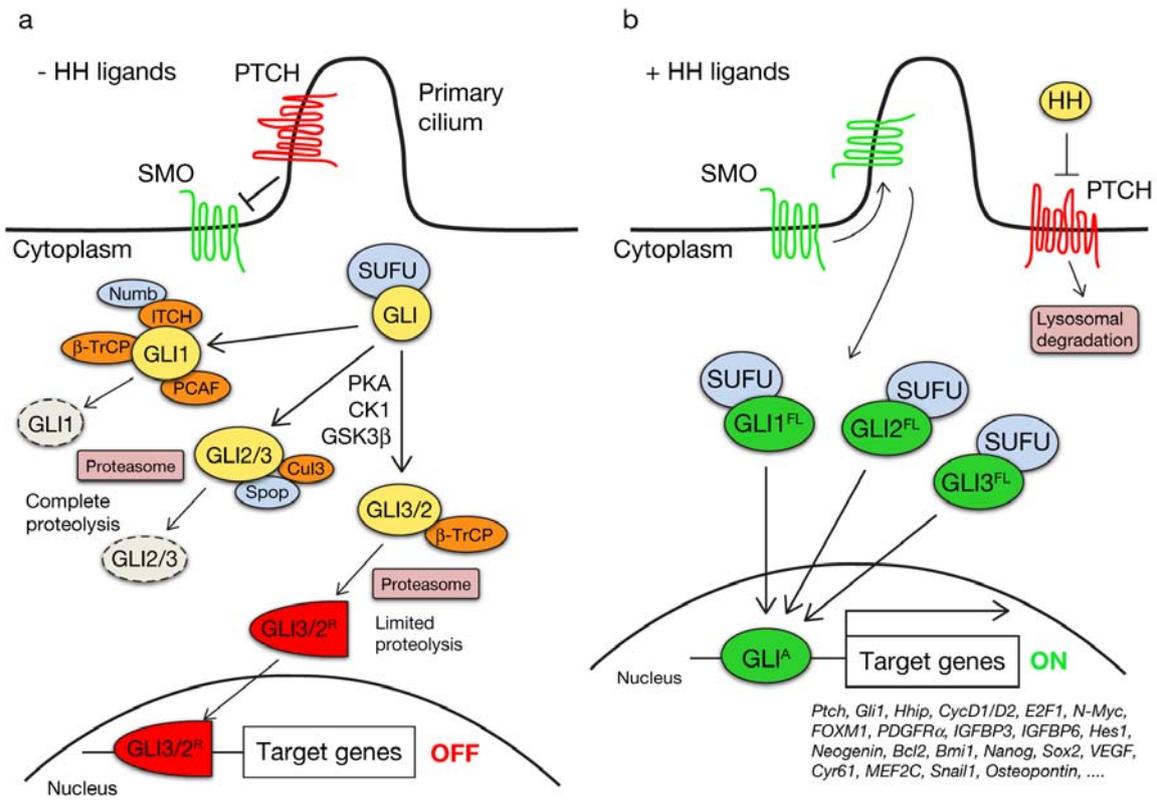


Figura 1. Componentes clave de la vía de señalización Hh mamíferos ⁽¹⁵⁹⁾.

En ausencia de ligandos Hh (a), Ptc inhibe SMO impidiendo su entrada en el cilio primario. Las proteínas Gli son fosforiladas por PKA, GSK3 β y CK1, que crean sitios de unión para la ubiquitina ligasa E3 β -TrCP. Gli3 y, en menor medida, Gli2 sufre degradación parcial del proteosoma, que conduce a la formación de formas represoras (Gli3/2R), que se translocan al núcleo, donde inhiben la transcripción de genes diana Hh. Gli puede ser también completamente degradado por el proteosoma y este proceso puede ser mediado por SPop y Cullin 3-ligasa E3 para Gli2 y Gli3, mientras que Gli1 puede ser degradado por β -TrCP, la ubiquitin ligasa E3 activada por Numb y por PCAF. Tras la unión del ligando Hh (b), Ptc se desplaza desde el cilio primario, lo que permite la acumulación y activación de SMO. SMO activado promueve una cascada de señalización que, en última instancia, conduce a la translocación del factor Gli activado (Gli-A) al núcleo para inducir la transcripción de determinados genes. Abreviaturas: CK1, caseína quinasa 1; GSK3, glucógeno 3 β cinasa sintasa; PCAF, factor asociado CBP a la proteína de unión p300/CREB; PKA, proteína quinasa A; SPop, proteína POZ-tipo moteado; β -TrCP, proteína de contenido repetidor β -transducina.

La activación de la vía Hh que desencadena la iniciación, proliferación y propagación tumoral puede realizarse de forma independiente de ligando o dependiente de ligando. *La vía independiente de ligando o tipo I*, fue el primer tipo de activación aberrante de la vía Hh que se descubrió, con su hallazgo en los pacientes con SG. Los tumores con activación de la vía Hh independiente de ligando poseen aberraciones o mutaciones genéticas que confieren al tumor propiedades intrínsecas de crecimiento y proliferación. Generalmente, se encuentran mutaciones en determinados genes como Ptch, Smo, Gli, SUFU y esto ocurre por ejemplo en el CBC y meduloblastoma. Dentro de estas mutaciones encontramos ⁽¹⁴⁹⁾:

- Mutaciones por pérdida de función en Ptch1, que fueron identificadas inicialmente en pacientes con SG. Estas mutaciones conducen a la sobreexpresión de la vía Hh y los pacientes están predispuestos al desarrollo de múltiples CBC. Se han encontrado que estas mutaciones ocurren también en CBC esporádicos y en el meduloblastoma. Se han descrito >40 mutaciones diferentes de Ptch1.
- Mutaciones por aumento de función en Smo, que también está presente en algunos casos de CBC esporádicos.
- Mutaciones en SUFU se han registrado en el 3% de CBC esporádicos y en >10% de meduloblastomas desmoplásicos.
- Mutaciones en Gli1 y Gli3 se han observado en algunos tumores pancreáticos.

En la *vía dependiente de ligando tipo II o autocrina*, es la propia célula la que secreta ligandos Hh que autoactivan la propia proliferación celular. Esta vía se ha observado en diferentes tumores como próstata, pulmón, glioblastoma, mama, leucemia y neoplasias gastrointestinales. En este tipo de tumores, el tratamiento con inhibidores de estos ligandos resultaría en la disminución de la proliferación tumoral ⁽¹⁵⁰⁾.

En la *vía de señalización dependiente de ligando paracrino o tipo IIIa*, los ligandos se secretan por las células tumorales e inducen la actividad en el estroma adyacente favoreciendo la progresión tumoral. Los mecanismos por los que se produce la interacción entre el estroma tumoral y la vía Hh no son bien conocidos, sin embargo la estimulación del estroma por parte de ésta conduciría a la producción de determinados factores de crecimiento (VEGF, IGF entre otros) y la estimulación de otras vías de señalización (Wnt, interleucina-6) que favorecerían la creación de un microambiente favorable para mantener el crecimiento y progresión tumoral. Esto sucede en tumores como los de próstata, páncreas y colon. Una variante de esta vía es la *vía dependiente de ligando paracrino reversa o tipo IIIb*, en la que los ligandos son producidos por las células del estroma tumoral y estimulan la vía Hh de la célula tumoral. Esto ocurre por ej. en la leucemia y linfoma no Hodgkin ⁽¹⁵¹⁾.

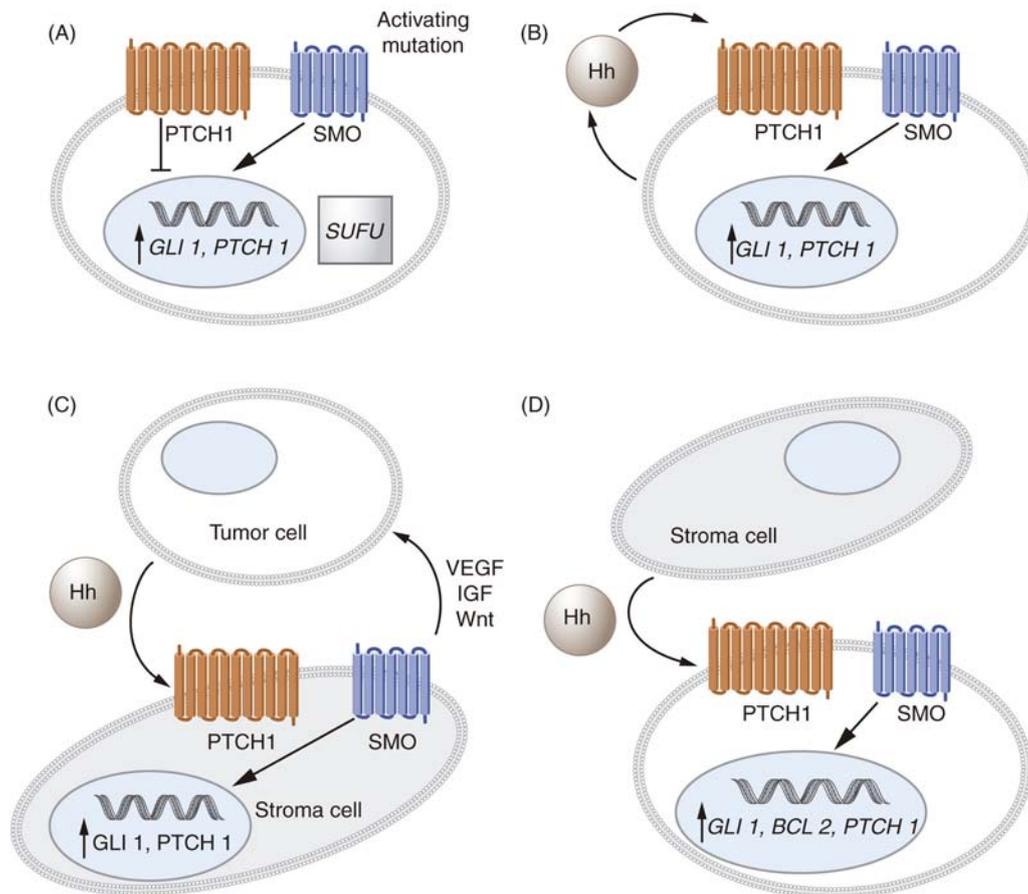


Figura 2. Formas de activación aberrante de la vía Hh.

- A) Vía ligando-independiente o tipo I;
- B) Vía ligando-dependiente autocrina o tipo II;
- C) Vía ligando-dependiente paracrina o tipo IIIa;
- D) Vía ligando-dependiente paracrina reversa o tipo IIIb

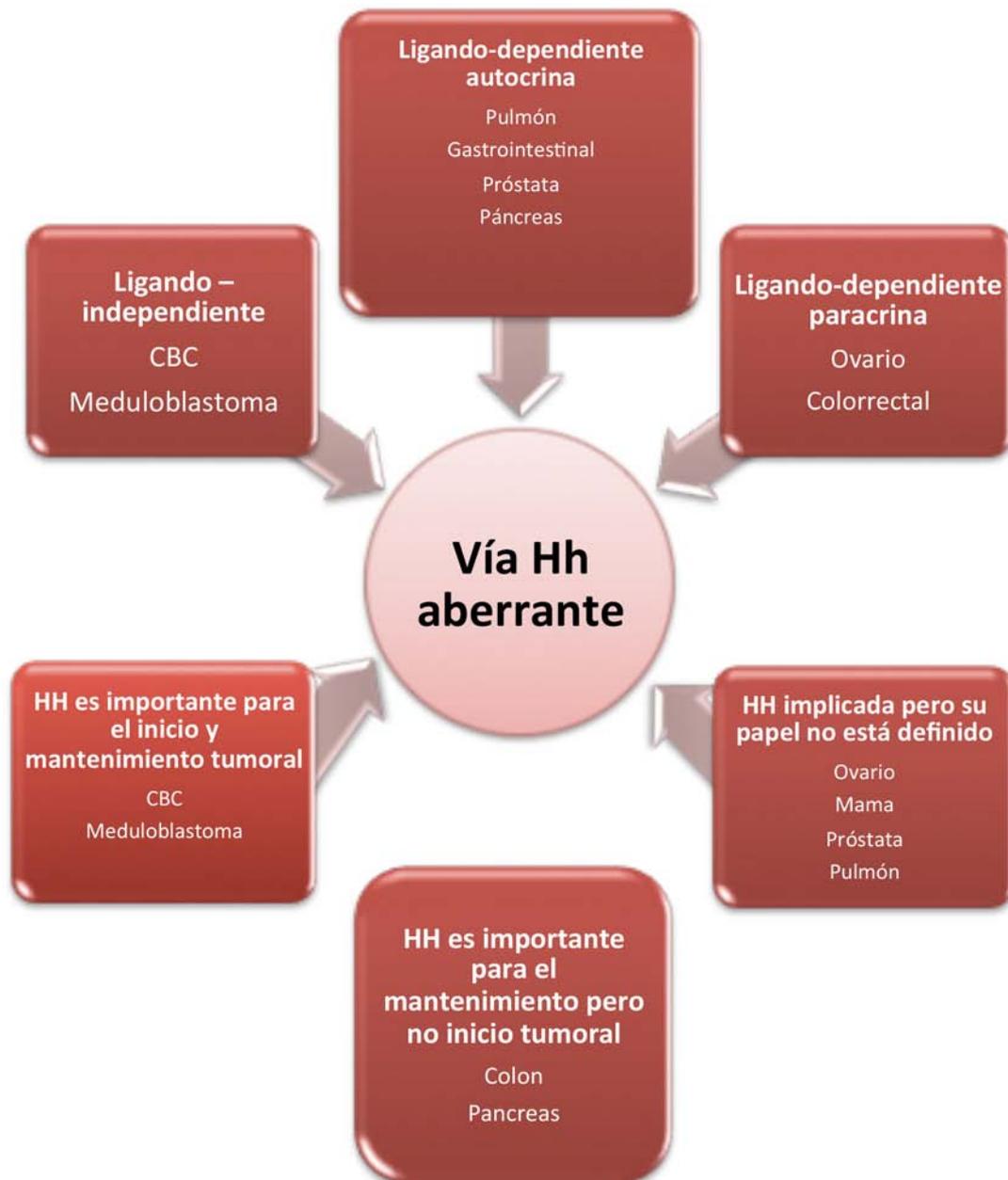


Figura 3. Representación esquemática de la asociación entre las diferentes formas de activación aberrante de la vía Hh y algunos tipos de cáncer.

En los últimos años se han identificado numerosos genes implicados en la regulación de la vía Hh, especialmente en vertebrados.

El primer grupo de moléculas se han identificado como receptores noveles para ligandos Hh que son HIP, BOC, CDO y GAS1. Los ligandos Hh se unirían a éstos receptores inhibiendo su difusión e internalización celular, promoviendo su degradación, de manera que actuarían como reguladores negativos de la vía Hh.

El segundo grupo de moléculas son aquellas que regulan la señal de transducción desde Smo a los factores de transcripción Gli e incluyen a RAB23 (una proteína de transporte), Iguana (que regula la transferencia intranuclear de Gli), y Talpid3 (que regula el procesamiento de Gli y su recambio).

El tercer grupo de moléculas reguladoras corresponde a componentes que se asocian con los centrosomas y el axonema ciliar, identificando de ésta manera un papel para los cilios primarios en la señal de transducción Hh.

Como apunte, las ciliopatías son un conjunto de síndromes en las que las alteraciones corresponden a proteínas localizadas en éstas organelas, y que se traducen en una gran cantidad de rasgos fenotípicos debido a la multiplicidad de roles que cumple el cilio primario. De hecho, la mayoría de éstos rasgos se superponen en las distintas entidades. Algunas de las malformaciones que forman parte de éstas enfermedades representan la traducción de una alteración de la vía Hh, incluyendo por ejemplo la polidactilia y la agenesia del cuerpo calloso ⁽¹⁵²⁾.

2.2.1.2. VÍA DEL RECEPTOR DEL FACTOR DE CRECIMIENTO EPIDÉRMICO (EGFR)

El receptor EGFR es una proteína codificada por el gen EGFR, y es miembro de la familia de los receptores tirosin-kinasa, cuya activación resulta en una autofosforilación intracelular, que inicia una cascada de eventos que conducen a la progresión del ciclo celular, angiogénesis, metástasis y reducción de apoptosis.

El EGFR se expresa normalmente en las células humanas, pero presenta niveles altos de expresión en múltiples neoplasias, como en el 80% de los CE y en el 57% de CBC. Existe una expresión importante del EGFR en aproximadamente el 38% de los CBC y una débil expresión en el 19%. La triple expresión EGFR/ heterodímero HER2/HER3 se observa en aprox 30% de todos los CBC (154). HER son una familia de proto-oncogenes que codifican para unas proteínas con actividad tirosin-kinasa en su dominio intracitosólico, es decir se trata de receptores para el factor de crecimiento de tipo endodérmico humano, que es clave para el proceso de división y crecimiento normal de las células, por lo que su expresión anormal está vinculada al cáncer (sobre todo de mama). Además, el hallazgo de una aberración en la vía EGFR en el CBC se asocia con peor pronóstico y se ha visto que esta vía actúa de forma sinérgica con la vía Hh en la transformación maligna celular.

Todo ello sugiere que la vía EGFR juega un papel importante en la patogénesis del CBC y genera el concepto sobre un papel potencial del uso de agentes que bloquean este vía para el tratamiento del CBC. El primer artículo sobre el uso de terapia anti-EGFR para el tratamiento de CBC fue reportada por Müller y col ⁽¹⁵⁵⁾ en un paciente varón de 87 años en el que se observó una rápida respuesta tras cetuximab. Posteriormente Caron y col ⁽¹⁵⁶⁾ publicaron 2 pacientes con buena respuesta a cetuximab en los que previamente había fracasado el tratamiento con cisplatino. Kalapurakal y col ⁽¹⁵⁷⁾ publicaron su experiencia con 8 pacientes (4 CBC y 4 CE) obteniendo una remisión completa en el 50% de los pacientes, y una reducción parcial en el 50% restante.

2.2.1.3. ALTERACIÓN EN p53

El gen p53 o tp53 es un gen supresor que se encuentra en el brazo corto del cromosoma 17 banda 13 (17p13) y codifica para un factor de transcripción nuclear de 53 Kd (proteína p53). Este gen es esencial para la regulación del ciclo celular ante un daño del ADN, por lo que se le ha denominado como “guardian del genoma”. Cuando el ADN resulta dañado, la proteína p53 se acumula en el núcleo y es capaz de detener el ciclo celular en la fase G1 antes de que se duplique el ADN, y proceder a su reparación. Si la lesión es reparada, el ciclo celular continúa, pero si no es así, se induce la apoptosis celular inducir la respuesta de la célula ante el daño del ADN.

La alteración de la proteína p53 produce inestabilidad genómica, siendo las células incapaces de evitar la proliferación o activar la apoptosis de las mismas, de manera que son capaces de acumular mutaciones de forma progresiva, originando la carcinogénesis. Las mutaciones en p53 inducidas por la RUV se encuentran en aproximadamente el 60% de los CBC ⁽¹⁸⁾. En un estudio realizado por Ling y col ⁽¹⁵⁸⁾, se estudiaron muestras microdisecadas de tumores CBC y piel sana adyacente con el fin de realizar un análisis por PCR y secuenciación genética, en el que se halló una pérdida alélica del locus patched en 6/8 CBC esporádicos y 17/19 tumores hereditarios, mientras que las mutaciones en p53 se encontraron en todos los casos esporádicos y sólo 7/20 hereditarios. Las mutaciones detectadas en p53 en los casos de CBC hereditario incluyó deleciones de nucleótidos aislados y atípicas sustituciones de doble base comparada con el patrón de mutaciones sin sentido inducidas por la luz ultravioleta en los casos esporádicos. La elevada frecuencia de ambas mutaciones y su coexistencia sugiere que las alteraciones genéticas en el gen p53 son importantes en el desarrollo del CBC.

2.2.1.4. COOPERACIÓN ENTRE Hh Y OTRAS VÍAS ONCOGÉNICAS DE SEÑALIZACIÓN

La activación de la vía Hh de forma ligando-independiente se ha demostrado en el desarrollo y proliferación de algunos tumores como el CBC, meduloblastoma y rhabdomiocarcinoma, pero en muchos otros tumores la activación de ésta vía de forma ligando-dependiente es potenciada gracias a la interacción con otras vías de señalización como RAS/RAF/MEK/ERK, PI3K/AKT/mTOR, EGFR y Notch (**Figura 4**). Este hecho es particularmente interesante desde el punto de vista terapéutico, ya que puede permitir e iniciar el desarrollo de estudios que evalúen la eficacia de la terapia combinada de inhibidores de éstas vías con agentes antagonistas de Smo tales como vismodegib, sonidegib (LDE225) y BMS-833923 con el objetivo de implementar la respuesta terapéutica ⁽¹⁵⁹⁾.

RAS/RAF/MEK/ERK

Esta vía está implicada en procesos de proliferación, crecimiento y supervivencia celular y se han identificado mutaciones y activaciones simultáneas de Hh y RAS/RAF/MEK/ERK en numerosos tumores como pulmón, páncreas, ovario, colon, páncreas, melanoma y leucemia. La interacción, tanto positiva como negativa, entre ambos grupos de vías, se observa con frecuencia en éstos tumores, favoreciendo la progresión y crecimiento tumoral. La vía ERK modula positivamente Hh. MEK aumenta la actividad transcripcional de Gli1 y Gli2 y el factor MEF2C regula directamente la expresión de Gli2 y coopera con el durante la cardiomiogénesis in vitro.

PI3K/AKT/mTOR

Esta vía desempeña un papel en el crecimiento, metabolismo, motilidad, proliferación, diferenciación, supervivencia celular, y la angiogénesis. PI3K/AKT interactúa de forma negativa con Hh al regular la degradación de Gli2 ya que interfiere con la fosforilación mediada por GSK3 PKA de Gli2. Se ha demostrado que regula la actividad Gli tanto en células normales como en tumorales. En líneas celulares de cáncer en humanos, se ha observado que la fosfatasa PP2A, que funciona en oposición al complejo mTOR-1, inhibe la localización nuclear de Gli3 así como la activación de Gli3 dependiente de la ciclinaD1, sin afectar a Gli1 y Gli2. Otros estudios han demostrado que la interacción Hh y PI3K promueve la metástasis tumoral mediante la inducción del proceso de transición epitelio-mesénquima. En éstos, se observó que la expresión de Sh incrementó la incidencia de metástasis a través de la activación de PI3K/AKT y en un modelo de xenotrasplante de rhabdomiocarcinoma se objetivó que la inhibición de mTOR y Hh inducida por la rapamicina reducía el proceso de transición epitelio-mesénquima.

EGFR

Esta vía está implicada en múltiples procesos celulares a través de la activación de varias vías de señalización, incluyendo la fosfolipasa C, SRC/FAK, STAT, MAPK, y PI3K/AKT, y se ha implicado en la tumorigénesis a través de su papel en la proliferación y supervivencia celular, neoangiogénesis, invasión y metástasis. Por otra parte, la activación combinada de Hh y EGFR demostrada en algunos tumores, promueve la transformación oncogénica sinérgica en múltiples tipos celulares y cooperan en la promoción de la proliferación e invasión tumoral. Un ejemplo de la interacción positiva entre ambas vías es la demostración de que la activación de EGFR estimularía la vía JUN/AP-1, que cooperarían con las proteínas Gli para activar la expresión de genes Gli/EGF involucrados en el desarrollo del CBC. Sin embargo, EGFR también puede actuar como regulador negativo de la vía Hh, como se ha demostrado en casos de carcinomas escamosos de cabeza y cuello, donde se objetivaba un aumento de los niveles de Gli1 tras el empleo de inhibidores EGFR.

PKC

Respecto a la familia PKC, la sobrerregulación de aPKC ν/λ potencia la vía Hh mediante la fosforilación y activación de Gli1. Debido a que aPKC ν/λ es un gen diana Hh, ejerce también una retroalimentación positiva contribuyendo a la activación Hh.

Otras interacciones

La activación de la vía Wnt/ β -catenina y de la familia de tumores del sarcoma de Ewing inducen directamente la expresión de Gli1 a través del factor de transcripción oncogénico EWS/FLI1, resultante de la translocación cromosómica t (11; 22). Aunque la vía Hh se regula por muchos procesos de fosforilación, solo se han descrito unas pocas fosfatasa que modulen ésta vía. En *Drosophila*, PP4 y PP2A actúan como reguladores positivo y negativo actuando a nivel de Smo y Ci, respectivamente. Recientemente, la fosfatasa 1 inducida por p53 (WIPI) se ha descrito como cooperadora de Sh en el meduloblastoma. Se observa una regulación recíproca negativa entre Gli1 y el supresor tumoral p53. p53 inhibe la actividad, y la localización nuclear de la proteína Gli1 en células madre neurales y células de glioblastoma. Por el contrario, Hh inhibe p53 mediante la inducción de la activación de fosforilaciones MDM2, aumentando así la degradación de p53. La activación de Notch inhibe Hh en el glioblastoma y melanoma ⁽¹⁶⁰⁾.

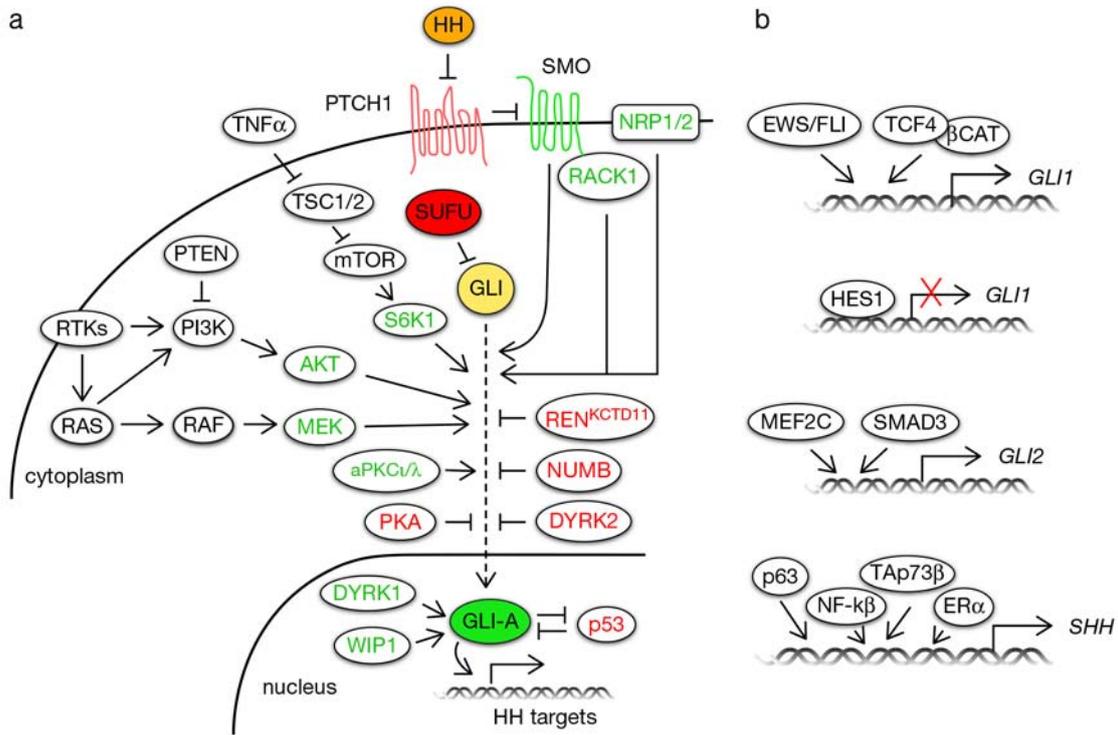


Figura 4. Integración Cooperativa entre la señalización Hh y otras vías oncogénicas ⁽¹⁵⁹⁾.

(A) Diagrama esquemático de los componentes básicos de la vía Hh y sus reguladores positivos (en verde) y negativos (en rojo). (B) Reguladores transcripcionales directos de Gli1, Gli2 y SHH.

Abreviaturas: AKT, homólogo del oncogén viral del timoma murino v-akt; aPKC ζ/λ , la proteína quinasa C-atípica ζ/λ ; β -CAT, β -catenina; DYRK 1/2, kinasa 1/2 relacionada con la doble especificidad Yak-1, ER α , receptor α de estrógeno; EWS/FLI1, gen de fusión del factor de transcripción del sarcoma de Ewing; mTOR, diana de la rapamicina en mamíferos; MEF2C factor 2C de potenciador de miocitos; MEK, proteína del sarcoma de Ewing/integración del gen de fusión del factor 1 de transcripción en la leucemia; HES1, potenciador de split-1; HH, vía Hh; MEF2C, factor 2C potenciador de miocitos; NF- κ B, el factor kappa-cadena-promotor de luz nuclear de células B activadas; NRP1/2, neuropilina; PI3K, fosfoinosítide-3-quinasa; PKA, proteína quinasa A; Ptch, patched; PTEN, fosfatasa y homólogo de tensina; RACK1, el receptor 1 de quinasa C activada; RTK, receptor tirosin-quinasa; S6K1, proteína ribosomal S6 quinasa 1; SHH, Sonic hedgehog; SMO, Smoothened; SUFU, supresor de Fused; TNF, factor α de necrosis tumoral; TSC1/2, la esclerosis tuberosa medio; WIP1, fosfatasa 1 tipo salvaje inducida por p53.

2.3. DIAGNÓSTICO DEL CBC

El diagnóstico de sospecha del CBC es clínico, pudiendo servir de ayuda la dermatoscopia, pero con frecuencia el diagnóstico es confirmado desde el punto de vista histopatológico mediante biopsia cutánea.

2.3.1. VARIANTES CLÍNICAS

Podemos diferenciar 3 subtipos clínicos principales de CBC: CBC superficial (CBCs), CBC nodular (CBCn) y CBC morfeiforme (CBCm). Los subtipos superficial y nodular pueden presentar una melanización variable, que se traducirá en una mayor o menor pigmentación tumoral. Clínicamente, y en estadíos iniciales, debemos sospechar la aparición de un CBC ante una erosión o una úlcera pequeña que no cicatriza. En líneas generales, el CBC es un tumor de crecimiento muy lento durante años, con tendencia a la invasión local más que a la producción de metástasis a distancia. El comportamiento biológico puede ser menos indolente en aquellos tumores de fenotipo histológico más agresivo o en determinados contextos clínicos como la inmunosupresión. La localización tumoral más frecuente para todos los subtipos clínicos es en áreas fotoexpuestas.

CBCs: Clínicamente se manifiesta en forma de máculas, papulas o placas eritematosas o eritematodescamativas, ulceradas o no, no infiltradas.

CBCn: Clínicamente se caracteriza por una papula, placa o nódulo bien delimitado, eritematoperlado o traslúcido con presencia de telangiectasias superficiales.

CBCm: Se caracteriza por ser un tumor poco circunscrito que infiltra y se extiende en profundidad a la dermis o los tejidos profundos.

2.3.2. DERMATOSCOPIA DEL CBC

La presencia de pigmento en el CBC se correlaciona con la existencia de melanocitos cargados de melanina atrapados en el interior de la masa tumoral o bien con el secuestro de melanina por las células tumorales o por melanofagos dérmicos ⁽¹⁸⁷⁾. Según un estudio de validación de los criterios dermatoscópicos del CBC, en el que se compararon 142 CBC pigmentados con 142 melanomas invasivos y 142 lesiones cutáneas benignas pigmentadas incluyendo lesiones no melanocíticas, aquellos parámetros que se hallaron con significativa mayor frecuencia en los CBC pigmentados en comparación con los melanomas y las lesiones cutáneas benignas pigmentadas fueron seleccionados para crear un método diagnóstico. Según este método para el diagnóstico de un CBC pigmentado resulta imprescindible que la lesión no presente retículo pigmentado y que se observe al menos uno de los 6 siguientes hallazgos: grandes nidos ovoides azul-gris, múltiples glóbulos azul-gris, áreas de hojas de arce, áreas en rueda radiada, ulceración y telangiectasias ramificadas. El hallazgo de retículo pigmentado excluye el diagnóstico de CBC pigmentado; no obstante, se ha descrito la presencia de retículo hasta en el 2,8% de los CBC ⁽¹⁸⁸⁾.

Los grandes *nidos ovoides azul-gris* están presentes en el 55% de los CBC pigmentados y aparecen como estructuras ovales de coloración azul-grisácea y de bordes generalmente poco nítidos. Se correlacionan histológicamente con agregados tumorales esféricos localizados en diferentes estratos de la dermis; la diferente proximidad a epidermis de los agregados celulares determina el color y la nitidez con la que los observamos ⁽¹⁸⁹⁾.

Los múltiples *glóbulos azul-grises* están presentes en el 27% de los CBC y consisten en estructuras ovaladas de color azul-gris de menor tamaño que los nidos ovoides. Deben distinguirse de los glóbulos marrones presentes en las lesiones melanocíticas y de los puntos azul-gris relacionados con melanofagia ⁽¹⁸⁸⁾.

Las áreas en *hoja de arce* se han descrito en tan solo el 17% de los CBC pigmentados pero constituyen un hallazgo altamente específico (especificidad 100%) y por tanto patognomónico ⁽¹⁸⁸⁾. Se trata de proyecciones de color marrón o azul-gris en la periferia del tumor. Histopatológicamente se correlacionan con crecimientos tumorales nodulares intensamente pigmentados localizados en la dermis papilar de los márgenes tumorales ⁽¹⁸⁹⁾.

Las áreas en *rueda radiada* o *rueda de carro* también son un signo altamente específico, aunque poco frecuente. Consisten en proyecciones radiales de color pardo o azul-gris que confluyen en un eje central hiperpigmentado ⁽¹⁸⁸⁾. Histopatológicamente se corresponden con nidos tumorales de crecimiento cordonal con un centro hiperpigmentado. Las áreas en rueda de carro se diferencian de las hojas de arce por presentar el centro hiperpigmentado del que parten las digitaciones o radios periféricos ⁽¹⁸⁹⁾.

La presencia de vasos dilatados, ramificados denominados *telangiectasias ramificadas* o arboriformes se han identificado hasta en el 52% de los CBC pigmentados.

La *ulceración* se corresponde con un área de márgenes bien delimitados y superficie brillante por pérdida epidérmica focal que expone la dermis papilar.

De esta forma, se han establecido una serie de criterios para el diagnóstico dermatoscópico de CBC pigmentado. Se trata de 5 criterios positivos y 1 negativo. Entre los criterios positivos, que se detallan a continuación, al menos 1 ha de estar presente ⁽¹⁸⁸⁾:

- Nidos grandes ovoides azul-gris: Áreas ovoides o redondas, confluentes o casi confluentes de mayor tamaño que los glóbulos y sin conexión con el cuerpo del tumor.
- Glóbulos múltiples azul-gris: Estructuras circulares múltiples de color azul-grisáceo de mayor tamaño que los puntos azules.
- Áreas en hoja de arce: Extensiones bulbosas de color marrón a gris azul formando un patrón en hojas de árbol. Nunca se originan a partir de un retículo pigmentado y no suelen estar en contacto con un área de pigmento cercana.
- Estructuras en rueda de carro: son estructuras radiales de color marrón azul o gris confluyendo en un eje central habitualmente hiperpigmentado.
- Telangiectasias ramificadas: vasos habitualmente gruesos y ramificados bien definidos en la superficie del tumor.

El criterio negativo consiste en la ausencia de retículo pigmentado (no deber estar presente).

Para el diagnóstico dermatoscópico de CBC no pigmentado no ha sido validado un método diagnóstico, sin embargo la identificación de estructuras vasculares y la ulceración en ausencia de retículo pigmentado resultan de máxima utilidad en el diagnóstico de éste.

2.3.2.1. DIAGNÓSTICO DIGITAL DEL CBC

En la última década se han desarrollado novedosas técnicas de imagen no invasivas para el diagnóstico in vivo de tumores cutáneos, con una resolución próxima a la que ofrece el estudio histopatológico. Éstas incluyen la microscopia confocal, la microscopía multifotónica y la tomografía de coherencia óptica. Un estudio multicéntrico, reveló para la microscopía confocal una sensibilidad del 100% y una especificidad del 88.5% en el diagnóstico del CBC. Aunque la microscopía multifotónica y la tomografía de coherencia óptica muestran también una buena correlación morfológica histopatológica para CBC, se necesitan estudios más amplios para determinar la precisión diagnóstica de las mismas ⁽¹⁹⁰⁾.

2.3.3. ANATOMÍA PATOLÓGICA DEL CBC

En general se considera que hay más de 66 subtipos/variedades histopatológicas de CBC y pueden establecerse principalmente 2 grupos en función del grado de diferenciación del CBC hacia alguno de los apéndices cutáneos: CBC diferenciado y no diferenciado ⁽¹⁷⁰⁾.

Las guías francesas han definido 6 subtipos histopatológicos de CBC. De acuerdo con este grupo de trabajo, los subtipos histopatológicos estarían clasificados de la siguiente manera: superficial, nodular, infiltrante, morfeiforme, metatípico o basoescamoso y mixto o carcinoma compuesto ⁽¹⁷⁰⁾. Se define como CBC metatípico aquel que incluye áreas de diferenciación escamosa. Es controvertido si se clasifica como un subtipo histológico aislado o se considera como una forma transicional a CE ⁽¹⁷¹⁾. El carcinoma compuesto se define como un CBC concomitante con un CE, cada uno de ellos claramente diferenciable.

El grupo histopatológico diferenciado de CBC muestra similitudes o diferentes grados de diferenciación respecto al anexo cutáneo hacia el que se diferencia; sin embargo no puede establecerse una clara distinción categórica ya que hay casos de CBC no diferenciados que muestran focos o áreas de diferenciación y viceversa. Los subtipos principales son: queratótico, infundibuloquístico, folicular, pleomorfo, con diferenciación ductal, diferenciación sebácea y fibroepitelioma de Pinkus. El CBC *queratótico* muestra células paraqueratóticas y quistes córneos adyacentes a las células no diferenciadas. Las células paraqueratóticas contienen un núcleo elongado en remolinos concéntricos o alrededor de los quistes corneos ⁽¹⁷²⁾. El *CBC infundibuloquístico* muestra nidos tumorales basalioides alargados en continuidad con la epidermis suprayacente que proliferan rodeando estructuras llenas de queratina. Los nidos tumorales muestran una diferenciación escamosa progresiva ⁽¹⁷³⁾. El *CBC con diferenciación ductal* pueden ser ecrinos o apocrinos, y consisten en nidos tubulares delineados o recubiertos por un epitelio cuboideo ⁽¹⁷⁴⁾. El *CBC con diferenciación sebácea* se caracteriza porque las células germinativas representan más del 50% del diámetro transversal de los lobulillos tumorales con sebocitos ⁽¹⁷⁵⁾. En el *Fibroepitelioma de Pinkus* se observan cordones tumorales estrechos anastomosados entre sí en un estroma muy fibroso. La mayoría de los cordones muestran conexiones con la epidermis suprayacente y muestra características del fibroadenoma intracanalicular de la mama, con la queratosis seborreica y el CBCs. El fibroepitelioma de Pinkus puede transformarse en un CBC invasivo ⁽¹⁷⁶⁾.

Otras variantes menos comunes son el CBC *adamantinoide* que muestra amplios espacios claros intercelulares y se considera un patrón histológico agresivo ⁽¹⁷⁷⁾; el *CBC de células granulares* muestra en su citoplasma numerosos granulos eosinofílicos con tendencia a la coalescencia; el CBC de células claras contiene vacuolas intracitoplasmáticas de diferentes tamaños que contienen glucógeno ⁽¹⁷⁸⁾.

Dentro del grupo de CBC no diferenciado podemos diferenciar 2 grandes subgrupos: las variantes histológicas no agresivas o indolentes como el CBCs y CBCn; y las variantes agresivas como el CBCi, el CBC metatípico y el CBCm.

Las características histopatológicas varían en función del subtipo pero la mayoría de los CBC presentan similitudes. Algunos hallazgos histológicos son bastante comunes a todos los CBC. Los 6 hallazgos que generalmente se encuentran en todos los CBC son ⁽¹⁷⁹⁾:

- Nidos o islotes de células basaloideas, que asemejan a la capa basal epidérmica, que están bien circunscritos y adquieren tamaño variable.
- Un patrón de empalizada celular en la periferia de estos nidos, que es una expresión de la polaridad residual de ésta célula tumoral y expresión del componente proliferativo celular tumoral. Se ha comprobado que este fenómeno se corresponde con el patrón de crecimiento lento, con invasión progresiva local, característico del CBC.
- Alto índice mitótico.
- Queratinocitos necróticos.
- Un estroma celular compuesto de células fusiformes en una matriz mucinosa con finas fibras de colágeno y gran cantidad de mastocitos. Un signo típico es la presencia de una retracción artefactual constante del estroma en la periferia inmediata del islote tumoral. El estroma es determinante para el desarrollo y supervivencia de los islotes tumorales de CBC, por este motivo las palmas y plantas no contienen los elementos necesarios para el desarrollo de ésta neoplasia.
- Delineación o separación clara de los nidos tumorales del estroma circundante, atribuible a la actividad de la colagenasa, depósito de mucina y una reducción en el número de hemidesmosomas.

Otros hallazgos frecuentes son la presencia de queratinización y pigmentación. La pigmentación es atribuible a la proliferación de melanocitos muy pigmentados entre los queratinocitos de manera que la transferencia de melanina a estos últimos es principalmente observado en la CBCs. La célula basaloide posee un núcleo uniforme, redondeado u oval, hipercromático con cromatina densamente agrupada, y citoplasma escaso poco definido. El inmunofenotipo del CBC se corresponde con el de la capa celular externa del folículo piloso; se observa de forma típica expresión de citoqueratinas 5,14,15 y 17. No se encuentran expresión de citoqueratina 1 y 10 (características del epitelio simple) ni de citoqueratina 8 y 18 (típicas en el epitelio secretor). El antígeno de membrana epitelial (EMA) S100 o antígeno carcinoembrionario (CEA) son negativos ⁽¹⁸⁰⁾.

Carcinoma basocelular superficial (CBCs): Histológicamente se caracteriza por proliferaciones de células basaloideas que se originan de la epidermis, mantienen contacto con ella y tienen poca penetración en la dermis extendiéndose solo hasta la dermis papilar. Puede asociarse un infiltrado inflamatorio crónico en dermis papilar más o menos denso ⁽¹⁸¹⁾.

Carcinoma basocelular nodular (CBCn): Histológicamente se caracteriza por presentar agregados de células basaloides bien circunscritos, de forma y de tamaño variable; se disponen en la dermis de forma expansiva pudiendo mantener conexión con la epidermis o el epitelio folicular. A pesar de que demuestran una disposición en empalizada de los núcleos más periféricos las células centrales se disponen de forma más desordenada. La retracción peritumoral del estroma está presente ⁽¹⁸²⁾.

Carcinoma basocelular infiltrante (CBCi): Histológicamente se caracteriza por la presencia de islotes de células tumorales de diversos tamaños; se presentan como colecciones o bandas elongadas que contienen de 4 a 8 capas de células. Presentan contornos irregulares, dentados o espiculados y poca o ninguna empalizada así como retracción peritumoral del estroma. Las células basaloides que los componen y sus núcleos muestran pleomorfismo. La demarcación entre el tumor y el estroma es pobre y a diferencia del CBC morfeiforme no se acompaña de una reacción significativa por parte del estroma, es decir, no existe incremento en el número de fibroblastos ni mayor densidad del colágeno ⁽¹⁷⁰⁾.

CBC infiltrante morfeiforme (CBCm): Está compuesto por células basaloides dispuestas en islotes pequeños así como en cordones angostos y angulados; la mayoría de estos cordones son delgados, siendo del grosor correspondiente a una o dos capas de células. Pueden a su vez encontrarse cordones o agregados más gruesos que muestran ramificaciones que adquieren forma de proyecciones digitales. La presencia de empalizada nuclear periférica puede no ser evidente y la retracción peritumoral del estroma inconspicua o ausente. El estroma que rodea al tumor es un estroma fibroso con bandas de colágeno engrosado y eosinofílico ⁽¹⁸³⁾.

CBC metatípico o basoescamoso: Existen 2 variantes, la mixta y la intermedia. La tipo mixta presenta queratinización focal, que consiste en grupos celulares con centro coloidal o paraqueratótico y la tipo intermedia que muestra 2 tipos celulares en cordones estrechos, una capa externa de células más oscuras y una capa interna de células más grandes, con hallazgos intermedios entre CBC y CE. Los CBC metatípicos son considerados por algunos autores como una transición entre CBC y CE. Aquellos CBC que muestran una extensa diferenciación hacia CE los hacen más agresivos con mayor tendencia metastásica comparado con otras variantes de CBC. Sin embargo otros autores consideran que este hecho no es así, sino que el CE sería un verdadero carcinoma anaplásico de la epidermis mientras que el CBC está compuesto de células inmaduras más que anaplásicas. Por lo tanto el tipo metatípico mixto representaría un CBC queratótico y el tipo intermedio representaría un CBC con diferenciación hacia 2 tipos de células (CBC con diferenciación escamosa) ⁽¹⁸⁴⁾.

CBC micronodular: Se caracteriza por presentar células basaloides que se disponen en múltiples islotes pequeños y redondeados de tamaño similar al de los bulbos pilosos; estos islotes poseen un patrón de crecimiento disperso y asimétrico extendiéndose lateralmente y en profundidad. La presencia de núcleos dispuestos periféricamente en empalizada puede no ser evidente o estar menos desarrollada que en el caso del CBCn; la retracción peritumoral del estroma es poco frecuente ⁽¹⁸⁵⁾.

En ocasiones, la realización de la exéresis completa del tumor puede mostrar un fenotipo histológico diferente o más agresivo que no se observaba en el estudio inicial de una muestra cutánea previa de menor tamaño. Si observamos una combinación de varios subtipos histopatológicos en un determinado CBC, debemos considerar el componente más agresivo o de peor pronóstico a la hora de clasificar este CBC, de manera que el comportamiento biológico de un determinado CBC con patrón mixto depende del patrón histológico más agresivo presente en el mismo. Haws y col demostraron que hasta en el 18% de las biopsias iniciales de CBC no se correlacionaban correctamente con el subtipo histológico resultante del análisis de la pieza total y que hasta el 40% de éstas mostraron un subtipo agresivo que no se reflejaban en la biopsia inicial ⁽¹⁸⁶⁾.

2.4. DEFINICIÓN DEL CARCINOMA BASOCELULAR LOCALMENTE AVANZADO (CBCIa)

Aunque el pronóstico para los pacientes con CBC es, en general, bueno hay un pequeño grupo de tumores “complejos” cuyo manejo representa un reto terapéutico, y que incluyen aquellos CBC denominados como “localmente avanzados” (CBCIa), los metastásicos y otros, en los que las opciones terapéuticas clásicas disponibles hasta hace pocos años, como la cirugía y RT, podrían no ser suficientes y/o adecuadas para la erradicación completa del tumor o estar contraindicadas debido a diversos factores.

Como se ha comentado en el capítulo anterior, y según la definición de los grupos pronósticos, aquellos tumores denominados como “CBC de alto riesgo” son los que presentan mayor probabilidad de recidiva y de invasión locorregional en profundidad y metástasis. Los factores clínicos que deben considerarse a la hora de evaluar la complejidad del CBC y que por lo tanto influirán en la elección del tratamiento, incluyen tamaño tumoral, localización, grado de invasión local, subtipo histológico, fracaso de tratamientos previos y factores dependientes del paciente como la edad y comorbilidades asociadas ⁽¹⁹²⁾. Los tumores grandes, clasificados como aquellos que presentan un diámetro tumoral inicial ≥ 45 mm, subtipos histológicos agresivos con presencia de invasión perineural y/o perivascular, CBC localizados en áreas centofaciales, especialmente el área periorbitaria, y periauricular, tumores recurrentes (teniendo en cuenta también el número de recidivas), pacientes con determinadas genodermatosis que predisponen al desarrollo de cáncer cutáneo, inmunodeprimidos, y elementos dependientes del paciente como la edad avanzada y comorbilidades asociadas, son los principales factores que van a determinar la consideración del CBC como “complejo” a la hora de decidir cual será el abordaje terapéutico más adecuado y que, potencialmente pueden representar un mayor riesgo de invasión local y a distancia ⁽¹⁹³⁾.

Respecto a la definición y clasificación de aquellos CBC complejos no metastásicos que se englobarían dentro de la denominación “CBC localmente avanzado (CBCIa)”, no existe una homogeneidad en la literatura científica, probablemente debido a la relativa escasa incidencia y prevalencia de los mismos, heterogeneidad de éstos casos de CBC y el limitado arsenal terapéutico disponible para el tratamiento de los mismos. El uso del término “CBC avanzado” data por primera vez de 1979, cuando Sakura y col publicaron un estudio donde comparaban diferentes modalidades terapéuticas en el tratamiento del CBC recurrente ⁽¹⁹⁴⁾. El término CBCIa apareció por primera vez en un artículo en el que los autores publicaron los resultados del tratamiento de estos casos mediante un régimen quimioterápico basado en cisplatino. Finalmente, apareció una primera definición en un estudio dirigido por Kwan y col ⁽¹⁹⁵⁾ en 2004 en el que se establecían los criterios de inclusión de aquellos pacientes con CBC tributarios de recibir RT. En este estudio, los pacientes tributarios de considerarse como CBCIa tenían que cumplir uno de los siguientes criterios: a) $\geq T2$ (tamaño tumoral de 2 cm o enfermedad invasiva en profundidad, tomando como referencia el estadiaje TNM establecida por la AJCC en 1997) y b) tener afectación ganglionar, comprobada mediante exploración física clínica o confirmación radiológica (**Tabla 5**).

Más recientemente, y coincidiendo con el desarrollo de determinadas moléculas dirigidas al tratamiento específico de determinados tipos de CBC, la definición de CBCIa se ha ido modificando de manera que, a la hora de valorar la mejor herramienta con intención curativa de éste tipo de tumores, no sólo se tienen en cuenta características dependientes del tumor sino también dependientes del paciente. Al igual que se valora la irreseabilidad basándonos en el grado de invasión tumoral, la experiencia del cirujano, y las probables deformidades estéticas y/o funcionales tras la cirugía (sin que existan guías homogéneas que definan hasta que punto un tumor es resecable o no), se añaden otros conceptos como los de inoperabilidad o existencia de contraindicación para cirugía y/o RT. Proporcionar una definición sólida y objetiva de los casos que deberían considerarse como CBCIa representa un reto, no sólo debido a la heterogeneidad de la enfermedad y a la escasa disponibilidad actual de opciones terapéuticas para el tratamiento de éstos casos complejos, sino también debido a factores subjetivos dependientes del paciente ⁽¹⁹⁷⁾.

La Unión Americana del Comité de Cáncer (AJCC) introdujo la definición de CBCIa en 2010, como aquel CBC en estadio $\geq T2$ o aquel en el que las modalidades de tratamiento actuales, tales como la cirugía y RT, se consideren potencialmente contraindicadas debido a factores clínicos propios del tumor y/o del paciente ⁽¹⁹⁶⁾. En aquellos CBC que han invadido tejidos profundos extracutáneos, la cirugía puede resultar mutilante, no curativa debido a la probable inaccesibilidad quirúrgica por localización y extensión de la enfermedad, y ocasionar importante deformidad cosmética. La RT puede también resultar insuficiente en estos casos, por deficiente penetrabilidad en función de la extensión y localización del tumor.

Recientemente, un grupo multidisciplinario británico apoya esta definición y la amplía de manera que propone que la definición de CBCIa debería incluir factores clínicos dependientes del tumor y del paciente, sugiriendo que el diagnóstico y consideración de CBCIa obedecería a múltiples factores y circunstancias individuales y centropendientes, que pudieran impedir o contraindicar el uso de las opciones terapéuticas clásicamente disponibles hasta el momento como la cirugía y RT, no únicamente y de forma excluyente la confirmación clínica, histológica y/o radiológica de la existencia de invasión tumoral tisular en profundidad locorregional (**Tabla 7**). Por ello, el abordaje terapéutico de éste tipo de tumores debería realizarse por un equipo multidisciplinario, con la participación de dermatólogos, oncólogos, cirujanos plásticos y patólogos, con el fin de determinar cual sería la opción de tratamiento más adecuada para este tipo de tumores ⁽¹⁹⁸⁾.

De tal manera que, teniendo en cuenta la publicación científica hasta el momento actual, podríamos definir el CBCIa de forma general como aquel CBC en el que hay confirmación radiológica de invasión de determinadas estructuras vecinas en profundidad y también probablemente aquel CBC de un tamaño e invasión suficientes (aunque no exista demostración radiológica de invasión en profundidad) en el que la cirugía y RT fueran inadecuadas, insuficientes o contraindicadas para lograr la curación del tumor, ya sea por características del propio tumor (por ej localización, tumores múltiples) o del paciente.

Tabla 5. Estadiaje TNM para el CCNM (AJCC) ⁽¹⁹⁶⁾

<p>Tumor primario (T)</p> <p>Tx El tumor primario no se puede valorar</p> <p>T0 Sin evidencia de tumor primario</p> <p>Tis Carcinoma in situ</p> <p>T1 Tumor ≤ 2 cm con un factor de alto riesgo asociado</p> <p>T2 Tumor > 2 cm, o cualquier tamaño con 2 o más factores de riesgo asociados</p> <p>T3 Tumor que invade hueso maxilar, mandibular, órbita o hueso temporal</p> <p>T4 El tumor con invasión del esqueleto o invasión perineural de la base del cráneo</p>	
<p>Factores de alto riesgo</p> <p>Grado de invasión > 2 mm de grosor tumoral; Nivel de Clark $\geq IV$; invasión perineural</p> <p>Localización Localización primaria auricular o labio</p> <p>Grado de Diferenciación Pobrementemente diferenciado o indiferenciado</p>	
<p>Ganglios linfáticos locorregionales (N)</p> <p>Nx Los ganglios linfáticos regionales no se pueden valorar</p> <p>N0 No existen metástasis en ganglios regionales</p> <p>N1 Metástasis en un ganglio linfático ipsilateral, de diámetro ≤ 3 cm</p> <p>N2a Metástasis en un ganglio linfático ipsilateral, de diámetro > 3 y ≤ 6 cm</p> <p>N2b Metástasis en múltiples ganglios ipsilaterales de diámetro ≤ 6 cm</p> <p>N2c Metástasis en ganglios linfáticos bilaterales o contralaterales, de diámetro ≤ 6 cm</p> <p>N3 Metástasis en un ganglio linfático, de diámetro > 6 cm</p>	
<p>Metástasis a distancia (M)</p> <p>Mx Las metástasis a distancia no se pueden valorar</p> <p>M0 No existen metástasis a distancia</p> <p>M1 Metástasis a distancia</p>	
<p>Estadio</p> <p>0 Tis</p> <p>I T1N0M0</p> <p>II T2N0M0</p> <p>III T3N0M0, T1-3N1M0</p> <p>IV Cualquier T N2/3M0, T4N1-3M0, Cualquier T cualquier N M1</p>	

Tabla 6. Estadiaje TNM para Carcinoma palpebral (AJCC) ⁽⁹⁹⁾

T	Tumor primario para Carcinoma palpebral
Tx	El tumor no puede ser evaluado
T0	No evidencia de tumor primario
Tis	Carcinoma in situ
T1	Tumor ≤5 mm; no invasión de tarso o márgen palpebral
T2a	Tumor >5 mm pero <10 mm o invade tarso o margen palpebral
T2b	Tumor >10 mm pero <20 mm o afecta el grosor completo del párpado
T3a	Tumor >20 mm o invasión ocular o estructuras orbitarias; cualquier T con invasión perineural
T3b	La resección tumoral completa requiere enucleación, exanteración o resección ósea
T4	El tumor no es resecable debido a la extensa invasión ocular, orbitaria, estructuras craneofaciales o cerebrales

Tabla 7. Propuesta de definición de CBCIa, incluyendo factores clínicos dependientes del tumor y del paciente ⁽¹⁹⁸⁾

Definición de CBCIa
CBC en estadio ≥T2 o aquel en el que las modalidades de tratamiento actuales, tales como la cirugía y RT se consideren potencialmente contraindicadas debido a factores clínicos dependientes del tumor y/o del paciente (AJCC)
Factores que pueden orientar en la definición de CBCIa
<i>Factores dependientes del tumor</i>
Tamaño tumoral
Localización tumoral
Número de tumores
Subtipo histológico
Probabilidad de que el tratamiento sea satisfactorio
<i>Factores dependientes del paciente</i>
Edad
Estado funcional de dependencia
Influencia del tratamiento en la calidad de vida del paciente
Opinion/elección del paciente
Presencia de genodermatosis
Comorbilidades asociadas

2.5. DEFINICIÓN DEL CBC METASTÁSICO (CBCm)

El CBC metastásico (CBCm) presenta unas tasas de incidencia escasas, que oscilan alrededor del 0,0028%-0,55%, siendo el pronóstico malo, con una alta morbilidad y mortalidad ⁽²⁰⁰⁾ **(Tabla 8)**.

Tabla 8. Criterios diagnósticos de CBCm ⁽²⁰¹⁾.

<i>Criterios diagnósticos de CBC metastásico (CBCm)</i>
1. Tumor primario originado en la epidermis (también perifolicular) 2. Tumor con extensión a distancia, no invasión local 3. Ambos tumores, tanto primario como metastásico, tienen histología de CBC
Deben estar presentes los 3 criterios para establecer el diagnóstico de CBCm

Aquellos tumores de gran tamaño, fenotipo histológico agresivo y especialmente aquellos localizados en cabeza y cuello, son los que tienen mayor probabilidad de producir metástasis, y éstas ocurren con mayor frecuencia en ganglios linfáticos (54%), pulmones (28%), hueso (24%), piel (11%), glándulas salivales (7%) e hígado (4%) ⁽²⁰⁰⁾. La supervivencia global del CBC metastásico está en función del órgano afectado; si únicamente se han producido metástasis en ganglios linfáticos, la tasa de supervivencia global oscila alrededor de 3.6 años; si ya se han producido metástasis vía hematógena, la supervivencia es menor a 1 año ⁽²⁰²⁾.

2.6. TRATAMIENTO DEL CBC

2.6.1. OPCIONES TERAPÉUTICAS PARA EL CBC NO LOCALMENTE AVANZADO (RECOMENDACIONES TERAPÉUTICAS PARA EL CBC)

El objetivo principal del tratamiento del CBC es la erradicación completa del tumor, previniendo o reduciendo las tasas de recurrencia e intentando preservar, en la medida de lo posible, una adecuada funcionalidad y cosmética del área afectada. A la hora de tomar la decisión sobre cual es la actitud terapéutica más adecuada para tratar un determinado tumor, se han de tener en cuenta una serie de factores pronósticos, así como el contexto clínico individual y las preferencias de cada paciente.

Definición de grupos pronósticos

Los grupos pronósticos de riesgo para el CBC se definen de acuerdo a la posibilidad de curación, y se refieren principalmente al riesgo de recurrencia y progresión de un determinado tumor, de manera que ayudan a seleccionar las mejores opciones de tratamiento según el tipo de CBC y el contexto clínico del paciente.

Los grupos pronósticos se establecen en base a una serie de factores obtenidos del análisis de largos estudios retrospectivos, y son los siguientes ⁽²⁰³⁾:

- Tamaño del tumor: Un gran tamaño tumoral confiere mayor riesgo de recurrencia.
- Localización del tumor:
 - Las zonas más alto riesgo de recurrencia incluyen la nariz, áreas periorificiales de cabeza y cuello.
 - Las zonas de riesgo intermedio son la frente, las mejillas, la barbilla, el cuero cabelludo y el cuello.
 - Las zonas de bajo riesgo serían el tronco y las extremidades.
- Definición de los márgenes clínicos: Aquellos tumores mal definidos presentarían mayor tasa de recurrencia.
- Subtipo histológico: Los patrones agresivos como el morfeiforme, infiltrante y metatípico y/o presencia de invasión perineural, presentarían mayor riesgo de recurrencia y de invasión loco-regional.
- El fracaso del tratamiento previo confiere un peor pronóstico; presenta un mayor riesgo de nuevas recidivas tumorales y de invasión locorregional.
- La inmunosupresión también confiere peor pronóstico.

La National Comprehensive Cancer Network (NCCN) establece 2 grupos pronósticos de riesgo (alto y bajo riesgo) (**Tabla 1**), mientras que las guías francesas han definido un tercer grupo adicional de riesgo intermedio (**Tabla 2**).

Tabla 1: Factores de riesgo de recurrencia tumoral (NCCN) ⁽²⁰⁴⁾

FACTOR	ALTO RIESGO	BAJO RIESGO
Localización/tamaño	Area L \geq 20 mm Area M \geq 10 mm Area H \geq 6 mm ₁	Area L <20 mm Area M <10 mm Area H >6 mm ₁
Márgenes tumorales	Mal definidos	Bien definidos
Primario vs recurrente	Recurrente	Primario
Inmunosupresión	(+)	(-)
Subtipo histológico	Patrón agresivo ₂	Superficial, Nodular ₃
Invasión perineural	(+)	(-)

₁ Area L: Tronco y extremidades (excluyendo manos, pies, tobillos, unidades ungueales y genitales).

Area M: Areas malares, frente, cuello, cuero cabelludo, línea mandibular y áreas pretibiales.

Area H: Area centofacial (nariz, barbilla, párpados, cantos interno y externo oculares), pabellón auricular y piel periauricular, genitales, manos, pies, tobillos, unidades ungueales y areola/pezón mamario.

₂ Fenotipo histológico morfeiforme, infiltrante, micronodular y metatípico presente en la mayoría o en una parte del tumor.

₃ Los subtipos histológicos de bajo riesgo incluirían las variantes superficial, nodular y otros patrones como el queratótico, infundibuloquístico y el Fibroepitelioma de Pinkus.

Tabla 2. Factores de riesgo de recurrencia tumoral según las guías francesas ⁽²⁰⁵⁾

BAJO RIESGO	RIESGO INTERMEDIO	ALTO RIESGO
CBC superficial primario	CBC superficial recurrente	Morfeiforme o márgenes mal definidos
CBC nodular primario si <1 cm en área de riesgo intermedio: <2 cm en área de bajo riesgo	CBC nodular primario si: <1 cm en área de alto riesgo >1 cm en área de riesgo intermedio	CBC nodular primario si >1 cm en área de alto riesgo: >2 cm en área de bajo riesgo
Fibroepitelioma de Pinkus		Subtipos histológicos agresivos Tumores recurrentes

De acuerdo a las guías de tratamiento para el CBC de la NCCN, el tratamiento quirúrgico representa la opción más efectiva y eficiente para el manejo de este tumor, sin embargo en algunos casos y dependiendo de varios factores, se pueden considerar otras opciones terapéuticas no quirúrgicas con altas tasas de eficacia a medio-largo plazo.

2.6.1.1. TERAPIAS FARMACOLÓGICAS TÓPICAS: IMIQUIMOD, 5-FLUORACILO E INGENOL MEBUTATO

Las guías de la NCCN del 2012 identificaron las terapias farmacológicas tópicas y la Terapia Fotodinámica (TFD) como “tratamientos superficiales” que deberían ser reservados para el tratamiento del CBC de bajo riesgo o en aquellos pacientes donde la cirugía y/o la radioterapia esté contraindicada, aunque con tasas de curación inferiores a éstas.

Imiquimod 5%

El imiquimod tópico 5% parece ser efectivo en el tratamiento del CBCs primario de pequeño tamaño (Grado de recomendación A, Nivel de Evidencia I) y puede tener un papel en el tratamiento del CBCn primario (Grado de recomendación C, Nivel de Evidencia I) ⁽²⁰³⁾.

El imiquimod es, por un lado, un agonista de los receptores Toll-like 7 y 8 (TLR 7-8) que produce la activación del Factor kappa B nuclear (NFkB), y también un modulador del sistema inmune que induce la producción de determinadas citoquinas proinflamatorias, quimiocinas y otros mediadores de la inflamación que conducen a la activación de células presentadoras de antígeno y otros componentes de la inmunidad innata, de manera que se desencadena una respuesta inmune celular antitumoral. Por otra parte, y de forma independientemente, imiquimod parece interferir con las vías de señalización de los receptores de adenosina e induce la apoptosis de las células tumorales ⁽²⁰⁶⁾. También parece ejercer una función supresora tumoral a través de la inducción de la vía de señalización Notch ⁽²⁰⁷⁾.

Los efectos adversos relacionados con la aplicación de imiquimod son principalmente reacciones inflamatorias locales, con eritema, induración, erosión, ulceración y sensación de picor y ardor. Existe una correlación positiva entre la gravedad de la reacción local y la tasa de respuesta clínica ⁽²⁰⁸⁾. El porcentaje de respuestas completas de CBCs tratados con imiquimod, según los estudios que incluyeron un mayor número de pacientes, oscila del 69 al 91%.

Se realizaron varios ensayos clínicos utilizando diferentes regímenes de tratamiento respecto a concentración y duración, pero su utilidad clínica como tratamiento tópico para el CBC se ha establecido cuando se utiliza 5-7 veces por semana durante 6 semanas ⁽²⁰⁹⁾. Actualmente el régimen de aplicación de 1 vez al día durante 5 días a la semana por 6 semanas, está aprobado por la EMA y FDA para el tratamiento del CBCs <2 cm diámetro, confirmado histológicamente, localizado en cuello, tronco y extremidades en pacientes adultos inmunocompetentes ⁽²¹⁰⁾.

Hay numerosos estudios publicados relativos a la aplicación de imiquimod en el tratamiento del CBCs, y todos ellos muestran tasas de eficacia bastante similares a las 12 semanas de tratamiento y tras un seguimiento de 5 años. En varios ensayos clínicos fase III multicéntricos randomizados, a doble ciego

con imiquimod aplicado de 5-7 días por semana en CBCs, obtuvieron tasas de aclaramiento clínico e histológico a las 12 semanas postratamiento de 73-77% respectivamente, sin diferencias significativas entre ambos regímenes de tratamiento ⁽²¹¹⁾. Sin embargo, más recientemente, en 2 ensayos fase III multicéntricos se obtuvieron tasas de aclaramiento superiores a las 12 semanas de tratamiento con ambos regímenes de aplicación (90 y 94% para regímenes de aplicación de 5-7 veces por semana respectivamente). Sin embargo, ambos estudios registraron unas tasas de eficacia a los 5 años de seguimiento bastante similares (85% y 87% respectivamente) ⁽²¹²⁾. Un metanálisis reciente ha registrado tasas de respuesta completa global del 86.2% a las 12 semanas de tratamiento del CBCs con imiquimod, variando de forma discreta según régimen de aplicación utilizado y diseño del estudio ⁽²¹³⁾. Schon y col, en un estudio que evaluaba la eficacia a 5 años de seguimiento en 182 pacientes con CBCs, demostraron que la probabilidad estimada de éxito global del tratamiento fue 77,9% con el régimen de aplicación de 1 aplicación diaria 5 días a la semana durante 6 semanas. Cuando la mayoría de los pacientes habían completado la visita de seguimiento a las 12 semanas, la probabilidad de éxito global alcanzó el 80.9%, evaluado mediante observación clínica y comprobación histopatológica. Se produjo una mayor tasa de recurrencias en el primer año de seguimiento, lo que apoya la decisión de un seguimiento clínico riguroso y regular al menos durante el primer año de tratamiento ⁽²¹⁴⁾. Otro estudio realizado por Quikck y col a 5 años de seguimiento, mostró una tasa de respuesta completa global del 80.9%, sin observarse recurrencias durante el primera año ⁽²¹⁵⁾.

Respecto al tratamiento del CBCn con imiquimod 5%, no existe tanta evidencia científica publicada. Uno de los estudios más amplios que reclutó a 167 pacientes con tumores en diferentes localizaciones y utilizando diversos regímenes de tratamiento, objetivó tasas de respuesta completa histopatológica de un 76% a las 6 semanas de aplicación en un régimen con imiquimod 5% 1 vez al día durante 12 semanas y del 42% si la aplicación se realizaba 2 veces al día, 3 días por semana durante 10 semanas. Otro estudio que también incluía pacientes con CBCi, mostró tasas de aclaramiento de 56% y 63% tras 5 años de seguimiento, variando según el régimen utilizado ^(216, 217). La principal conclusión de todos éstos estudios es que el imiquimod en crema al 5% representaría un tratamiento de primera línea para el CBCs pero no para el CBCn (donde representaría una elección de segunda línea) y CBCi. Sin embargo, si nos referimos al CBCi, la aplicación de imiquimod podría considerarse en casos seleccionados con intención neoadyuvante y paliativa según la localización y contexto clínico del paciente (múltiples comorbilidades asociadas, limitación funcional importante etc). De hecho, la literatura más reciente propone también el uso de imiquimod en ciertas áreas corporales (cara y especialmente en área periocular), en combinación con otras modalidades no quirúrgicas como la TFD y criocirugía, tanto en lesiones primarias como recurrentes ⁽²¹⁸⁾.

5- Fluoracilo 5% (5-FU)

5- FU 5% parece ser efectivo para el tratamiento del CBCs; (Grado de recomendación A, Nivel de Evidencia I) ⁽²⁰³⁾.

El 5-FU es un antimetabolito que interfiere con la síntesis del ADN. La solución o crema tópica del 5-FU 5% fue aprobado por la FDA para el tratamiento del CBCs cuando no es posible la aplicación de otras opciones terapéuticas. La evidencia científica publicada respecto al uso de 5-FU 5% en el tratamiento de las queratosis actínicas o el CEis es amplia, sin embargo es escasa en relación al tratamiento del CBCs. En un estudio realizado por Gross y col en 29 pacientes con 31 CBCs localizados en el tronco y extremidades, se obtuvo una tasa de aclaramiento completo de las lesiones del 90%, mediante comprobación histopatológica, en un régimen de aplicación de 2 veces al día durante 12 semanas. El tiempo medio hasta la respuesta fue de 10.5 semanas ⁽²¹⁹⁾. Un ensayo reciente que comparaba la eficacia de 5-FU 5% (2 veces al día durante 4 semanas) vs Imiquimod 5% (1 vez al día, 5 días por semana durante 6 semanas) vs TFD (2 sesiones con un intervalo entre ellas de 1 semana) en el CBCs, demostró que la eficacia del 5-FU% no era inferior a la TFD y que por lo tanto podría ser considerada como una opción terapéutica para este tipo de tumor ⁽²²⁰⁾.

Ingenol Mebutato (IM)

En la actualidad, no existe un nivel de evidencia para el tratamiento del CBC con IM en gel 0.05% ⁽²⁰³⁾

El IM es un éster purificado de la planta *Euphorbia peplus* que ha sido utilizado con éxito en el tratamiento de las QA ⁽²²¹⁾. Algunos ensayos clínicos recientes en fase I/II que evaluaban la eficacia del IM en gel 0.05% en el tratamiento del CBCs y CBCn, en régimen de aplicación 1 vez al día durante 3 días consecutivos, han logrado tasas de respuesta completa clínica de un 82% e histológica en un 57% al mes de tratamiento ⁽²²²⁾. En otro estudio reciente fase II que comparaba y estudiaba la eficacia de la aplicación de IM en gel 0.05% según 2 regímenes de tratamiento, 1 vez al día durante 2 días consecutivos vs 1 vez al día en los días 1 y 8 de aplicación, se ha logrado una resolución completa histológica de un 38% y 63% para ambos, respectivamente. Los efectos adversos más frecuentemente observados fueron eritema leve-moderado, descamación y aparición de costras, y dolor en el sitio de tratamiento ⁽²²³⁾.

2.6.1.2. TERAPIA FOTODINÁMICA (TFD)

Uso de TFD en el tratamiento del CBCs (Grado de Recomendación A, Nivel de Evidencia I) y CBCn (Grado de recomendación B, Nivel de evidencia I) ⁽²⁰³⁾.

Conceptualmente la terapia fotodinámica (TFD), es una modalidad terapéutica que se basa en la fotooxidación de diversos tejidos inducida por un fotosensibilizante, que se absorbe selectivamente por determinadas células o tejidos tumorales, de forma que al ser iluminados con una luz de adecuada longitud y en dosis suficiente, estas células resultan destruidas. Es una terapia no invasiva y selectiva ya que el fotosensibilizante es captado únicamente por las células neoplásicas que ocasiona mínimo daño al tejido circundante no tumoral. El término «fotodinámica» fue utilizado por primera vez por Tappeiner en 1904 para describir las reacciones químicas consumidoras de oxígeno inducidas por una fotosensibilización, que se producen en biología. Sin embargo, sería en la década de 1970 cuando Dougherty aplicó con éxito estas reacciones biológicas al tratamiento del cáncer, tanto cutáneo como de otros aparatos y sistemas ⁽²²⁴⁾.

La TFD requiere al menos 3 elementos: fotosensibilizante, luz y oxígeno.

El fotosensibilizante que se usa mayoritariamente en Europa es el 5-metilo-aminolevulinato (MAL) un derivado lipofílico del ALA (que es más hidrofílico), y por tanto penetra mejor en los tejidos, que representa el primer compuesto intermedio en la síntesis de las porfirinas y que es preferentemente convertido en el fotosensibilizante activo, la protoporfirina IX (PpIX), tras ser absorbido por determinadas células o tejidos ⁽²²⁵⁾. Las porfirinas fueron las primeras sustancias utilizadas en TFD, en concreto el derivado de hematoporfirina y su compuesto purificado, el porfímero sódico (Photofrin). El uso de Photofrin está aprobado en algunos países para el tratamiento del cáncer de vejiga, cáncer de pulmón, tanto en fase precoz como de forma paliativa, y en el cáncer obstructivo de esófago. Estos fotosensibilizantes deben ser administrados por vía intravenosa y se acumulan en el estroma vascular del tumor. Su remanencia cutánea así como su lento aclaramiento da lugar a una prolongada fotosensibilidad cutánea que obliga al paciente a una rigurosa fotoprotección durante 4-6 semanas tras su administración ⁽²²⁶⁾.

Las cualidades que debe reunir el fotosensibilizante para la efectividad del tratamiento fotodinámico son: capacidad para penetrar y distribuirse homogéneamente en el tejido a tratar con gran capacidad para generar especies reactivas del oxígeno y radicales libres y tener una vida media corta y rápida eliminación de los tejidos normales. El ALA tiene la ventaja de que es tan efectivo tanto si se administra vía tópica y oral, al contrario que la mayoría de los fotosensibilizantes que requieren administración iv. Otra ventaja es que a las 24-48 h se elimina totalmente de los tejidos ⁽²²⁷⁾.

Para entender la transformación de ALA en PpIX hay que comprender la vía de síntesis del hemo, que se halla presente en las células de mamíferos y bacterias fotosintéticas. El ALA es el primer compuesto

intermedio en la síntesis de las porfirinas y se forma dentro de la mitocondria a partir de glicina y succinil-CoA mediante una reacción catalizada por la enzima ALA-sintasa, que se localiza en la membrana mitocondrial interna y es el principal regulador de la vía. El ALA difunde entonces al citosol y tras varios pasos enzimáticos se transforma en coproporfirinógeno III, el cual entra de nuevo en la mitocondria donde es oxidado para formar protoporfirinógeno IX. Éste al perder 6 hidrógenos se transforma en PpIX, lista para la incorporación de un ion ferroso, reacción catalizada por la ferroquelatasa, completándose así la síntesis del grupo hemo ⁽²²⁸⁾.

En general, la fuente de luz utilizada para TFD debe ser adecuada a los parámetros de excitabilidad del fotosensibilizante, y tener una potencia adecuada para ser capaz de penetrar en el tejido a tratar. La penetración de la luz a través del espesor tumoral depende de las características del tejido que hay que tratar y de la longitud de onda de la misma, teniendo en cuenta también el grado de dispersión en el mismo tejido (a mayor longitud de onda, mayor penetración tisular). Así, longitudes de onda inferiores a 600 nm son absorbidas mayormente por la hemoglobina, mientras que el agua absorbe longitudes de onda superiores a 1.200 nm, por lo que la ventana terapéutica de la TF en las lesiones cutáneas está entre 600 y 1.200 nm. Por otro lado, tanto la dispersión como la absorción óptica son diferentes para cada tejido. En general, la penetración de la luz es alrededor de 1-2 mm para una longitud de onda de 400-500 nm, entre 5-10 mm para 630 nm y aproximadamente el doble para longitudes de onda entre 700-850 nm. Sin embargo, debido a la alta dispersión de la luz en la piel, la penetración de una luz de 630 nm para el tratamiento de lesiones cutáneas es de 1-3 mm ⁽²²⁹⁾. Después de la aplicación tópica de aminolevulinato de metilo, se acumularán porfirinas a nivel intracelular en las lesiones cutáneas tratadas, que son los compuestos fotoactivos. Tras su activación con luz en presencia de oxígeno, estos compuestos se transforman en moléculas electrónicamente inestables, que interactúan con diversas moléculas celulares generando radicales libres de oxígeno (ROS) conduciendo a la destrucción tisular. Hay estudios que concluyen que el fraccionamiento de la iluminación puede mejorar el resultado de la terapia ya que permite la reoxigenación de los tejidos durante los “períodos de oscuridad”. Durante la TFD el fotosensibilizante es fotodestruido durante la exposición a la luz, proceso denominado fotoblanqueamiento.

La destrucción tisular se produce a varios niveles: Daño directo sobre las dianas celulares, regulación de la angiogénesis por daño directo al endotelio vascular que genera anoxia y privación de riego sanguíneo al tumor, regulación de la matriz extracelular con activación de diferentes metaloproteinasas que inhibirán el crecimiento tumoral, y mediante un efecto inmunológico ya que se activarán diversas células inflamatorias y se generará una reacción inmune específica antitumoral. El procedimiento del tratamiento consiste en: 1) raspado de la lesión eliminando las áreas de hiperqueratosis, 2) aplicación en cura oclusiva del MAL sobre la lesión durante 3 horas; 3) limpiar el área con suero fisiológico y exposición a una luz roja (630 nm) administrando una dosis de 37 J/cm², siendo una de las fuentes de luz más empleadas la lámpara de diodos. La respuesta al tratamiento se evalúa clínicamente a los 1-3 meses ⁽²²⁴⁾.

Los efectos adversos locales más frecuentes y relevante es la sensación de ardor y dolor durante la exposición a la luz. Estas molestias comienzan unos minutos tras el inicio de la misma y desaparecen al poco de su finalización. Su aparición depende de la zona que se trata: el cuero cabelludo, la nariz o los pabellones auriculares son zonas en las que los pacientes refieren más dolor, pero existe una gran variabilidad individual. Se piensa que la causa podría atribuirse a una despolarización fototóxica en las fibras nociceptivas aferentes. Entre los métodos para aliviar este dolor están la aplicación de ventiladores o agua fría durante la iluminación, el fraccionamiento de la dosis de luz, lo que a su vez quizás aumente la efectividad del tratamiento ya que permite la reoxigenación de los tejidos durante el tiempo de oscuridad, o la administración de algún analgésico oral o anestesia local previa a la iluminación⁽²³⁰⁾. La aparición de eritema y un moderado edema son también frecuentes tras la iluminación y no suelen requerir tratamiento. En las lesiones tratadas suelen aparecer algunas costras o descamación seguido de curación entre las 2 y 8 semanas siguientes. La aparición de ampollas, intensa necrosis o ulceración son excepcionales y pueden ser signos de una sobredosis de luz. También puede ocurrir una fotosensibilidad cutánea local tras la TFD con ALA o MAL, pero tan sólo en la zona de aplicación de la crema y dura 24-48 h, por lo que se recomienda a los pacientes llevar la zona tratada cubierta con un apósito durante ese tiempo. También puede ocurrir hipo-hiperpigmentación en el área tratada ⁽²³¹⁾.

El CBCs y CBCn son indicaciones terapéuticas aprobadas para el uso de TFD por la EMA y en otros países como Australia, Nueva Zelanda o Canadá, no así en los EEUU, donde se utiliza fuera de indicación en aquellos casos no tributarios de cirugía, RDT u otras terapias farmacológicas tópicas. Representa una adecuada modalidad terapéutica y con buenos resultados cosméticos para casos concretos de CBC múltiples (por ej en SG) y lesiones de gran tamaño, en pacientes que reciben anticoagulantes e inmunodeprimidos. En general, se acepta que la eficacia es mayor en aquellas lesiones más craneales, y menos eficaz en las extremidades inferiores por la menor presión de oxígeno (PO₂) ⁽²⁰³⁾.

Al revisar los estudios sobre el empleo de TFD en el tratamiento del CBC, nos encontramos que no existe una metodología común y uniforme. Hay trabajos donde emplean ALA y otros MAL, también son diferentes las fuentes empleadas y las formas de aplicar la luz, y también existen diferencias en cuanto a la manera de evaluar la respuesta. A pesar de esto, existe consenso en recomendar el uso de 2 sesiones de TFD con ALA o MAL con intervalo de 1 semana, para el tratamiento de CBC. En general, los datos publicados señalan una mayor eficacia de TFD para el tratamiento de CBCs comparado con el CBCn, con menor tasa de recurrencias para el primero ⁽²³²⁾.

Las cifras de aclaramiento clínico global con un tratamiento protocolizado de TFD-MAL (2 sesiones con intervalo entre ellas de 1 semana, seguido de un tercer ciclo a los 3 meses) para el CBCs, oscilan entre un 92-97% con tasas de recurrencia del 9% al año de tratamiento y del 13-22% a los 5 años, según los estudios consultados ⁽²³³⁾. Respecto al CBCn, la tasa de respuesta global oscila entre un 20-94% según las series, con recurrencia de un 14-33% a los 5 años. Cifras similares se han obtenido con TFD-ALA en una revisión de 12 estudios, con tasas de aclaramiento global del 87% para CBCs en

comparación con un 53% para CBCn. Sin embargo, existe el sesgo en algunos estudios de emplear un afeitado-curetaje previo a la sesión de TFD, en el abordaje del CBCn, por lo que éstas tasas de eficacia podrían ser dudosas ⁽²³⁴⁻²³⁶⁾. Si comparamos TFD vs crioterapia para CBCs y CBCn, Wang y col ⁽²³⁷⁾ obtuvieron un aclaramiento inicial a los 3 meses del 97% vs 95% respectivamente, y del 75% a los 5 años. Szeimies y col ⁽²³⁸⁾ obtuvieron una eficacia equivalente entre MAL-PDT vs cirugía para CBCs (92% vs 99% al año de seguimiento con una tasa de recidiva al año del 9% vs 0% respectivamente), pero inferior para CBCn (aclaramiento inicial del 92% vs 98% con tasas de recurrencia del 14% y 4% a los 5 años respectivamente), pero con un resultado cosmético superior en el grupo de la TFD.

Al revisar los trabajos que emplean TFD e imiquimod en el tratamiento del CBCs, se obtienen cifras de eficacia global inicial similares con tasas de recurrencia al año y a los 5 años muy parecidas. Desde el punto de vista cosmético, la TFD presenta menos efectos adversos locales, por lo que la elección debería basarse en la localización, contexto clínico y preferencia del paciente. En los casos de CBCn, y como se ha comentado previamente, los datos de eficacia están a menudo sesgados por el uso de una pequeña cirugía previa a la aplicación de TFD o imiquimod (afeitado-curetaje), pero las cifras son bastante similares entre ambos tratamientos ⁽²³²⁾.

En general, según la última actualización de las guías europeas, la TFD es una opción terapéutica recomendada de primera elección para el tratamiento del CBCs primario y de segunda elección para el CBCn; en el caso de lesiones tumorales infiltrantes, su uso podría reservarse para determinadas localizaciones (por ej área periocular) y contextos clínicos complejos, con intención paliativa y/o neoadyuvante ⁽²³⁹⁾.

2.6.1.3. TRATAMIENTO QUIRÚRGICO

Crioterapia

Buena opción terapéutica para el CBC de bajo riesgo y de un determinado tamaño tumoral (Grado de recomendación A, Nivel de Evidencia II) ⁽²⁰³⁾.

El concepto básico de la crioterapia se basa en la inducción de necrosis selectiva tisular mediante el uso de materiales criogénicos. Como elemento criogénico se utiliza el nitrógeno líquido a temperatura fría extrema de -60/70°C que logra la destrucción tumoral y de parte del tejido sano circundante. En general se recomienda la aplicación 2 tandas/ciclos de congelación de aproximadamente 5 segundos cada uno, con intervalo entre ellos de varios minutos para el tratamiento de pequeños CBCs o incluso de CBCn seleccionados. La herida o lesión resultante cura por lo general con buenos resultados cosméticos, pudiendo dejar una hipo-hiperpigmentación residual. Las tasas de recurrencia varían según los estudios consultados, pero oscilan entre un 8-40% a los 5 años ⁽²⁴⁰⁻²⁴³⁾.

Láser ablativo de dióxido de carbono (Laser CO2)

Opción terapéutica que puede ser efectiva en casos seleccionados de CBC de bajo riesgo (Grado de recomendación C, Nivel de evidencia III) ⁽²⁰³⁾.

Es una modalidad poco utilizada en el tratamiento del CBC. Es una técnica poco cruenta, cuya efectividad y resultados cosméticos postoperatorios dependen fundamentalmente de la experiencia del médico que lo practica, de manera que esto ofrece una gran variabilidad en las tasas de recurrencia tumorales en los estudios consultados ⁽²⁴⁴⁾.

Curetaje

Buena opción terapéutica para casos seleccionados de CBC de bajo riesgo; (Grado de recomendación A, Nivel de evidencia II) ⁽²⁰³⁾.

El curetaje consiste en el afeitado de la gran mayoría del tumor seguido del raspado repetido y en múltiples direcciones del lecho quirúrgico resultante utilizando un instrumento denominado cureta, más la electrocoagulación final del lecho quirúrgico. Esta técnica es particularmente útil en tumores friables pero no en aquellos que estén rodeados de un estroma muy fibroso. De ésta manera, podría emplearse en el tratamiento de determinados CBCs y CBCn pero no cuando nos encontremos ante subtipos histológicos agresivos como el morfeiforme, infiltrante o micronodular ⁽²⁴⁵⁾. Las tasas de recurrencia a los 5 años oscilan entre un 3.3% para CBC localizados en áreas de bajo riesgo a un 18.8% para áreas de alto riesgo. Las cifras son superiores para CBC recurrentes (60%) ⁽²⁴⁶⁾.

La principal desventaja que presentan éstas 3 modalidades quirúrgicas es la ausencia de control histopatológico (al menos total en el caso del curetaje) de resolución completa tumoral.

Exéresis quirúrgica simple

Representa una buena opción terapéutica para el tratamiento del CBC primario (Grado de recomendación A, Nivel de evidencia I) ⁽²⁰³⁾.

La extirpación quirúrgica simple del tumor con un margen variable de piel sana circundante es el tratamiento estándar para el CBC. La definición de los márgenes de seguridad varía según localización anatómica, subtipo histológico, si se trata de un tumor primario vs recurrente y del contexto clínico del paciente. Un metanálisis reciente que examinó 89 artículos con referencia al tratamiento quirúrgico exéresis simple de 16.066 lesiones estableció tasas de recurrencia de 0.39, 1.62, 2.56 y 3.96% para márgenes quirúrgicos de 5, 4, 3 y 2 mm, respectivamente. Estos autores concluyeron que, para lesiones ≤ 2 cm era suficiente realizar un margen quirúrgico de 3 mm para lograr tasas de curación del 95%. Además revelaron que el hallazgo de un margen quirúrgico positivo se asociaba con una tasa media de recurrencia del 27% ⁽²⁴⁷⁾.

A la hora de realizar la exéresis, la incisión debería realizarse siguiendo una dirección vertical y alcanzando planos profundos en función del área intervenida (tejido subcutáneo, fascia, pericondrio o periostio). El proceso histopatológico de la pieza se efectúa realizando cortes verticales de la misma, y la principal limitación es que se examina menos del 1% de los márgenes tisulares, de manera que en algunos casos de tumores infiltrantes que presenten un patrón de crecimiento lateral y profundo irregular, no existe una certeza absoluta sobre la excisión completa del tumor ⁽²⁴⁸⁾. Globalmente, las tasas de recurrencia tras la exéresis simple de un CBC primario varían entre un 2-8% a los 5 años de la cirugía. Un tercio de las recidivas suelen aparecer en el primer año, el 50% entre los 2-5 años y un 18% pueden presentarse más allá del quinto año ⁽²⁴⁹⁾. En los casos de CBC recurrentes, las tasas son superiores, y oscilan entre un 11.6 a 17.4% a los 5 años. Mosterd y col ⁽²⁵⁰⁾ compararon la eficacia y riesgo de recurrencia de la escisión quirúrgica simple vs cirugía micrográfica de Mohs (CMM) en 2 grupos de pacientes con CBC. Obtuvieron una tasa de recurrencia a los 5 años significativamente superior para aquellos CBC recidivados tratados mediante exéresis simple vs CMM (12.1% vs 2.4% respectivamente); sin embargo no encontraron diferencias significativas respecto a las cifras de recurrencia en el tratamiento de CBC primarios (4.2% vs 2.1% respectivamente).

Cirugía micrográfica de Mohs (CMM)

(Representa una buena opción terapéutica para el tratamiento del CBC primario y recidivado de alto riesgo; Grado de recomendación A, Nivel de evidencia I) ⁽²⁰³⁾.

La CMM es una técnica quirúrgica diseñada para el tratamiento específico de determinados tipos de cáncer cutáneo y en determinadas localizaciones corporales. Esta técnica se basa principalmente en 2 fundamentos: la confirmación microscópica intraoperatoria de los márgenes quirúrgicos de la pieza tumoral extirpada, adecuadamente orientada y teñida, de manera que el cirujano puede valorar la localización precisa de focos tumorales (en los casos de persistencia tumoral), por lo que ésto hace que sea una modalidad quirúrgica que permite la exéresis completa tumoral en un único procedimiento llevado a cabo en una o varias etapas ⁽²⁵¹⁾.

La CMM presenta como ventajas principales:

- Lograr la máxima eficacia terapéutica (próxima al 100%) en la exéresis y curación completa del tumor, con el objetivo de minimizar la tasa de recurrencia y/o persistencia tumoral. Por ello, ésta técnica estaría principalmente indicada en aquellos tumores cutáneos mal delimitados primarios/recidivados/persistentes, con características histológicas agresivas o aquellos localizados en áreas anatómicas denominadas de “alto riesgo” en las que sería más frecuente la recurrencia tumoral y/o metástasis;
- Preservar la mayor cantidad de tejido sano posible, sobre todo en aquellas áreas anatómicas donde es fundamental el mantenimiento de una adecuada funcionalidad y cosmesis.

La experiencia publicada en la literatura relativa a esta técnica, incluyendo series largas de casos y con un amplio período de seguimiento, procede fundamentalmente de EEUU y Australia, y de forma más exigüa pero incipiente, de otros centros a nivel europeo y latinoamericano. En un intento de unificar criterios terapéuticos, destaca la publicación realizada en octubre del 2012 por la Academia Americana de Dermatología (AAD), el Colegio Americano de CMM y la Sociedad Americana de cirugía dermatológica en la que establecen el uso y la denominación de criterios “apropiados”, “inciertos” o “inapropiados” para 270 escenarios diferentes en los que la CMM estaría indicada según el tipo de tumor y características del paciente. Estos criterios fueron sintetizados a partir de una revisión sistemática de la medicina basada en la evidencia, la práctica clínica y la opinión de múltiples dermatólogos especializados ⁽²⁵²⁾. Sin embargo, el empleo de la CMM en EEUU es menos restrictivo que en Europa y por ello, los estudios y resultados pueden ser poco aplicables a nuestro medio, donde en muchas ocasiones, se intervienen tumores más grandes o complejos.

Las principales circunstancias que debemos tener en cuenta a la hora de indicar correctamente una CMM serían las siguientes:

- Localización anatómica tumoral: Principalmente se realiza en aquellos tumores localizados en la región facial, pero también en otras áreas donde es imperativo conservar la funcionalidad/estética local como por ejemplo la unidad ungueal, áreas digital, genital y perianal.
- Características inherentes al tumor:
 - Tipo/subtipo histológico
 - Morfología y tamaño tumoral/definición de márgenes
 - Nivel de invasión cutánea
 - Si se trata de un tumor primario/persistente/recurrente
- Aquellas relacionadas con el contexto clínico del paciente:
 - Estado inmunitario.
 - Existencia de pluripatología.
 - Diagnóstico de síndromes genéticos con alto riesgo de desarrollo de tumores cutáneos múltiples.
 - Presencia de tumores sobre piel previamente irradiada o úlceras crónicas.

Desde el punto de vista epidemiológico, si revisamos los datos de las mayores series poblacionales como son las de EEUU, Australia, Reino Unido y Países Bajos, y más recientemente la serie española, observamos que el tumor mayoritariamente tratado mediante CMM es el CBC, que la localización mayoritaria es la nariz, que el tamaño medio tumoral prequirúrgico es de aproximadamente 2 cm de diámetro, que la indicación principal para su realización es la presentación como tumor primario y que el antecedente mayoritariamente relacionado con una recidiva tumoral es una exéresis quirúrgica simple previa ^(9, 253).

Teniendo en cuenta las estadísticas de varios estudios amplios retrospectivos, la tasa de curación global para el CBC tratado mediante CMM es de un 93-98% para tumores primarios y de un 93-98% para tumores recidivados, a los 3 y 5 años de seguimiento, respectivamente ^(254, 255). Algunos estudios

basados en largas series de tratamiento mediante CMM de CBC en localizaciones específicas (tales como el área auricular y periocular) han mostrado cifras similares ⁽²⁵⁶⁾. 2 amplios estudios prospectivos australianos informaron de una tasa global de curación del 100% para tumores primarios y del 92.2% para tumores recurrentes del área periocular ⁽²⁵⁸⁾.

Mosterd K y col ⁽²⁵⁰⁾ compararon la eficacia y riesgo de recurrencia de la CMM vs exéresis simple en una serie de 408 CBC primarios y 204 CBC recidivados. Los autores no obtuvieron diferencias estadísticamente significativas respecto a la tasa de recurrencias entre tumores primarios vs recidivados por lo que concluyeron que la CMM podría ser eficiente desde el punto de vista coste-efectividad para tumores recurrentes pero no para tumores primarios. Sin embargo, en el diseño del estudio existía un claro sesgo de selección, ya que se intervinieron mediante CMM la gran mayoría de los pacientes con subtipos histológicos más agresivos. Para otros autores, la CMM no genera mayor coste que la cirugía convencional, al menos en pacientes con CBC de alto riesgo y localización facial ⁽²⁵⁹⁾. Un trabajo nacional publicado recientemente que investigaba el índice de recurrencia de CBC en 489 pacientes a los que se practicó CMM para el tratamiento de 534 CBC entre abril de 1999 y diciembre de 2011, obtuvo como resultados una tasa de recurrencia menor tras CMM realizadas para CBC primarios (1,2% [3/256]) en comparación con el 10.4% (32/278) de CMM realizadas para CBC recidivados. En un análisis multivariante, el hecho de haber recibido un único tratamiento previo ($p = 0.018$, hazard ratio [HR] 4,68 con un 95% intervalo de confianza [IC] 1,30 a 16,79), múltiples tratamientos previos ($p = 0,013$, HR CI 2,72 [95% 1,24 a 5,96]), y la cicatrización por segunda intención ($p = 0,041$, HR CI 2,88 [95% 1,04-7,97]) fueron factores pronósticos de recurrencia de CBC independientes tras CMM ⁽²⁶⁰⁾.

Manejo del CBC que ha sido extirpado de forma incompleta (márgenes quirúrgicos afectados).

Los tumores que han sido extirpados de forma incompleta, especialmente aquellos CBC clasificados como de alto riesgo o las exéresis que muestran afectación del margen profundo, presentan un alto riesgo de recurrencia. La recurrencia tumoral tras una exéresis simple incompleta se ha estimado alrededor del 26-41% según las series consultadas, siendo mayor en tumores con subtipo histológico agresivo, especialmente el morfeiforme. El riesgo de sucesivas recurrencias tras una primera recidiva tumoral puede superar el 50%, especialmente cuando ambos márgenes, laterales y profundos, están afectados ⁽²⁶¹⁾.

En el abordaje de todos éstos casos, debería considerarse la realización de una nueva intervención quirúrgica, preferiblemente mediante CMM (sobre todo en determinadas localizaciones como la cara), o exéresis quirúrgica con márgenes adecuados, aunque en casos seleccionados de contextos clínicos muy complejos, podría tomarse la decisión de realizar un seguimiento clínico regular y reintervenir quirúrgicamente si hubiera una recidiva tumoral. Aquellos tumores cuya pieza de exéresis simple muestra márgenes quirúrgicos muy próximos a la masa tumoral deberían considerarse como lesiones extirpadas de forma incompleta y ser manejadas como tales ⁽²⁶²⁾.

2.6.1.4. RADIOTERAPIA (RT)

Se considera una buena opción terapéutica para el tratamiento de algunos CBC primarios y recurrentes, a excepción de aquellos CBC recidivados tras RT (Grado de recomendación A, Nivel de evidencia I) ⁽²⁰³⁾.

La RT representa una forma de radiación ionizante y es una modalidad de tratamiento eficaz, en términos de control local de la enfermedad, de muchas formas clinicopatológicas de CBC. Antes de su aplicación, se requiere de confirmación histológica previa. Utiliza rayos X de diferente energía según el grado de penetración que queramos alcanzar dependiendo del grado de infiltración del tumor que queramos tratar. La interacción de las radiaciones ionizantes con los seres vivos da lugar a un depósito de energía, que se traduce en la aparición de radicales libres. Estos, de gran actividad química, son los responsables de los efectos biológicos que conducirán a la destrucción celular. El mecanismo primario por el cual las radiaciones ionizantes producen muerte celular es el daño al ADN, que da lugar a la pérdida o cambio de una base, rotura de los enlaces de hidrógeno que unen las dos cadenas de la molécula de ADN o rotura simple o doble de las cadenas de ADN. Todas estas alteraciones no conducirán siempre a una lesión celular, ya que gran parte de los cambios se reparan, y otros ocurren en zonas de la cadena de ADN que no se replican ni tienen importancia en la síntesis de proteínas. Finalmente, otros provocarán una lesión celular que afectará a la propia célula o a su descendencia y se traducirá en el control tumoral (respuesta completa, parcial o estabilización).

A pesar de que las lesiones radioinducidas más importantes ocurren a nivel del ADN y de los cromosomas, las radiaciones provocan también lesiones en otros componentes celulares. Se produce alteración en la permeabilidad de la membrana celular, en la actividad de las enzimas, cambio en la estructura de las proteínas, entre otros. Las altas dosis de radiación causan la muerte inmediata por fallo mitocondrial y de la cadena de fosforilación oxidativa. La radiación afecta más a las células con actividad mitótica, indiferenciadas y que tienen un gran potencial cariocinético, es decir, muchas divisiones celulares (mayor radiosensibilidad). La mayoría de las neoplasias sometidas a radioterapia radical no desaparece de forma rápida al final del tratamiento. Una valoración de la respuesta definitiva obtenida antes de los tres meses es prematura ya que la radiación afecta a muchas células impidiendo, de forma irreversible, su capacidad mitótica, a veces incluso tras dos o tres ciclos celulares, pero no provoca la muerte inmediata.

Podemos diferenciar los efectos adversos del tratamiento en tempranos o agudos (hasta 6 meses después de concluida la irradiación) y tardíos o crónicos (a partir de los 6 meses tras finalizar el tratamiento radioterápico).

Entre los efectos tempranos destacan el eritema, edema y necrosis. Los efectos tardíos incluyen atrofia, esclerosis cutánea, cambios de pigmentación, alopecia, telangiectasias, ulceración o necrosis ⁽²⁶³⁾.

Además, la RT tiene propiedades cancerígenas a largo plazo que pueden favorecer el desarrollo de carcinomas secundarios, por lo que debería evitarse en el tratamiento de CBC en pacientes jóvenes y está contraindicada en pacientes con síndromes genéticos que predisponen al desarrollo de cáncer cutáneo, como el SG y XP y en determinadas enfermedades del tejido conectivo como la esclerodermia. Tampoco es recomendable su aplicación en determinadas localizaciones como área periocular, auricular, dorso manos-pies y articulaciones (por ser zonas de elevada movilidad), y genitales. La administración de la RT en dosis fraccionadas permite aumentar la eficacia de ésta y ofrece mejores resultados cosméticos a largo plazo ⁽²⁶⁴⁾. Un estudio retrospectivo en 148 pacientes (64 mujeres / 84 hombres, con una media de edad de 69 años) con 175 BCC de diferentes subtipos histológicos (103 nodular, 25 superficial y 47 esclerosante) tratados con RT, obtuvieron tasas globales de recurrencia a los 5 años del 15,8% (8,2% para CBCn, 26,1% para el CBCs y el 27,7% para CBCi). El 86.4% de todas las recidivas se presentaron dentro de los tres primeros años de seguimiento ⁽²⁶⁵⁾. Uno de los pocos estudios que han comparado la eficacia de la cirugía vs RT en el tratamiento del CBC, establece que la cirugía sería preferible a la RT en el tratamiento de aquellos CBC <4 cm localizados en la cara, de acuerdo a las tasas de recurrencia obtenidas del seguimiento a largo plazo, y que serían del 0.7% para la cirugía vs 7.25% para la RT ⁽²⁶⁶⁾. En líneas generales, la RT (con márgenes de seguridad de aplicación entre 5-10 mm) estaría indicada como primera línea terapéutica en el tratamiento de aquellos CBC donde la cirugía no fuera posible por estar contraindicada o por negativa/decisión del paciente, o en el caso de CBC recurrentes tras una exéresis quirúrgica completa (no en CBC recidivados tras RT previa). También podría utilizarse como tratamiento adyuvante para lograr la resolución completa del tumor en casos de tumores extirpados quirúrgicamente de forma incompleta o para minimizar las tasas de recurrencia en determinados CBC de alto riesgo tratados previamente mediante exéresis quirúrgica con márgenes negativos **(Tabla 3)**. No sería una buena opción terapéutica para el tratamiento de aquellos tumores con invasión ósea y/o cartilaginosa por el riesgo de osteo/condronecrosis, y debería utilizarse con precaución en pacientes con enfermedades del tejido conectivo como esclerodermia o lupus eritematoso ⁽²⁶⁷⁾.

Tabla 3. Principios de RT en el CCNM ⁽²⁰⁴⁾.

TAMAÑO TUMORAL	MARGENES DE SEGURIDAD	DOSIS Y FRACCIONES EMPLEADAS
< 2 cm	1-1.5 cm	64 Gy en 32 fracciones durante 6 semanas 55 Gy en 20 fracciones durante 4 semanas 50 Gy en 15 fracciones durante 3 semanas 35 Gy en 5 fracciones durante 5 días
≥ 2 cm	1.5-2 cm	66 Gy en 33 fracciones durante 6 semanas 55 Gy en 20 fracciones durante 4 semanas
Tratamiento adyuvante postoperatorio		50 Gy en 20 fracciones durante 4 semanas 60 Gy en 30 fracciones durante 6 semanas

En resumen, para CBC primarios T1 y T2a, el tratamiento de elección es la cirugía con márgenes de seguridad adecuados al tamaño tumoral, localización y subtipo histológico. La radioterapia representa un tratamiento de segunda elección si la cirugía estuviera contraindicada y/o fuera inapropiada. En caso de tumores persistentes y/o recurrentes, incluidas >1 recurrencia, el tratamiento de primera elección es la cirugía mediante exéresis simple con márgenes adecuados y/o CMM. La radioterapia podría considerarse en pacientes mayores de 70 años y/o en casos en los que la cirugía resultara inapropiada por irresecabilidad/inoperabilidad tumoral.

Tabla 4. Recomendaciones terapéuticas basadas en la evidencia para el tratamiento del CBC ⁽²⁰³⁾.

<p>CBC primario</p> <p><i>1. Cirugía</i></p> <p>La excisión quirúrgica es un buen tratamiento para el CBC primario (Grado de recomendación A; Calidad evidencia I)</p> <p>CMM es un buen tratamiento para el CBC de alto riesgo (Grado de recomendación A; Calidad evidencia I)</p> <p><i>2. Tratamientos ablativos</i></p> <p><u>Curetaje</u>: Buen tratamiento para CBC bajo riesgo (Grado de recomendación A; Calidad evidencia II)</p> <p><u>Crioterapia</u>: Buen tratamiento para CBC bajo riesgo (Grado de recomendación A; Calidad evidencia II)</p> <p><u>Láser CO2</u>: Puede ser efectivo en el tratamiento de CBC bajo riesgo (Grado de recomendación C; Calidad evidencia III)</p> <p><i>3. Tratamiento médico tópico</i></p> <p><u>5-FU 5%</u>: Parece ser efectivo en el tratamiento del CBCs (Grado de recomendación A; Calidad evidencia I)</p> <p><u>Imiquimod</u>: Parece ser efectivo en el tratamiento del CBCs (Grado de recomendación A; Calidad evidencia I) y puede tener un papel en el tratamiento del CBCn (Grado de recomendación C; Calidad evidencia I)</p> <p><u>Ingenol Mebutato</u>: No existe actualmente grado de recomendación o Calidad de evidencia</p> <p><u>Retinoides tópicos</u>: No existe actualmente grado de recomendación o Calidad de evidencia</p> <p><i>4. Terapia Fotodinámica</i></p> <p>Parece ser efectiva en el tratamiento del CBCs (Grado de recomendación A; Calidad de evidencia I)</p> <p>Parece ser efectiva en el tratamiento del CBCs (Grado de recomendación B; Calidad de evidencia I)</p> <p><i>5. Radioterapia</i></p> <p>Es un buen tratamiento para determinados CBC primarios (Grado de recomendación A; Calidad evidencia I)</p>
<p>CBC recidivado y/o extirpado de forma incompleta</p> <p><i>1. Cirugía</i></p> <p>Los tumores que han sido extirpados de forma incompleta, especialmente aquellos CBC de alto riesgo y/o con afectación del margen profundo deberían someterse a una nueva cirugía (Grado de recomendación A; Calidad de evidencia II)</p> <p>CMM es un buen tratamiento para CBC alto riesgo recurrencia (Grado de recomendación A; Calidad evidencia I)</p> <p><i>2. Radioterapia</i></p> <p>Es un buen tratamiento para CBC recidivados, excepto para aquellos que han sido tratados de forma primaria con radioterapia (Grado de recomendación A; Calidad de evidencia I)</p>
<p>CBC localmente avanzado y/o metastásico</p> <p><i>1. Quimioterapia</i>: No existe un nivel de evidencia que apoye el empleo de quimioterapia en el tratamiento del CBCla (Grado de recomendación C; Calidad de evidencia IV)</p> <p><i>2. Agentes sistémicos anti-Smo</i> (Grado de recomendación A; Calidad de evidencia II)</p>

2.6.2. TRATAMIENTO DEL CBCIa Y CBCm

Hasta el desarrollo incipiente de las nuevas moléculas diana específicas, las modalidades terapéuticas disponibles para el manejo de los casos de CBCIa y CBCm consistían en el empleo, casi siempre combinado, de la cirugía, RT y diversos agentes quimioterápicos. Debido a la escasa casuística de este tipo de tumores, las guías terapéuticas para su manejo estaban orientadas en base a los pocos ensayos clínicos y series cortas de casos publicadas en la literatura.

2.6.2.1. TRATAMIENTO QUIRÚRGICO

En relación al tratamiento quirúrgico del CBCIa, la decisión debe basarse principalmente en la extensión locorregional de la enfermedad, evaluada mediante exploración física y pruebas de imagen, que así mismo condicionará la complejidad en la reconstrucción del defecto resultante, y la experiencia/habilidad del cirujano responsable. La evolución de las técnicas de reconstrucción de la base de cráneo, el perfeccionamiento de la cirugía microvascular y el empleo de técnicas de transferencia de tejido libre microneurovascular, han posibilitado e implementado unos buenos resultados estéticos y funcionales. Sin embargo, en determinadas ocasiones, la cirugía se considera inapropiada, como en casos de invasión de determinadas estructuras anatómicas como el área orbitaria, estructuras meníngeas, óseas y tejido cerebral en profundidad, que dificultarían el abordaje quirúrgico, o el requerimiento de intervenciones que ocasionarían importante morbilidad y/o desfiguración como la amputación auricular/ocular/nasal, limitación funcional de la boca o destrucción irreparable de un área extensa facial ^(267, 198).

2.6.2.2. RT

Respecto al tratamiento mediante RT, en general se utilizan dosis más altas si la indicación se realiza como primera línea terapéutica, que si es como terapia adyuvante y teniendo en cuenta la extensión en profundidad de la enfermedad, ya que, aunque es una técnica que intenta preservar la integridad del área afectada, la afectación de determinadas estructuras óseas, nerviosas, musculares y viscerales, pueden sobrepasar el alcance de la radiación ⁽¹⁹⁵⁾.

2.6.2.3. QUIMIOTERAPIA CLÁSICA

En relación a la quimioterapia, y más concretamente en los casos de CBCm, el tratamiento administrado estaba basado en la combinación de varios regímenes quimioterápicos, que incluían el uso sistémico de platino, 5-FU, vincristina, etopóxido, bleomicina, metotrexato (MTX), ciclofosfamida y doxorubicina, con resultados variables o, si ésto no fuera posible por la existencia de comorbilidades asociadas o efectos adversos, se aplicaba tratamiento paliativo y de soporte. La evidencia inicial de que este tipo de tumores podrían responder a la quimioterapia citotóxica clásica, se origino tras observaciones en pacientes que estaban siendo tratados por CE de cabeza y cuello, ya que algunos presentaban de

forma concomitante CBC incidentales, evidenciándose regresión de éstos durante el/los ciclo/s de QT. Algunos de los fármacos utilizados en etapas iniciales fueron MTX, vincristina y bleomicina con pobre respuesta. Otros quimioterápicos utilizados posteriormente fueron 5-FU, ciclofosfamida y dactinomicina sin buenos resultados. El primer artículo que evidenció una respuesta satisfactoria para el tratamiento de CBC metastásico con cisplatino fue publicado en 1978, objetivando una respuesta parcial y otra completa ⁽²⁶⁹⁾. Posteriormente, otros autores mostraron buenas respuestas con ésta terapia sola o en combinación con doxorubicina, ciclofosfamida y paclitaxel ⁽²⁶⁸⁻²⁷²⁾. Como acabamos de comentar, los datos disponibles sobre la terapia con platino y sus derivados arrojan buenos resultados, sin embargo, la eficacia real de estos fármacos no está clara, ya que no existen estudios rigurosos prospectivos de casos que evalúen las tasas de respuesta. Una revisión de 53 casos publicados informó de una tasa de respuesta global objetiva del 83% y una tasa de respuesta completa del 37% en los pacientes tratados con derivados del platino (carboplatino o cisplatino). La mediana de tiempo hasta la progresión tumoral fue de 18 meses ⁽²⁷³⁾. Como se ha comentado previamente, una triple expresión de EGFR/HER2/HER3 se ve en aproximadamente el 30% de todo el BCC. Esto sugiere un papel prominente de la vía EGFR en la patogénesis de BCC y de este modo, genera una vía terapéutica en el tratamiento del CBC. Müller y col ⁽¹⁵⁵⁾ publicaron el primer caso de buena respuesta con cetuximab en un varón de 87 años con un CBC facial de gran tamaño. Más adelante, Caron y col ⁽¹⁵⁶⁾ publicaron una respuesta de estabilidad clínica en 2 pacientes con CBCm en los que había fracasado una terapia sistémica con derivados del platino. Por su parte, Kalapurakal y col ⁽¹⁵⁷⁾ publicaron su experiencia con cetuximab en 4 pacientes con CBC, objetivando una remisión clínica parcial en 3 de ellos. Además hemos de tener en cuenta que estos agentes presentan una toxicidad importante, principalmente renal, neurológica, otológica y mielosupresora, por lo que no sería recomendable administrarlos en determinados contextos clínicos, como pacientes de edad avanzada que presenten comorbilidades asociadas y plurimedicados. Más recientemente, Gaitanis y col ⁽²⁷⁴⁾ han registrado una buena tasa de respuesta en el tratamiento de 7 pacientes con CBCla mediante la combinación de crioterapia y bevacizumab intralesional. Estos autores apoyan el empleo de este fármaco sobre la base de la existencia de una extensa red microvascular y niveles elevados de expresión del factor de crecimiento del endotelio vascular (VEGF) que proporcionan una adecuada suplementación de oxígeno al tumor y colaboran en el crecimiento tumoral. También hipotetizan con la presunción de que la mutua interacción entre la acción inflamatoria de la crioterapia y antitumoral de bevacizumab, intensificarían los fenómenos de apoptosis, antiangiogénesis e inmunomodulación tumorocida. Los pacientes fueron tratados durante 24 semanas con 11 sesiones de crioterapia y 3 infiltraciones de bevacizumab. Tras un seguimiento de 18-48 meses, 4/7 pacientes experimentaron remisión completa y 3/7 permanecieron libre de recidiva durante éste periodo. Bevacizumab fue bien tolerado, siendo el efecto adverso más frecuente el dolor en el sitio de inyección y síntomas gripales en 2/7 pacientes. Un paciente mostró leucopenia reversible a los 3 días de la inyección del fármaco.

En la actualidad no existe un Nivel de evidencia que apoye el empleo de quimioterapia sistémica en el tratamiento del CBCla (Grado de recomendación C; Nivel de evidencia IV) ⁽²⁰³⁾.

Es importante destacar que el manejo y abordaje de éste tipo de tumores complejos debería realizarse dentro de un Comité multidisciplinario, que integrase aquellos servicios o departamentos especializados potencialmente involucrados en el tratamiento del CBCla y/o CBCm, tales como Dermatología, Oncología Radioterápica, Oncología Médica y Cirugía plástica, dirigido a la toma de decisión terapéutica más adecuada en función de las características del tumor y del contexto clínico del paciente.

En los últimos años, se han desarrollado algunas moléculas (otras se encuentran en fase de experimentación) dirigidas de forma específica para el tratamiento del CBC, concretamente del CBCla y CBCm teniendo en cuenta la patogénesis y biología molecular de estos, y que se describen en el próximo capítulo. Sabemos que la vía Hh tiene un papel fundamental en el desarrollo y mantenimiento del CBC, por lo que las vías de investigación actuales se encuentran dirigidas hacia la creación de fármacos que bloquean principalmente ésta vía de señalización, a diferentes niveles. Según el nivel de actuación, podemos clasificar los inhibidores Hh en 3 grupos:

1. Antagonistas de Ptch
2. Antagonistas de Smo (vismodegib entre otros)
3. Antagonistas de Gli

3. ANTECEDENTES: VISMODEGIB

Vismodegib es el primer inhibidor selectivo de la vía de señalización Hh que ha sido aprobado por la FDA (Erivedge, Genentech, Enero 2012) y por la Agencia Europea del Medicamento (EMA) en Julio 2013 para el tratamiento del CBCIa y CBCm. Este fármaco se une e inactiva específicamente al receptor de transmembrana-7 Smo, inhibiendo su traslocación a la membrana celular del cilio de tal manera que frena la activación de la familia de factores de transcripción del oncogen asociado a glioma (Gli), suprimiendo la proliferación y el crecimiento tumoral ⁽²⁷⁵⁾.

3.1. DESARROLLO PRECLÍNICO DE VISMODEGIB

El primer indicio de la existencia de moléculas que podrían bloquear la vía Hh se demostró con el descubrimiento de la Ciclopamina, un alcaloide esteroideo identificado por primera vez por Binns y col en 1968, componente de la planta liliácea *Veratrum californicum* y que fue la responsable de inducir defectos congénitos caracterizados por la ausencia de estructuras faciales de la línea media y prosencéfalo no divisible (holoprosencefalia) en recién nacidos de ovejas que ingirieron esta planta durante el proceso de gestación. Esta molécula tiene la capacidad para unirse directamente a Smo y bloquear la expresión de los genes de la vía Hh ⁽¹³⁹⁻¹⁴¹⁾. Mientras que a concentraciones bajas (<10 mmol/L) inhibe la vía Hh de forma específica, a concentraciones más altas conduce directamente a la muerte celular antes de que los genes Hh sean expresados. El hecho de presentar alta complejidad estructural, escasa afinidad, sensibilidad ácida y reducida biodisponibilidad por vía oral, ha obligado al desarrollo de otros derivados sintéticos y semisintéticos con potencial de administración por vía oral. Este descubrimiento junto al hallazgo de la implicación de la vía Hh en el crecimiento y proliferación de diversos tumores como el CBC y meduloblastoma condujo al desarrollo de la primera molécula sintética precursora de vismodegib, el benzimidazol 1, que exhibía potencia sub-micromolar en los primeros ensayos. El compuesto 1 tenía varias debilidades como candidato definitivo, ya que presentaba una pobre estabilidad metabólica mostrando un lento aclaramiento hepático en humanos (9,4 ml/min/kg) y una baja solubilidad termodinámica acuosa a pH 6,5 (0,3 ug/ml). Sin embargo, la estructura química molecular del benzimidazol era modular formando anillos, de manera que se procedió a la combinación y reemplazo sucesivo de estructuras anulares hasta formar el compuesto 5, identificado como GDC-0449 (renombrado más adelante como vismodegib), que exhibía implementación de la potencia, aclaramiento hepático, solubilidad, y estabilidad termodinámica a pH 6,5 ⁽²⁷⁶⁾. vismodegib se formula químicamente como 2-cloro-N-(4-cloro-3-(piridin-2-il) fenil) -4-(metilsulfonil) benzamida (C₁₉H₁₄Cl₂N₂O₃S). Es una base libre cristalina con una acidez de 3,8. Tiene una solubilidad pH dependiente de de 0,1 mcg/ml y 0,99 mcg/ml en pH-7 y 1, respectivamente ⁽²⁷⁷⁾.

3.2. FARMACOCINÉTICA DE VISMODEGIB

Vismodegib demuestra solubilidad dependiente del pH, siendo de 0,1 mg/ml a un pH de 7 y 0,99 mg/ml a un pH de 1. La biodisponibilidad de una dosis única de vismodegib es de 31,8% y disminuye con múltiples dosis al 7,36%. Su absorción completa se produce en 24 horas, no demuestra un perfil farmacocinético (PK) lineal y su volumen de distribución oscila entre 16,4-26,6 L. Se une en el 99% a proteínas plasmáticas, presentando especial afinidad por la glicoproteína α 1-ácida (AAG), de manera que la concentración plasmática de vismodegib está estrechamente relacionada con los niveles séricos de ésta proteína reactante de fase aguda, que puede estar elevada hasta 5 veces su valor normal en pacientes con tumores malignos. Algunos estudios in vitro sugieren que vismodegib se une también a la albúmina sérica, aunque con menos afinidad que a la AAG ⁽²⁷⁶⁾. En los ensayos clínicos fase I, las concentraciones máximas de vismodegib se alcanzaron a los 2 días de la administración de una dosis única, con descenso progresivo de los niveles séricos tras un período de lavado de 6 días. Con dosis de 150 mg/día se alcanzó una concentración máxima plasmática media (C_{max}) menor que con dosis superiores de 270 mg y 540 mg/día (3, 58, 6,34 y 6,81 mmol/L respectivamente). A pesar de esto, se alcanzaron unas concentraciones plasmáticas estables similares en 7 a 14 días con la administración diaria del fármaco, independientemente de la dosis suministrada (150 mg, 270 y 540 mg), por lo que la dosis estándar establecida como adecuada fue de 150 mg/d ya que no se observaron incrementos plasmáticos de forma paralela y proporcional al aumento de dosis administrada por vía oral. La mediana del nivel plasmático máximo fue de 23,0 μ M en todos los pacientes, y la mediana de la concentración plasmática estable fue de 16,1 μ M ⁽²⁸⁰⁾. Actualmente no existen recomendaciones respecto a la consideración de una reducción de dosis en relación a efectos adversos, interacción con otros fármacos o intolerancia del paciente. Se está estudiando la planificación de estudios dirigidos a la evaluación del PK y dosis recomendadas en pacientes con insuficiencia renal y hepática, pero de momento no disponemos de datos objetivos ⁽²⁷⁸⁾. Vismodegib se metaboliza mínimamente y principalmente vía citocromos CYP3A4/5 y CYP2C9 presentando potencial inhibitorio moderado de los citocromos CYP2C8/9, CYP2C19 y el BRCP (proteína de resistencia del cáncer de mama). >98% del fármaco se elimina vía biliar sin modificar (el 82% se recoge en heces y el 4,4% en orina). La semivida media de eliminación estimada de vismodegib es de 12 días tras una única dosis y de 4 días tras la administración diaria continua ⁽²⁷⁹⁾.

3.3. ENSAYOS CLÍNICOS CON VISMODEGIB EN EL CBC

Hasta el momento se han publicado un ensayo clínico fase I y 2 ensayos fase II sobre el uso de vismodegib en pacientes con CBCIa y/o CBCm.

Ensayo clínico fase I

Von Hoff y col ⁽²⁷⁹⁾ llevaron a cabo un ensayo clínico fase I en 2 estadíos, que evaluaba la seguridad y tolerabilidad de vismodegib en 33 pacientes con CBCIa (n=15) y CBCm (n=18). En el primer estadío que pretendía estudiar la dosis máxima tolerada, se evaluaron 20 pacientes con 3 dosis diferentes, recibiendo el fármaco en el día 1, seguido de un período de lavado de 6 días y continuando con la administración diaria de la misma dosis a partir del día 8; 7 pacientes recibieron 150 mg/día, 9 pacientes 270 mg/día y 4 pacientes 540 mg/día, sin observarse efectos tóxicos limitantes de dosis. 3 de los 20 pacientes tenían CBC y cada uno recibió las 3 dosis diferentes de vismodegib (150 mg, 270 mg y 540 mg). En el segundo estadío se pretendía obtener información adicional acerca de farmacocinética, farmacodinámica y seguridad y se añadieron 48 pacientes, 30 de los cuales tenían CBC: 16 pacientes recibieron 150 mg/d y 14 pacientes 270 mg/d. El seguimiento se realizó cada 4 semanas mediante exploración física, electrocardiograma, bioquímica y hematología. Para aquellos pacientes con enfermedad radiológicamente medible (sobre todo en los casos de CBCm), la evaluación de respuesta tumoral se llevó a cabo mediante los criterios de evaluación de respuesta para tumores sólidos (RECIST) (versión 1.0) (**Tabla 9**). Para los tumores no radiológicamente medibles, el seguimiento se realizó mediante exploración física de manera que se consideró una respuesta completa como la desaparición del tumor palpable o visible, y una respuesta parcial como la reducción de más del 50% del diámetro tumoral palpable o visible.

De los 18 pacientes con CBC metastásico, 9 obtuvieron respuesta parcial, 7 pacientes permanecieron con enfermedad estable y 2 pacientes presentaron progresión tumoral. La tasa global de respuesta entre los pacientes con CBC metastásico fue del 50%. De los 15 pacientes con CBCIa, 2 tuvieron respuesta completa, 7 respuesta parcial, 4 enfermedad estable y 2 pacientes presentaron progresión tumoral. La tasa global de respuesta en éste grupo de pacientes fue del 60%. La tasa objetivade respuesta global, respuesta parcial, respuesta completa y de enfermedad estable fue de 54.5%, 48.4%, 6.1% y 33.3% respectivamente. Los efectos adversos más frecuentemente observados fueron calambres musculares, disgeusia, anorexia y pérdida de peso, todos ellos de grado 2-3. La dosis establecida como adecuada fue de 150 mg/d ya que no se observaron incrementos plasmáticos de dosis de forma paralela y proporcional al aumento de dosis administrada por vía oral.

En un trabajo posterior llevado a cabo por LoRusso y col ⁽²⁷⁸⁾ en 68 pacientes con tumores sólidos localmente avanzados o metastásicos que no habían recibido ningún tratamiento previo o eran refractarios a otros tratamientos (incluyendo los 33 pacientes con CBC de la fase previa), de manera que

se administraron las 3 dosis diferentes de vismodegib (150 mg, 270 mg y 540 mg). El objetivo principal de éste estudio fue evaluar la eficacia y seguridad del fármaco en diferentes tumores sólidos. 33 pacientes (48.5%) estaban diagnosticados de CBC, 8 pacientes de cáncer de páncreas, 1 paciente meduloblastoma y 17 otro tipo de tumores no especificados en el ensayo. La administración de vismodegib continuaba hasta la progresión de la enfermedad o aparición de toxicidad intolerable. Entre los pacientes con CBC y meduloblastoma, la tasa objetiva de respuesta global fue de 58% y la mediana de respuesta entre los pacientes con CBC fue de 12.8 meses (rango 3.7-26.4) 4 pacientes con otros tumores (carcinoma adenoquístico, carcinoma pancreático y carcinoide metastásico) mostraron una estabilidad en la enfermedad como mejor respuesta, y un mantenimiento medio de la misma durante 3.1 meses (rango 2.8-6.5). Este estudio demostró también que la dosis de 150 mg/d era la apropiada para alcanzar una concentración plasmática suficiente efectiva, y conseguir una adecuada eficacia y seguridad clínica.

Tabla 9. Criterios RECIST Versión 1.0 ⁽²⁸⁰⁾

<p>Elegibilidad: Únicamente deberían incluirse aquellos pacientes con enfermedad medible basalen protocolos donde la respuesta objetiva es la variable principal.</p> <p>Lesiones medibles: Aquellas lesiones que presentan un diámetro mayor de ≥ 20 mm (evaluado mediante técnicas convencionales) o ≥ 10 mm mediante TAC o RMN.</p> <p>Respuesta completa (RC): Desaparición de todas las lesiones diana</p> <p>Respuesta parcial (RP): Reducción de al menos $\geq 30\%$ en el diámetro tumoral, tomando como referencia las medidas iniciales.</p> <p>Progresión de la enfermedad (PE): Incremento de al menos un 20% en el diámetro tumoral desde el comienzo del tratamiento, o aparición de una o más nuevas lesiones</p> <p>Enfermedad estable (EE): No ha habido modificación en el diámetro mayor tumoral desde el inicio del tratamiento.</p>
--

Tabla 10. Ensayos clínicos fase I con vismodegib en CBC ^(278, 279)

Nombre del ensayo	Diseño/ Población	Dosis del fármaco	Variables principales	Resultados
Von Hoff y col (2009)	2 estadíos, dosis escalada CBC (33) Meduloblastoma (1) Otros tumores (34)	150 mg/d (41) 270 mg/d (23) 540 mg/d (4)	Seguridad Tolerabilidad Dosis máxima tolerada	CBC RO 58% RC 6% RP 52% EE 30% EP 12% DMR 12.8 meses
Lorusso y col (2011)	2 estadíos, multicéntrico 67 pacientes con tumores sólidos avanzados fueron clasificados según niveles basales de glicoproteína α -1	Dosis inicial de 150 mg/d durante los primeros 11 días, seguido de una dosis de mantenimiento según el siguiente esquema: Diario (23) 1 vez/ semana (22) 3 veces/semana (22)		La dosis de 1 o 3 veces por semana no alcanzó una concentración suficiente de unión a proteínas plasmáticas para conseguir la eficacia deseada
Lorusso y col (2013)	2 cohortes, un único brazo Tumores sólidos localmente avanzados o metastásicos	Día 1: Ros o ACO Días 2-7: Vis 150 mg/d Día 8: Vis + Ros o ACO		El estudio demostró que la administración sistémica de Ros y ACO no se alteraba por Vis

Abreviaturas: ACO: Anticonceptivos orales; DMR: Duración media de la respuesta; EE: Enfermedad estable; EP: Enfermedad en progresión; RO: Respuesta objetiva; RC: Respuesta completa; RP: Respuesta parcial Ros: Rosiglitazona; Vis: vismodegib

Ensayos clínicos fase II

Sekulic y col⁽²⁸¹⁾ llevaron a cabo el estudio pivotal fase II, multicéntrico, de un solo brazo y de dos cohortes con el objetivo de evaluar la eficacia y seguridad de vismodegib en pacientes con CBCIa y CBCm (ERIVANCE BCC) y que condujo a la aprobación para su comercialización por parte de la FDA. Recogieron 104 pacientes con CBC metastásico (n=33) y CBC localmente avanzado (n=71), de los cuales 8 fueron excluidos del ensayo debido a que el patólogo no identificó la presencia de CBC en la biopsia inicial. Todos los pacientes recibieron vismodegib a dosis de 150 mg/día hasta que se observara progresión tumoral o aparición de toxicidad farmacológica severa. Los datos relativos a la eficacia del fármaco incluyeron como variable principal la tasa de respuesta objetiva (RO) evaluada por un revisor independiente (IR), y como variables secundarias la RO evaluada por el investigador, la duración de la respuesta, la supervivencia libre de progresión y la supervivencia global. Para definir la tasa de respuesta completa/parcial en los casos de CBCm se utilizaron las guías RECIST (versión 1.07), y para los pacientes con CBCIa se creó una variable compuesta que incluía las dimensiones del tumor, la ulceración de la lesión y los criterios RECIST en tumores medibles por resonancia magnética, de manera que se consideró respuesta cuando huboun descenso de $\geq 30\%$ en el tamaño tumoral (visible externamente en fotografías o radiológicamente). En los pacientes que respondieron se consideró respuesta completa si la biopsia fue negativa para células tumorales. El objetivo era demostrar la superioridad en la RO respecto a un valor prefijado por el promotor: CBCm RO $>10\%$ y CBCIa RO $>20\%$. Para los pacientes con múltiples lesiones, se utilizó la suma de los diámetros mayores para determinar la respuesta y progresión. En el grupo de CBCIa, la cirugía, RT, y otras terapias tópicas y/o sistémicas se realizaron en el 89%, 27% y 11% de los pacientes, respectivamente. En el grupo de CBCm, la cirugía, RT y terapia sistémica se efectuó en el 97%, 58% y 30% de los pacientes, respectivamente. La duración del estudio fue de 21 meses con al menos 9 meses de tratamiento para el último paciente reclutado. Se realizaron análisis adicionales tras 6 meses, 12 meses y el análisis final tras 30 meses. En un primer análisis, con una mediana de duración del tratamiento de 9,8 meses (0,7 a 16,4) y de 9,7 meses (1,1-18,7), la tasa de respuesta global objetiva fue del 43% (27/63) ($p < 0,001$) y 30% (10/33) ($p = 0,001$) en los pacientes con CBCIa y CBCm, respectivamente. En el grupo de CBCIa (n=63) se obtuvieron 13 respuestas completas (20,6%) y 14 respuestas parciales (22,2%). Además en 34 de los 63 pacientes (54%) no se observó CBC residual en biopsias posteriores. La tasa de respuesta medida como estabilidad de la enfermedad se observó en el 38% y el 64% de los pacientes en los pacientes con CBCIa y CBCm, respectivamente. La duración media de la respuesta fue de 7,6 meses y la supervivencia media libre de progresión fue de 9,5 meses en ambos grupos.

En un segundo análisis con una seguimiento medio de 12 meses, la tasa de RO fue del 60,3% y el 48,5%, y la duración media de la respuesta fue de 20,3 meses y de 14,7 meses en los grupos de CBCIa y CBCm respectivamente. En el grupo de CBC metastásico (n=33) se obtuvieron 16 respuestas parciales (48,5 %) y ninguna respuesta completa. En el grupo de CBCIa se obtuvieron 20 respuestas completas (31,7%) y 18 respuestas parciales (28,6%). La duración media de la respuesta evaluada por

el IR fue de 7,6 meses y 9,5 meses para CBCm y CBCla respectivamente. La media de supervivencia libre de progresión por el investigador fue de 9,3 meses y 12,9 meses para CBCm y CBCla respectivamente. Durante el período de estudio, se detectó al menos un evento adverso en todos los pacientes tratados. Se informaron de efectos grado 3 o 4 en el 18% de los pacientes ⁽²⁸²⁾.

Los datos relativos a eficacia y seguridad del estudio ERIVANCE con 30 meses de seguimiento (aún no publicados pero presentados en el congreso ASCO 2014) han mostrado tasas de RO global por el investigador del 60,3% y del 48,5% con una mediana de duración de la respuesta de 26,2 meses y 14,8 meses en los pacientes con CBCla y CBCm, respectivamente. La mediana de supervivencia libre de progresión ha sido de 12,9 meses y 9,3 meses para CBCla y CBCm, respectivamente. A nivel molecular, registraron y confirmaron el aumento de expresión de los genes que codifican el factor Gli1 y el receptor 2 homólogo de patched (Ptch2) en biopsias cutáneas tumorales previas al tratamiento con vismodegib, comparado con biopsias cutáneas de piel sana de otros sujetos ⁽²⁸³⁾.

El otro ensayo clínico fase II fue desarrollado por Tang y col ⁽²⁸⁴⁾; se trataba de un ensayo randomizado, a doble ciego y controlado con placebo que pretendía investigar la eficacia de vismodegib en pacientes con SG. Recogieron 42 pacientes afectados de este síndrome y fueron randomizados, con una ratio 2:1, a recibir vismodegib oral a dosis de 150 mg/día (n=26) o placebo (n=15) por un período de 18 meses. El principal indicador de eficacia fue la tasa comparativa de aparición de nuevos CBC que serían tributarios de cirugía (aquellos con un diámetro ≥ 3 mm en la nariz o área periorbitaria, ≥ 5 mm en cualquier parte de la cara o ≥ 9 mm en tronco y muslos). El indicador secundario de eficacia fue la reducción en la tasa de aparición de pequeños CBC (≤ 5 mm) en el tercio superior de la espalda, reducción del tamaño de CBC tributarios de cirugía, duración del efecto contra el CBC tras la discontinuación del fármaco y cambios en la expresión del gen Hh en los CBC. El seguimiento clínico se realizó mensualmente durante los primeros 9 meses y trimestralmente durante los 9 meses restantes. Únicamente 38 pacientes completaron el régimen de visitas los 3 primeros meses. Además se realizaron estudios moleculares para evaluar el grado de inhibición de la vía Hh mediante el análisis de los niveles de ARNm que codifica el Gli1 en biopsias cutáneas, realizadas en el momento inicial y al mes de haber iniciado vismodegib. Los resultados obtenidos fueron una reducción en la aparición de nuevos CBC tributarios de cirugía en el grupo de vismodegib comparado con placebo (2 vs 29 nuevos CBC por año, $P < 0.001$). Vismodegib también redujo el tamaño de los tumores existentes, expresado como el porcentaje de cambio en la suma de los diámetros mayores (-65% vs -11%, $P = 0.003$). Los pacientes del grupo de vismodegib se sometieron a menor cantidad de cirugías comparado con el grupo placebo (media cirugías por pacientes 0.31 vs 4.4 con placebo, $P < 0.001$). Prácticamente todos los tumores respondieron a vismodegib, obteniendo una remisión clínica casi completa en algunos pacientes. Respecto al estudio de las biopsias cutáneas y estudios moleculares, entre los pacientes que recibieron vismodegib durante más de 3 meses, el 46% de las biopsias reveló la presencia de tumor residual y entre aquellas lesiones que clínicamente parecían resueltas, la presencia de tumor residual se objetivó únicamente en el 17% de las mismas. A nivel molecular, el efecto de vismodegib también se asoció

con un descenso de señalización Hh con una disminución de hasta el 90% de la expresión del ARNm Gli1 en biopsias realizadas al mes de tratamiento, una reducción en la proliferación tumoral, evaluado mediante la expresión de Ki67, pero sin observar cambios en la apoptosis celular, evaluados mediante la medición de caspasa 3.

Chang y col ⁽²⁸⁵⁾ llevaron a cabo un estudio en 120 pacientes con CBCIa y CBCm, en los que la cirugía y RT era inadecuada o estaba contraindicada, a los que se administró vismodegib a dosis de 150 mg/d con una media de duración del tratamiento de 5,5 meses. El 87.4% de los pacientes tenían lesiones tumorales mesurables de acuerdo a los criterios RECIST. El 12,6% de los pacientes tenían metástasis ósea demostrada por biopsia. Con un período de seguimiento medio de 6,5 meses, la tasa de respuesta global fue de 46,4% y 30,9%, en pacientes con CBCIa y CBCm, respectivamente, y las tasas de respuesta completa, parcial y de enfermedad estable se objetivaron en 8, 30 y 47 pacientes, respectivamente y en ambos grupos. En un análisis multivariante y en el grupo de CBCIa, se objetivó que aquellos pacientes que habían recibido tratamiento previo con terapia sistémica, mejoró de forma significativa la tasa de respuesta global (P=0.002) alcanzando la estabilidad de la enfermedad como indicador de mejor respuesta. Sin embargo en el grupo de CBCm, la administración previa de terapia sistémica no tuvo ningún efecto significativo en la tasa de respuesta global. Los efectos adversos más frecuentemente observados fueron calambres musculares (70,6%), disgeusia (70,6%), alopecia (58,0%) y diarrea (25,2%). Los efectos adversos en grado 3 y 4 más frecuentes fueron calambres musculares, diarrea y fatiga.

STEVIE es un estudio multicéntrico fase II de un solo brazo, promovido por ROCHE Pharma SA, que se ha llevado a cabo en 167 centros hospitalarios de referencia y clínicas especializadas en 36 países, y tiene como objetivo principal el de evaluar la seguridad del fármaco y como objetivo secundario evaluar la tasa de respuesta global al fármaco, tiempo medio hasta la respuesta, supervivencia libre de progresión y calidad de vida en 1229 pacientes con CBCIa y CBCm. Entre Junio de 2011 y noviembre de 2014 se han incluido 1200 pacientes, y recientemente se han publicado los datos preliminares que han incluido el análisis de 499 pacientes (468 CBCIa y 31 CBCm) que han completado un seguimiento ≥ 12 meses. El tratamiento se discontinuó en 400 pacientes (80%): 180 (36%) por efectos adversos, 70 (14%) por progresión de la enfermedad y 51 (10%) solicitaron la finalización del tratamiento. 99 pacientes continúan actualmente con el fármaco. Con una duración media del tratamiento de 36.4 semanas (rango 17.7-62), 302 (66.7%, 62.1-71) de los 453 pacientes con CBCIa presentaron respuesta al fármaco (153 RC y 149 RP); 11 (37.9%, 20.7-57.7) de los 29 pacientes con CBCm respondieron a vismodegib (2 RC y 9 RP). Las tasas de respuesta completa, parcial y enfermedad estable han sido de 33,8%, 32,9% y 26% para el CBCIa y de 6,9%, 31% y 34,5% para CBCm. La progresión de la enfermedad se ha objetivado solo en el 3.1% de los pacientes. La duración media de la respuesta ha sido de 10 y 22,7 meses, con un tiempo medio hasta la respuesta de 2,8 (95% CI, 1.8-3.7) y 2,6 meses (95% CI, 2-2.8) para los casos de CBCm y CBCIa, respectivamente. La mediana de supervivencia libre de progresión ha sido de 13,1 meses y de 24,5 meses para CBCm y CBCIa, respectivamente ⁽²⁸⁶⁾.

Estas cifras de RO global son ligeramente superiores a las obtenidas en el estudio pivotal ERIVANCE que puede explicarse por una valoración heterogénea de la respuesta entre ambos estudios: en el estudio STEVIE, la valoración de la respuesta se realizó mediante los criterios RECIST para ambos grupos de tratamiento, mientras que en el ERIVANCE, en los casos de CBCIa se escogió una variable combinada que tenían en cuenta el tamaño de la lesión, los criterios RECIST y la ulceración.

Un análisis combinado de supervivencia de varios ensayos fase I y II en 45 pacientes con CBCm tratados con vismodegib a dosis de 150 mg, 270 mg y 540 mg/día, estableció como dosis óptima la de 150 mg/día y objetivó una tasa de supervivencia global de 2.8 años, siendo del 84.4% y 68.0% en el primer y segundo año, respectivamente. En otro estudio reciente, que investigaba la duración de la respuesta tras la suspensión de vismodegib y la tasa de respuesta con el retratamiento, objetivaron que en 13 pacientes que discontinuaron vismodegib, se mantuvo una buena respuesta durante más de 1 año, sin objetivar recurrencia tumoral, y que aquellos pacientes que presentaban progresión tumoral tras la interrupción del tratamiento, podían beneficiarse de un segundo ciclo de vismodegib, alcanzando tasas de respuesta similares al primer ciclo ⁽²⁸⁷⁾.

La EMA, de acuerdo con el grupo consultor (SAG, Scientific Advisory Group) considera que (288):

- En el caso de CBCIa, la mayor tasa de respuesta con un mayor número de respuestas completas incluso en áreas de mayor riesgo como la cara, la mayor duración de la respuesta, la frecuente resolución de la ulceración y la sensación de mejoría clínica con el tratamiento por parte de revisores independientes al estudio confirman el beneficio clínico del tratamiento con vismodegib.
- En cambio en pacientes con CBCm, el beneficio no está tan claramente definido ya que la tasa de respuesta es más baja, no ha habido respuestas completas y no está tan claro que la disminución en el tamaño de las lesiones aporte algún beneficio clínico.

Tabla 11. Ensayos fase II de vismodegib en el tratamiento de CBC ^(281, 284, 285, 289).

Nombre del ensayo	Diseño/ Población	Dosis del fármaco	Variables principales	Resultados
Sekulic y col (2012) ERIVANCE	2 cohortes, multicéntrico CBCm (33) CBCla (63)	Vis 150 mg/d	TRO	RO:30% CBCm, 43% CBCla RC: 0% CBCm, 21% CBCla RP: 30% CBCm, 22% CBCla EE: 64% CBCm, 38% CBCla EP: 3% CBCm, 13% CBCla SLP: 9.5 months CBCm-CBCla
Tang y col (2012)	Randomizado, doble ciego multicéntrico Pacientes con SG (41)	Vis 150 mg/d (26) Placebo (15)	Reducción en el número de nuevos CBC tributarios de cirugía	CBC nuevos/año 2 (Vis) vs 29 (placebo)
Chang y col (2014)	2 cohortes, multicéntrico CBCla (62) CBCm (58)	Vis 150 mg/d	Seguridad Eficacia	RO:31% CBCm, 46.4% CBCla RC: 5% CBCm, 10.7% CBCla RP: 26% CBCm, 35.7% CBCla EE: 51% CBCm, 48% CBCla EP: 8% CBCm, 0% CBCla
Grobb JJ y col (2013)	No randomizado, multicéntrico, un solo brazo estudio en curso CBCla (278) CBCm (22)	Vis 150 mg/d	Seguridad	RC: 17.5% RP: 39.8% EE: 39.0% EP: 2.8%

Abreviaturas: CBCm: CBC metastásico; CBCla: CBC localmente avanzado; EE: Enfermedad estable; EP: Enfermedad en progresión; RO: Respuesta objetiva; RC: Respuesta completa; RP: Respuesta parcial TRO: Tasa de respuesta objetiva; SG: síndrome de Gorlin; SLP: supervivencia libre de progresión; Vis: vismodegib;

Estudios actualmente en curso con vismodegib en el tratamiento del CBCla y CBCm

VISMONEO es un ensayo abierto, multicéntrico, no comparativo, fase II, que se está realizando en 33 centros hospitalarios de Francia, que pretende valorar la eficacia de vismodegib como tratamiento neoadyuvante antes de la cirugía, y cuyo objetivo principal es la evaluación de la reducción del tamaño del CBC, preservando la funcionalidad y la estética del área afectada. Actualmente hay 50 pacientes incluidos y el seguimiento se realizará durante 3 años tras la cirugía ⁽²⁹⁰⁾. Ally MS y col llevaron a cabo un ensayo clínico en 15 pacientes con CBCla para intentar determinar la eficacia y tolerabilidad a corto plazo de vismodegib administrado de forma preoperatoria para reducir el área del defecto quirúrgico. 4 pacientes no pudieron completar más de 3 meses de tratamiento debido a efectos adversos relacionados con el fármaco. 13 tumores fueron extirpados tras una media de tratamiento con vismodegib de 4±2 meses. En general, vismodegib redujo el área del defecto quirúrgico en un 27% (95% de confianza e45.7 intervalo% a e7.9%; P = 0,006) respecto al valor basal. Tras un seguimiento medio de 11,5 meses (rango 4-21), sólo 1 paciente presentó recurrencia tumoral a los 17 meses de la ciru-

gía (CMM) ⁽²⁹¹⁾. Alcalay J y col ⁽²⁹³⁾ también han publicado su experiencia respecto a la neoadyuvancia con vismodegib en 2 pacientes con 3 CBC de gran tamaño, seguido de la realización de CMM. Tras 6 meses de tratamiento, 2 tumores experimentaron remisión clínica completa y 1 de ellos redujo su diámetro de forma notable. Durante la CMM se objetivaron focos tumorales aislados en los 3 tumores. MIKIE es un ensayo aleatorizado, doble ciego, multicéntrico, fase II, que tiene como objetivo principal evaluar la eficacia y seguridad de 2 pautas de administración diferentes de vismodegib (intermitente vs continua) en pacientes con múltiples CBC. La variable principal del estudio es la reducción en el porcentaje de presentación de nuevos CBC tras 72 semanas de tratamiento, en las 2 pautas posológicas. Actualmente se han incluido 229 pacientes y la fecha estimada de finalización del estudio es en agosto 2016 ⁽²⁹³⁾. NICCI es un ensayo multicéntrico de un solo brazo de tratamiento que se está llevando a cabo en varios centros hospitalarios de Alemania, que evalúa la eficacia de vismodegib como neoadyuvancia en pacientes con CBC grandes y/o recurrentes. La variable principal de estudio es la eficacia del fármaco en 75 pacientes y las variables secundarias incluyen la reducción del tamaño del tumor, determinar cuales son los subtipos tumorales que se benefician en mayor medida de ésta secuencia terapéutica, la evaluación de cambios inducidos por el tratamiento determinados mediante pruebas de imagen en correlación con el examen histopatológico, y la toxicidad/ tolerabilidad del fármaco ⁽²⁹⁴⁾.

Tabla 12. Ensayos actualmente en curso de vismodegib en el tratamiento de CBC ^(290, 293, 294).

Nombre del ensayo	Diseño/ Población	Dosis del fármaco	Variables principales	Información disponible
VISMONEO (n=50)	Abierto, multicéntrico no comparativo Evaluar la eficacia de Vis como terapia neoadyuvante	Vis 150 mg/d	Evaluación de la reducción del CBC en relación al tiempo de administración de Vis	2013-004338-13
MIKIE (n=229)	Randomizado, doble ciego multicéntrico Evalúa la eficacia y seguridad de 2 regímenes diferentes de Vis en pacientes con múltiples CBC.	<i>Régimen A:</i> los pacientes reciben 3 ciclos de Vis (150 mg/d) durante 12 s seguido por placebo durante 8 s, seguido por un ciclo de Vis durante 12 s <i>Régimen B:</i> los pacientes reciben Vis (150 mg/d) durante 24 s, seguido de 3 ciclos alternativos de placebo (8 s) seguido de Vis (8 s)	Reducción del número de CBC clínicamente evidentes tras 72 s de tratamiento	NCT 01815840 Tiempo estimado: para la finalización del estudio: 08/2016
NICCI (n=75)	No randomizado, multicéntrico un solo brazo Evalúa la eficacia de Vis como neoadyuvante en pacientes con CBC grandes y/o recurrentes	Vis 150 mg/d	Eficacia	2013-004767-31

Resumen de criterios de CBCIa no tributarios de cirugía y/o RT (posiblemente candidatos a tratamiento sistémico con vismodegib) ⁽²⁶⁷⁾.

Tumores no palpebrales:

T2/T3 no tributarios de cirugía y/o RT

T4

Tumores recidivados tras RT

Tumores persistentes tras cirugía y contraindicación de RT

Tumores en los que la cirugía y RT estuvieran contraindicadas y/o fueran inapropiadas

Tumores palpebrales

T3 no tributarios de cirugía y/o RT

T3b-T4

Tumores en los que la cirugía y RT estuvieran contraindicadas y/o fueran inapropiadas

3.4. EXPERIENCIA DEL USO DE VISMODEGIB EN OTROS TUMORES

Alteración en la vía de señalización Hh en otros tumores.

Como se ha comentado en el apartado de patogénesis molecular del CBC, una vía de señalización Hh aberrante puede desencadenar la iniciación, proliferación y propagación de diferentes tipos de cáncer mediante la activación de una vía ligando-dependiente o ligando-independiente.

En la vía ligando-independiente, las alteraciones genéticas en los diferentes componentes de la vía Hh como las mutaciones pérdida-de-función en Ptch, SUFU o aumento-de-función en Smo y mutaciones sin sentido en Gli1 y Gli3 favorecen las propiedades de supervivencia y crecimiento de la célula tumoral como se observa en el caso del CBC y meduloblastoma.

La vía ligando-dependiente puede ser autocrina si el ligando Hh producido por la célula tumoral actúa sobre las células vecinas para estimular su propagación y supervivencia o paracrina donde el ligando Hh secretado por el epitelio estimula el estroma subyacente para continuar la proliferación y transformación maligna y se ha observado en casos de cáncer de pulmón, cáncer pancreático y de próstata; mientras que la vía ligando-dependiente paracrina se ha aislado en casos de cáncer de ovario y colorectal. Además la transición tumorogénica se ve influenciada por el estadio del proceso neoplásico en el cual interviene la variante de señalización Hh. Por ejemplo, en los casos de CBC y meduloblastoma, la alteración en la vía Hh es importante para la iniciación de la formación tumoral y el mantenimiento de la misma; en casos de cáncer de colon y pancreático, la alteración Hh es importante para el mantenimiento tumoral pero no para la formación tumoral; en otros casos como cáncer de mama, de ovario, próstata o pulmonar, se sabe que la esta vía está implicada pero su papel todavía no se ha definido ^(295, 296).

A continuación se detallan algunas de las alteraciones más importantes observadas en la vía de señalización Hh que son determinantes en el desarrollo de algunos tumores ⁽¹⁴³⁾:

-Cáncer de mama: Activación de la vía Hh debido a mutaciones en Ptch1, Smo, SUFU y sobreexpresión del ligando SHH. Se incrementa la proliferación tumoral y potencial metastásico.

- Cáncer de colon: Activación de la vía Hh debido a mutaciones pérdida-de-función en Ptch y aumento-de-función en Smo con activación de proteínas K-ras y B-raf y sobreexpresión de SHH, Ptch y Gli1. Se produce un incremento de la transición epitelial a mesenquimal en el epitelio colónico.

- Leucemia: Activación de la vía Hh debido a la sobreactivación de Smo y sobreexpresión del ligando SHH y del factor de transcripción Gli1. Se estimula la autorenovación y mantenimiento de las células madre en la leucemia mieloide y la resistencia a quimioterapia.

- Cáncer de pulmón: Activación de la vía Hh debido a la sobreexpresión del ligando SHH y Gli1 e i activación de SUFU. Se incrementa la invasión y agresividad tumoral junto a resistencia a fármacos.
- Meduloblastoma: Activación de la vía Hh debido a mutaciones pérdida-de-función en Ptch y SUFU o mutaciones aumento-de-función en Smo. Se incrementa la proliferación tumoral, agresividad e invasión.
- Cáncer de ovario: Activación de la vía Hh debido a sobreexpresión de Gli1 y Gli2. Se incrementa la proliferación tumoral, migración y promoción de angiogénesis.
- Cáncer de páncreas: Activación de la vía Hh debido a mutaciones pérdida-de-función en Ptch y sobreexpresión de SHH, Ptch y Smo. Incremento del tamaño tumoral, metástasis linfáticas y resistencia a quimioterapia.
- Cáncer de endometrio: Activación de la via Hh debido a la sobrerregulación de SHH, Ptch, Smo y Gli1. Se incrementa la proliferación tumoral y la invasión miometrial.
- Cáncer de esófago: Activación de la vía Hh debido a la amplificación del gen SHH, sobreexpresión de SHH, Ptch1, Gli1 y Gli2. Proliferación descontrolada de las células tumorales, promoción de la repoblación de células madre tras quimioterapia y resistencia a radioterapia.
- Tumores neuroendocrinos: Activación de la vía Hh debido a la sobrerregulación de genes Ptch, Gli1, Gli2 y Gli3. Se incrementa la proliferación tumoral, el potencial metastásico e invasivo y reducción de la apoptosis tumoral.

Vismodegib y cáncer de ovario

Kaye y col ⁽²⁹⁷⁾ desarrollaron un ensayo clínico fase II randomizado y controlado con placebo para evaluar la eficacia de vismodegib como tratamiento de mantenimiento en 104 pacientes con cáncer de ovario en segunda o tercera remisión, aleatorizadas 1:1 a recibir vismodegib vs placebo durante 3-14 semanas después de haber completado su régimen quimioterápico clásico. El principal indicador de eficacia era la tasa de supervivencia libre de progresión (PFS) que fue de 7.5 y 5.8 meses para los grupos de vismodegib y placebo, respectivamente ($p = 0,39$). Los resultados obtenidos no fueron positivos, obteniendo una HR de 0,79 entre las pacientes con segunda remisión completa ($n=82$) y de 1,79 en las pacientes con tercera remisión completa ($n=20$) por lo que no se obtuvo una tasa de PFS suficientemente aceptable como para poder aceptar a vismodegib como una terapia esperanzadora en el tratamiento de éste tipo de tumores. Además la expresión de la vía Hh se objetivó en el 13,5% de los tejidos tumorales analizados. Los efectos adversos más comunes en el brazo de vismodegib fueron disgeusia, espasmos musculares, y alopecia.

Vismodegib en el cáncer de páncreas

El descubrimiento de la alteración en la vía Hh en el desarrollo del cáncer de páncreas ofrece una nueva alternativa terapéutica para éste tumor. La inhibición de esta vía de señalización causa regresión tumoral, tiene un efecto paracrino sobre las células del estroma tumoral y mejora la eficacia terapéutica de otros fármacos citotóxicos mediante la modificación de la respuesta fibrótica desmoplásica y mejora la biodisponibilidad de otros quimioterápicos ⁽¹⁴³⁾. Yauch et al llevaron a cabo una serie de estudios para intentar establecer la actividad paracrina implicada en la tumorigénesis mediada por la vía Hh y encontraron que la inhibición de ésta vía en el estroma tumoral puede modular algunos factores como el factor de crecimiento insulina-like (IGF) y ciertos componentes de la vía Wnt ⁽¹⁵¹⁾. Existe evidencia de la implicación de IGF y Wnt en el desarrollo del cáncer de páncreas, enfatizando el potencial papel terapéutico de la inhibición de la vía Hh en el tratamiento de éste tipo de tumor. En un estudio realizado con líneas celulares del adenocarcinoma de páncreas humano se descubrió que la vía Hh promueve la neovascularización en el cáncer de páncreas mediante la regulación de la expresión de los factores Ang-1 y IGF-1 en las células proangiogénicas derivadas de la médula ósea y que los niveles de ARNm de IGF-1 y Ang-1 eran infra regulados por la ciclopamina ⁽¹⁴³⁾. Actualmente se están llevando a cabo 6 ensayos clínicos para determinar la eficacia de varios antagonistas Smo como vismodegib e IPI-926 en el tratamiento del cáncer de páncreas. En un estudio aleatorio controlado con placebo fase IB/II en 106 pacientes con cáncer de páncreas metastásico no tratados previamente, se evaluó y comparó la eficacia de la terapia combinada de vismodegib con gemcitabina vs gemcitabina más placebo. El objetivo principal del ensayo era determinar la SLP. La mediana de SLP fue de 4,0 y 2,5 meses en el grupo de vismodegib más gemcitabina vs gemcitabina más placebo, respectivamente ($p = 0,30$) ⁽²⁹⁸⁾. En otro estudio fase II que pretendía evaluar la eficacia de vismodegib junto al régimen quimioterápico FOLFOX en pacientes con cáncer gástrico metastásico, no se objetivaron resultados superiores respecto al régimen quimioterápico clásico ⁽²⁹⁹⁾.

Por otro lado, y basandonos en lo que se ha comentado previamente de que la inhibición de vía Hh mejora la eficacia y biodisponibilidad de otros quimioterápicos y en los resultados obtenidos en estudios de otro tipo de tumores, se piensa que los ensayos clínicos con antagonistas de Smo obtendrían mejores resultados si el diseño del estudio incluyera a estos agentes como una parte de alguna combinación quimioterápica.

Vismodegib en el meduloblastoma

El meduloblastoma es la neoplasia maligna cerebral más frecuente durante la infancia y 1/3 de estos tumores presenta alteraciones en la vía Hh. En la población pediátrica todavía se están llevando a cabo ensayos clínicos con vismodegib en el meduloblastoma recurrente con factores de mal pronóstico ⁽³⁰⁰⁾. Rudin y col publicaron el primer caso de meduloblastoma metastásico en un varón de 26 años tratado con vismodegib con una buena y rápida respuesta inicial pero con pérdida de eficacia a los 3 meses ⁽³⁰¹⁾. El 80% de los meduloblastomas del adulto presenta alteraciones en SHH. Un estudio prospectivo de

fase II, actualmente en curso, realizado en adultos con meduloblastoma recurrente tratados con vismodegib (NCT00939484) ha demostrado tasas de respuesta sostenidas >6 meses en 6/20 pacientes ⁽³⁰²⁾. Robinson y col llevaron a cabo 2 estudios fase II en 31 adultos y 12 niños con meduloblastoma recurrente en los que objetivaron una mejor respuesta con una mayor supervivencia libre de progresión entre aquellos tumores mediados por SHH que en los no mediados por SHH ⁽³⁰³⁾.

Vismodegib en el carcinoma colorrectal

Berlin y col ⁽³⁰⁴⁾ desarrollaron un ensayo clínico fase II randomizado y controlado con placebo para evaluar la eficacia de vismodegib vs placebo en combinación con los esquemas quimioterápicos FOLFOX Y FOLFIRI junto a bevacizumab en 199 pacientes con carcinoma colorrectal metastático. La variable principal del ensayo era la PFS, sin observar un aumento significativo de la misma en el grupo de vismodegib en relación a placebo (mediana PFS de 10.1 vs 9.3 meses, respectivamente, p=0.28). La tasa de respuesta global para vismodegib vs placebo fue del 51% vs 46%, respectivamente. Como muestran los datos, no se obtuvo el beneficio superior esperado en el grupo de vismodegib, concluyendo que el nuevo fármaco no añadía una eficacia adicional respecto al tratamiento quimioterápico clásico de éste tipo de patología.

Vismodegib en el tratamiento de la leucemia

La activación de la vía Hh también se ha documentado en la leucemia con positividad para BCR-ABL-1. Katagiri y col ⁽³⁰⁵⁾ llevaron a cabo un estudio para evaluar la eficacia del tratamiento con vismodegib combinado con ponatinib, un inhibidor de kinasa pan-ABL1, en poblaciones celulares positivas para BCR-ABL1 in vivo e in vitro. Observaron que la combinación de ambos fármacos ayudaba a eliminar la resistencia al tratamiento en la población celular a estudio, reduciendo la carga tumoral global.

Vismodegib en el tratamiento del cáncer de pulmón

Un ensayo clínico aleatorizado fase II y de 3 brazos, evaluó la eficacia de vismodegib en combinación con cisplatino-etopósido vs cixutumumab (un inhibidor de IGF-1R) y cisplatino-etopósido vs cisplatino-etopósido sólo, en pacientes con carcinoma de pulmón de células pequeñas en estadios avanzados. No se objetivó una mejoría significativa en la supervivencia global con la adición de vismodegib o cixutumumab respecto al régimen clásico en solitario ⁽³⁰⁶⁾.

3.5. MECANISMOS DE RESISTENCIA A VISMODEGIB

El tema de la resistencia adquirida a fármacos es especialmente prevalente en el contexto de los inhibidores de las kinasas. La reciente introducción en la clínica de vismodegib como inhibidor de la vía de señalización Hh, ha proporcionado la aparición del primer registro de resistencia al grupo de terapias dirigidas contra el receptor Smo y, por extensión, ha favorecido la consideración del fenómeno de resistencia adquirida a fármacos dirigidos contra moléculas relacionadas con el receptor acoplado a proteína G ⁽²⁹⁾. Debido a que, como sabemos, la mayoría de los casos de CBC contienen mutaciones en Ptch, la mayoría de estos tumores responden a vismodegib. Sin embargo, al menos un 20% de los pacientes desarrollan fenómenos de resistencia. Concretamente, Rudin y col ⁽³⁰¹⁾ publicaron el primer caso de meduloblastoma tratado con vismodegib con buena respuesta inicial pero con pérdida de eficacia a los 3 meses. Se trataba de un paciente varón de 26 años con un meduloblastoma metastásico al que se inició tratamiento con vismodegib a dosis de 150 mg/día con una rápida y notable regresión tumoral inicial; el análisis molecular del tumor primario y de las metástasis previo al tratamiento revelaron la existencia de una mutación en Ptch1 (Ptch1-W844C) así como una sobreexpresión de diferentes genes implicados en la vía Hh, confirmando la premisa de que la enfermedad estaba inducida por una hiperactivación de ésta vía de señalización. Posteriormente Yauch y col ⁽³⁰⁷⁾ intentaron dilucidar la naturaleza del mecanismo de resistencia al fármaco en éste paciente de manera que recogieron una biopsia de una lesión tumoral e identificaron, mediante secuenciación genética, una mutación sin sentido heterocigota G-C en la posición 1497 de Smo, que predice el cambio de aminoácido en el codón 473 de ácido aspártico (Asp) por Histidina (His) (D473H). Esta mutación no se detectó en biopsias pre-tratamiento aunque es posible que estuviera presente en una frecuencia inferior a niveles detectables. Por otro lado, diversos autores han investigado la existencia de mutaciones en Smo como etiología de la resistencia a vismodegib.

Por su parte, Dijkgraaf y col ⁽³⁰⁸⁾, basándose en estudios in vitro, publicaron una nueva mutación en Smo mediante la inducción de mutaciones en regiones de Smo importantes para la interacción con vismodegib. La mayoría de las 21 nuevas mutaciones que mostraban deficiencia para la unión a vismodegib eran inactivas con respecto a la señalización o no se expresaban en la superficie celular. Sin embargo la mutación Smo-E518A sí que mostró una actividad importante y demostró una resistencia parcial frente a la presencia de 1 µmol/L de vismodegib.

Posteriormente, Chang y Oro ⁽³⁰⁹⁾, publicaron su experiencia en 28 pacientes tratados con vismodegib (20 CBCIa y 8 CBCm) en los que objetivaron una reactivación del crecimiento tumoral en 5 pacientes con CBCIa durante el tratamiento, tras una buena respuesta inicial con reducción de masa tumoral, describiendo así el fenómeno de resistencia secundaria (adquirida) a vismodegib, caracterizado por un re-crecimiento tumoral en el interior o en un área inmediatamente adyacente (a menos de 1 cm) del lecho tumoral inicial durante el tratamiento con este fármaco, y en el que inicialmente se había objetivado una reducción clínica parcial o aparentemente completa. Este fenómeno podría explicarse

por varios mecanismos, como por ejemplo por el hecho de la existencia de una heterogeneidad celular tumoral y el desarrollo de mutaciones ulteriores a diferentes niveles moleculares de la vía Hh.

Brinkhuizen y col⁽³¹⁰⁾ llevaron a cabo un análisis genético en busca de mutaciones que pudieran ayudar a explicar este fenómeno de quimiorresistencia secundaria a vismodegib en una paciente con un CBCIa que recibió el fármaco de forma continuada objetivándose regresión completa tumoral tras 16 semanas de tratamiento, pero con recidiva tumoral a las 20 semanas de tratamiento ininterrumpido. Para intentar aclarar el mecanismo de resistencia, se procedió al análisis genómico de los exones de codificación de Ptch1 en el tumor primario y en las lesiones tumorales recurrentes, observándose una mutación heterocigota c.1728_172811delinsAA junto a la pérdida de heterocigosidad tanto en el tumor primario como en el recurrente, lo que indica que las células tumorales iniciales habrían sobrevivido a pesar del tratamiento con vismodegib. De forma adicional, los mismos autores también procedieron a la secuenciación genómica de Smo basándose en el antecedente del hallazgo de mutaciones adquiridas en Smo en el meduloblastoma. En 2 lesiones tumorales recurrentes, obtuvieron 2 mutaciones heterocigotas pérdida-de-sentido en Smo (c.842G [T (p.Trp281Leu) en el exón 4 y c.961G [A (P.Val-321Met) en el exón 5), y que no se encontraban en el tumor primario pretratamiento, lo que descartaría un origen clonal común de las lesiones tumorales recurrentes, apoyando de ésta manera el concepto de heterogeneidad tumoral, incluso a pesar de que éstas lesiones recurrentes surgieran de la misma línea clonal tumoral.

Meani R y col⁽³¹¹⁾ también publicaron el caso de un paciente diagnosticado de CBCm con una rápida respuesta inicial y completa durante el tratamiento con vismodegib pero con recidiva de la enfermedad metastásica pulmonar y ósea a los 7 meses del inicio de la terapia.

Atwood y col y Sharpe y col^(312, 313) han demostrado recientemente que la resistencia a inhibidores de Smo reside frecuentemente en la existencia de mutaciones en los genes que codifican esta proteína. Los hallazgos procedentes de ambos trabajos son bastante similares, demostrando que hasta el 15-33% de los CBC no tratados presentan mutaciones en Smo, cifra que se incrementa hasta el 69-77% en CBC tratados resistentes al fármaco. En aquellos casos de CBC resistentes en los que no existen mutaciones en Smo, deberían investigarse alteraciones a otros niveles de la vía Hh, como Gli o SUFU. Estos autores también investigaron si las mutaciones en Smo localizadas dentro del sitio de unión al ligando/fármaco o fuera de éste, tenían la misma influencia en el grado de resistencia al fármaco. Atwood y col obtuvieron que aquellas mutaciones localizadas fuera del sitio de unión al ligando, como la mutación W535L, incrementaban la actividad basal de Smo, incluso en ausencia de un inhibidor, por lo que este tipo de tumores no respondían a vismodegib; por el contrario las mutaciones localizadas en el sitio de unión al ligando ejercían poca influencia sobre la actividad basal de Smo de manera que no deberían considerarse como causa principal de los fenómenos de resistencia. Sin embargo Sharpe y col objetivaron que ambos grupos de mutaciones tenían una influencia similar en el grado de resistencia al fármaco; demostraron que las mutaciones resistentes a

vismodegib presentaban una resistencia cruzada con otros inhibidores de Smo, sugiriendo que las combinaciones entre inhibidores de Smo diferentes no proporcionarían un beneficio terapéutico añadido. Una manera de aproximarnos a la resistencia generada por mutaciones específicas es el desarrollo de inhibidores de segunda generación que conserven actividad en presencia de mutaciones en la vía Hh. Esta estrategia se ha utilizado con éxito en el caso de resistencia a fármacos dirigidos contra el receptor de factor de crecimiento epidérmico (EGFR); por ejemplo nilotinib, un inhibidor de segunda generación que mostró actividad clínica en pacientes con leucemia mieloide crónica resistentes a imatinib. Una alternativa válida podría ser el uso de antagonistas de la vía de señalización Hh con un mecanismo de acción diferente a vismodegib. Por ejemplo, se ha descubierto recientemente que itraconazol inhibe Smo a un nivel diferente de vismodegib y otros compuestos inhiben Hh más allá de Smo, como el trióxido de arsénico que inhibe Gli2 y GANT61, que bloquea la función Gli, por lo que podrían considerarse como una estrategia en el contexto de resistencia frente a vismodegib ⁽³¹⁴⁾.

3.6. EFECTOS ADVERSOS DE VISMODEGIB E INTERACCIÓN CON OTROS FÁRMACOS

Los efectos adversos (EA) relacionados con la administración de vismodegib son, en general, de grado leve-moderado (1-2) pero se producen en la mayoría de los pacientes, y consisten en calambres musculares, alopecia, disgeusia y pérdida de peso. En el ensayo clínico fase I, Von Hoff y col ⁽²⁷⁹⁾ objetivaron como EA más frecuentes los calambres musculares, disgeusia, fatiga, alopecia y náuseas. Algunos EA registrados en grado 3 y 4 fueron hiponatremia, fatiga y dolor abdominal. En el estudio pivotal ERIVANCE (281-283), los EA más frecuentemente registrados en grado 1 y 2 fueron calambres musculares (68,3%), alopecia (63,5%), disgeusia (51%) y pérdida de peso (46,2%), fatiga (35,6%), náuseas (28,8%), y diarrea (20%). Los EA de grado >3 fueron pérdida de peso (7,2%), fatiga (5,8%) y calambres musculares (3,6%). En el análisis primario se detectaron EA serios en 26 pacientes (25%), 7 con CBCm y 19 con CBCla. Los más frecuentes fueron infecciones (4,8%), neoplasias (4,8%), trombosis venosas y pulmonares (4,8%), alteraciones cardiacas (3,8%) y alteraciones del sistema nervioso (3,8%). 7 pacientes con CBCm y 9 con CBCla fallecieron. En el caso de los pacientes con CBCm, la progresión de la enfermedad fue la principal causa de muerte (5/7). Los acontecimientos adversos fatales (grado 5) fueron identificados en 7 pacientes (1 CBCm y 6 CBCla): 3 muertes de causa desconocida, 1 shock hipovolémico, 1 infarto agudo de miocardio, 1 enfermedad meníngea y 1 ictus isquémico. No se ha podido establecer una relación clara entre éstos EA y las muertes con el fármaco. Otros EA detectados con una menor frecuencia y que van a ser seguidos durante el período de farmacovigilancia son alteraciones oculares (queratitis, irritación ocular; la vía Hh parece estar implicada en la proliferación celular del epitelio corneal), alteraciones en dientes y huesos (fracturas y osteonecrosis; estudios preclínicos mostraron alteraciones en el desarrollo normal de los dientes y en el remodelado óseo), eventos tromboembólicos y síncope, alteraciones analíticas (hiponatremia y aumento de los enzimas hepáticos) y neoplasias (en el estudio pivotal hubo también un caso de carcinoma de esófago y un sarcoma y en el resto de estudios de los que se disponen datos de seguridad se detectaron 2 adenocarcinomas de páncreas). Una hiponatremia severa se observó en 8 casos durante el ensayo clínico fase I pero no se ha reportado en estudios posteriores. Un 50% de los pacientes habían parado el tratamiento en el momento del análisis primario. Las principales causas para la discontinuación fueron la progresión en el CBCm y la propia decisión del paciente en el CBCla. Los principales motivos reportados por los pacientes en entrevistas posteriores fueron EA prolongados intolerables (36,7%), problemas logísticos con el tratamiento y las visitas (20%) y otros (26,7%). En el estudio STEVIE (286), se registraron EA en 491 pacientes (98%) y los más frecuentemente reportados han sido calambres musculares (317, [63,2%]), alopecia (307, [61%]), disgeusia (269, [54%]), pérdida de peso (162, [32,4%]), astenia (141, [28,2%]) y pérdida de apetito (126, [25,4%]), ageusia (112, [22%]), diarrea (83, [17%]), náuseas (80, [16%]) y fatiga (80, [16%]). Para la mayoría de los pacientes, el tiempo medio para la presentación de un EA de cualquier grado fue de 2.83 meses (2.3-3.68), para los calambres musculares de 5.55 meses (4.86-5.75), para la alopecia de 6.51 meses (3.71-9.56) y 6.51 para la disgeusia (3.71-9.56). Los EA que más frecuentemente condujeron a la discontinuación del tratamiento fueron los calambres musculares (44, [9%]), disgeusia (29, [6%]), pérdida de peso (24, [5%]), astenia (22, [4%]), alopecia

(21, [4%]), disminución del apetito (19, [4%]), ageusia (14 [3%]) y fatiga (12, [2%]). De los 103 pacientes que discontinuaron el tratamiento debido a los EA, 75 (73%) alcanzaron RC o RP antes de la finalización del fármaco, y de éstos 48 (47%) obtuvieron RC. Los EA graves se produjeron en 108 pacientes (22%) y han sido relacionados con vismodegib en aproximadamente 33 pacientes (6,6%). Los más frecuentes han sido neumonía (1,8%), deterioro físico (1,4%), y deshidratación (1 %); 29 pacientes (5,8%) fallecieron: 4 debido a progresión tumoral, 18 por EA evaluados por el investigador como no relacionados con el fármaco, 2 por efectos adversos relacionados con el fármaco y 5 por otras causas. Las causas de los 2 éxitos relacionados con el tratamiento fueron 1 parada cardiorrespiratoria en un paciente con historia de leucemia linfocítica crónica, y 1 infarto de miocardio en un paciente con historia previa de tromboembolismo pulmonar). Hubo una mayor incidencia de EA entre aquellos pacientes que habían recibido el tratamiento durante >12 meses, sin embargo no hubo diferencias estadísticamente significativas entre los pacientes que habían recibido el fármaco <12 meses y ≥12 meses. En su estudio, Chang y col ⁽²⁸⁵⁾ detectaron como EA más frecuentes la disgeusia, calambres musculares, alopecia, pérdida de peso, todos ellos grado 1-3. No se observaron EA graves. Tras 8 meses de tratamiento, 7 de los 26 pacientes (27%) que recibieron el fármaco discontinuaron la terapia debido a los EA, con resolución de los mismos entre 1 y 3 meses después.

En otro estudio, se registró amenorrea en 3/10 mujeres premenopáusicas que recibieron vismodegib, con restablecimiento del ciclo menstrual normal a las pocas semanas de suspensión del fármaco. Este hallazgo sugiere que la vía Hh puede estar implicada en la fisiología del folículo ovárico dependiente de la hormona foliculoestimulante (FSH), de manera que vismodegib podría actuar bloqueando el receptor FSH-R dependiente ⁽³¹⁵⁾. También se ha informado del desarrollo de queratoacantomas con la administración de vismodegib ⁽³¹⁶⁾ y tricodisplasia espinulosa ⁽³¹⁷⁾. El perfil de algunos EA relacionados con vismodegib es el reflejo de la interacción con la activación de la vía Hh en la edad adulta. Este hecho es particularmente evidente en relación a la alopecia y disgeusia que muestran la mayoría de los pacientes, ya que vismodegib interrumpiría la señalización Hh activada en el folículo piloso y en la regulación de la renovación de las células progenitoras del epitelio de la lengua adulta ^(318, 319). La proteína de membrana Smo parece jugar un papel importante en la regulación de la vía AMP-kinasa y otras vías calcio-dependientes mediante diversos factores de transcripción. Tras la activación de Smo, se produciría la entrada de calcio en las células, que a su vez, estimularían las enzimas de vía AMP-kinasa, conduciendo a la absorción rápida de grandes cantidades de glucosa, restaurando el equilibrio entre catabolismo y anabolismo celular. De forma interesante, este modelo de activación celular podría ser estimulado tanto por los activadores como los inhibidores de la vía Hh y los resultados son todavía contradictorios, pero básicamente los inhibidores Hh ocasionarían inanición de la célula, interfiriendo con el metabolismo anabólico, pudiendo explicar la pérdida de peso relacionado con el fármaco. Por otro lado, la entrada de calcio en las células musculares podría ser la causa de los espasmos y calambres musculares ⁽³²⁰⁾. Además del cáncer, las vías de investigación de futuras aplicaciones de la inhibición Hh, están también orientadas hacia la obesidad y la diabetes. Los departamentos de inmunología y epigenética del Instituto Max Planck han demostrado un nuevo circuito molecular que controla el metabolismo celular. Una

de las proteínas efectoras de la vía Hh proporcionaría una absorción de glucosa insulino-independiente en las células musculares y del tejido graso pardo, pudiendo afectar a la especialización, replicación y migración celular. Además, se sabe que la vía Hh inhibe por algún mecanismo el tejido graso blanco, sin afectar al tejido pardo ⁽³²⁰⁾.

Interacción con otros fármacos ⁽²⁸⁸⁾:

- Los fármacos que alteran el pH del tracto gastrointestinal pueden afectar a la solubilidad de vismodegib y reducir su biodisponibilidad. Cuando vismodegib se administra de forma concomitante con un inhibidor de la bomba de protones, un antagonista del receptor H2 o un antiácido, la exposición sistémica del fármaco puede verse reducida pero se desconoce el efecto de la eficacia. No es conveniente incrementar la dosis de vismodegib para compensar la falta de exposición.
- Los EA pueden incrementarse si se administra de forma concomitante con fármacos que inhiben la glicoproteína-p, como claritromicina, eritromicina o azitromicina.
- El uso concomitante de agentes que disminuyan el pH, pueden conducir al descenso de las concentraciones plasmáticas de vismodegib.
- Anticonceptivos esteroideos: Los resultados de un estudio demostraron que la exposición sistémica a etinil estradiol y noretindrona no se altera cuando se administra de forma concomitante con vismodegib. Sin embargo, el estudio de interacción fue de solo 7 días de duración y no se puede excluir que en tratamientos más largos, al ser vismodegib un inductor de enzimas que metabolizan esteroides anticonceptivos, pueda disminuir la exposición sistémica de los anticonceptivos esteroideos y, por tanto, reducir la eficacia anticonceptiva.
- Estudios in vitro indican que vismodegib puede actuar como un inhibidor de la proteína de resistencia de cáncer de mama (PRCM). La administración concomitante con fármacos transportados por ésta proteína (por ej, rosuvastatina, topotecan y sulfasalazina) debe realizarse con precaución y puede ser necesario un ajuste de dosis.

Con todos estos datos, la EMA consideró que se había establecido el perfil de seguridad del fármaco y que el balance riesgo-beneficio era favorable. Sin embargo, al tratarse de una nueva familia de fármacos y debido a que el número de pacientes del que se dispone información de seguridad es bajo, la aprobación de vismodegib es condicional a la presentación de más datos de seguridad, que se obtendrán principalmente del estudio STEVIE, que incluye >1000 pacientes con CBCIa y/o CBCm.

Tabla 13. Efectos adversos de vismodegib en los estudios realizados ^(278, 281, 284, 285, 297, 304).

Efecto, n (%)	LoRusso y col N=68	ERIVANCE CBC N=96	Kaye y col N=52	Tang y col N=41	Berlin y col N=98	Chang y col N=119
Calambres musculares	32 (47.1)	65 (67.7)	33 (63.5)	21 (80.7)	NR	84 (70.6)
Disgeusia	28 (47.2)	49 (51.0)	37 (71.2)	22 (85)	NR	84 (70.6)
Alopecia	32 (47.1)	60 (62.5)	25 (48.1)	16 (62)	NR	69 (58)
Fatiga	24 (35.3)	35 (36.4)	14 (26.9)	2 (8)	18 (18.4)	23 (19.3)
Nauseas	23 (33.8)	28 (29.2)	17 (32.7)	5 (19)	10 (10.2)	23 (19.3)
Pérdida de peso	18 (26.5)	44 (45.8)	NR	11 (42)	10 (10.2)	19 (16)
Pérdida de apetito	19 (27.9)	22 (22.9)	9 (17.3)	NR	8 (8.2)	NR
Diarrea	18 (26.5)	21 (21.9)	NR	NR	12 (12.2)	30 (25.2)

3.7. DESARROLLO DE CE CONCOMITANTE CON EL TRATAMIENTO CON VISMODEGIB

Existe alguna evidencia reciente que apoya la causalidad extrínseca de vismodegib en el desarrollo concomitante de CE durante el tratamiento, ya que se han publicado varios casos de aparición de novo de CE o de transformación escamosa del CBC. Por un lado, Orouji y col ⁽³²¹⁾ han descrito el desarrollo concomitante de CE de novo durante el tratamiento con vismodegib y otros autores han informado de la existencia de una transformación escamosa de una parte del lecho tumoral inicialmente diagnosticado como CBC. Según éstos autores, los mecanismos subyacentes que pueden explicar éstos fenómenos podrían explicarse por un reclutamiento de células de CE preexistentes en el lecho tumoral y la progresión de la población tumoral original hacia un fenotipo más indiferenciado, todo ello favorecido por el tratamiento con vismodegib, o por alteraciones en la vía de señalización Hh y de su interacción con otras vías que estén más relacionadas con el desarrollo de CE. Pulahon y col ⁽³²²⁾ han publicado recientemente el rápido crecimiento de un CE a las 16 semanas de tratamiento con vismodegib en un paciente de 90 años diagnosticado de CBCla. Wakabayashi y col ⁽³²³⁾ demostraron que una variante polimórfica del gen Ptch en ratones FVB, un grupo con un fondo genético predispuesto al desarrollo de CE, era suficiente para promover la génesis de CE inducidos por Hras. De la misma manera, Im y col ⁽³²⁴⁾ han demostrado recientemente que la sobreexpresión del alelo Ptch1 FVB impulsado por el promotor 14 de la queratina sinergiza con mutaciones inducidas por Hras para promover el desarrollo de CE en ratones adultos, mientras que éstos exhibían signos en el desarrollo coherentes con la inhibición de la vía Hh. Por ello, se propuso que Ptch1 jugaba un papel crítico no sólo en la proliferación del CBC sino también del CE.

Recientemente Ransohoff y col ⁽³²⁵⁾ han publicado el caso de una paciente mujer de 62 años que presentaba un CBC localizado en la espalda con metástasis ganglionares en axila izquierda y que obtuvo una buena respuesta tras 9 meses de tratamiento con vismodegib, pero que desarrolló una linfadenopatía axilar homolateral compatible con CE a los 13 meses de haber finalizado el tratamiento. Tanto el CBC inicial como la masa tumoral recurrente compatible con CE, compartían hasta el 90% de las mutaciones genómicas, detectadas sobre todo en Ptch1 (P125L y p.R619X), pero además el CE presentaba nuevas mutaciones en Notch1/2 y KMT2C, normalmente presentes en el CE, lo que indica que las mutaciones en estos genes podrían contribuir a la transición escamosa durante el tratamiento con vismodegib. También hallaron altos niveles de ARNm Gli1, lo que sugiere que incluso en aquellos CBC con transformación escamosa, el mantenimiento de la señalización Hh es importante para la supervivencia tumoral.

3.8. MONITORIZACIÓN DE LA RESPUESTA A VISMODEGIB

El seguimiento de la respuesta a vismodegib se realiza mediante la observación clínica, evaluación radiológica en tumores medibles radiológicamente, y a nivel histopatológico mediante la recogida seriada de biopsias cutáneas.

Recientemente Maier T y col ⁽³²⁶⁾ han intentado determinar algunos hallazgos que podrían ser característicos de remisión tumoral en pacientes con CBC que están recibiendo tratamiento con vismodegib. Estos autores compararon y correlacionaron los hallazgos obtenidos mediante microscopia confocal, tomografía óptica de alta definición, evaluación histopatológica y análisis inmunohistoquímico, de 6 CBC en 5 pacientes antes y durante el tratamiento con vismodegib. La mitad de los tumores en los que se objetivaba una respuesta clínica, presentaron estructuras “pseudoquísticas” en las pruebas de imagen anteriormente citadas, que se correlacionaban a nivel histopatológico con material necrótico y/o fibrótico residual del tumor preexistente. Además encontraron otros rasgos distintivos mediante microscopia confocal y tomografía óptica de alta resolución que indicaban respuesta a vismodegib como son la pérdida de delineación y “empalizada” periférica de los nidos tumorales; escasa definición de los nódulos tumorales respondedores al fármaco y aumento de tejido fibrótico.

3.9. VISMODEGIB EN SITUACIONES ESPECIALES ⁽²⁸⁸⁾

- Vismodegib y gestación: vismodegib es considerado como categoría D por la FDA. En estudios con ratas se observó teratogenicidad con la administración del 20% de la dosis diaria recomendada para humanos que incluía la aparición de anomalías craneofaciales, perineo abierto y fusiones digitales. Las mujeres en edad fértil deben cumplir el **Programa de Prevención de Embarazo con Erivedge®** que implica: tener un test de embarazo negativo realizado por un profesional sanitario dentro de los 7 días anteriores al comienzo del tratamiento, tener un test de embarazo negativo todos los meses durante el tratamiento incluso si se ha estado amenorreica, utilizar 2 métodos anticonceptivos recomendados (uno altamente eficaz y un método barrera) a menos que la mujer se comprometa a no tener relaciones sexuales durante el tratamiento y no quedarse embarazada durante el tratamiento ni durante los 24 meses posteriores a la última dosis. Vismodegib está presente en el semen y por tanto, los hombres que están en tratamiento deben entender que exponen a un riesgo teratogénico al feto si mantienen relaciones sexuales sin protección con una mujer embarazada. Los riesgos son durante el tratamiento y los 2 meses posteriores a la administración de la última dosis. A pesar de que no se han llevado a cabo estudios específicos para evaluar el potencial de afectar a la fertilidad, hay datos en estudios preclínicos que indican que tanto la fertilidad masculina como la femenina pueden verse afectadas.

Respecto a la lactancia, se desconoce el grado en el cual vismodegib se excreta en la leche materna. Debido a su potencial de producir defectos graves en el desarrollo, las mujeres no deben dar la lactancia mientras toman el tratamiento ni durante los 24 meses posteriores a la administración de la última dosis.

- Vismodegib en población pediátrica: No se ha evaluado la eficacia y seguridad de vismodegib en población pediátrica humana. En estudios animales se observaron diversas anomalías con dosis entre un 20-40% de la dosis diaria recomendada en adultos, con aparición de cierre epifisario temprano y anomalías en el desarrollo de la dentición.
- Vismodegib en población geriátrica: Hasta la fecha, no disponemos de un número suficiente de pacientes ≥ 65 años incluidos en los ensayos clínicos para determinar las diferencias respecto a farmacocinética, seguridad o eficacia en la población geriátrica. Debido a que la mayoría de los CBC metastásicos y/o localmente avanzados ocurren en pacientes mayores, deberían realizarse más estudios en fase postcomercialización para evaluar éstos datos.
- Donación de sangre y semen: Los pacientes no deben donar sangre mientras estén tomando vismodegib ni durante los 24 meses posteriores a la administración de la última dosis. Los pacientes hombres no deben donar semen mientras estén tomando el fármaco ni durante los 2 meses posteriores a la administración de la última dosis.

3.10. OTROS INHIBIDORES DE LA VÍA HH EN DESARROLLO

Antagonistas Smo

Tabla 14. Otros inhibidores Smo en desarrollo ⁽¹⁵⁹⁾.

Compuesto	Ensayos clínicos en CBC	Ensayos clínicos en otros tumores
LDE-225 (Novartis)	Tumores sólidos avanzados (CBC y meduloblastoma (NCT 00880308) CBCla y CBCm (BOLT) (NCT 01327053) CBCla y CBCm (NCT 01529450) CBCs y CBCn esporádicos (NCT 01033019)	Tumores sólidos avanzados (mama metastásico, adenocarcinoma pancreático, colon metastásico, glioblastoma multiforme recurrente) Cáncer pulmón célula pequeña avanzado Cáncer de páncreas localmente avanzado o metastásico Neoadyuvancia para cáncer de páncreas resecable Leucemia mieloide crónica Meduloblastoma refractario o recurrente Leucemia aguda refractaria o recurrente
LEQ-506	CBCla o CBCm, meduloblastoma recurrente o refractario (NCT 01106508)	
BMS-833923 (Bristol-Myers)	CBCla o CBCm Síndrome Gorlin o CBC esporádico NCT (00670189)	Leucemia
PF-04449913 (Pfizer)	Neoplasias no-hematológicas avanzadas, incluyendo CBC	Leucemia aguda Leucemia mieloide aguda o síndrome mielodisplásico

LDE-225 (sonidegib, Odomzo[®], Novartis) ^(327, 328) a dosis de 200 mg/día es el segundo inhibidor de Smo que ha sido aprobado recientemente por la FDA para el tratamiento del CBCla, tras los resultados de eficacia y seguridad preliminares obtenidos del estudio BOLT (NCT01327053). Este ensayo fase II, aleatorizado y multicéntrico que continúa vigente en la actualidad, ha estudiado y comparado la eficacia y seguridad de 2 dosis diferentes de este fármaco, 200 y 800 mg/día, en 230 pacientes diagnosticados de CBCla y CBCm, 79 en el grupo de 200 mg y 151 en el grupo de 800 mg. El criterio principal de valoración ha sido la proporción de pacientes que han alcanzado una respuesta objetiva con datos recogidos hasta 6 meses después de la aleatorización del último paciente. Con un tiempo medio de seguimiento de 13.9 meses, 20 (36%, 95% CI 24-50) de los 55 pacientes que recibieron 200 mg/día de LDE-225 y 39 (34%, 25-43) de los 116 pacientes que recibieron 800 mg/día, lograron una respuesta objetiva. En el grupo de 200 mg, 18 (43%; IC del 95%: 28-59) de los pacientes que lograron una respuesta objetiva, tenían CBCla y 2 (15%, 2 -45) CBCm. En el grupo de 800 mg, 35 (38%, 95% CI 28-48) tenían CBCla y 4 (17%, 5-39) CBCm. Los EA que han ocurrido en >10% de los pacientes tratados con 200 mg han sido espasmos musculares, alopecia,

disgeusia, fatiga, náuseas, dolor musculoesquelético, diarrea, disminución de peso, disminución del apetito, mialgia, dolor abdominal, defalea, náuseas, vómitos y prurito. Entre los EA grado 3-4, los más frecuentes fueron la elevación de la creatin-kinasa y lipasa en 5 (6%) y 4 (5%) pacientes del grupo de 200 mg vs 19 (13%) y 8 (5%) en el grupo de 800 mg.

Dos inhibidores de Smo, saridegib y TAK-441, han sido suspendidos por falta de eficacia. Otros antagonistas Smo se han utilizado en estudios preclínicos, e incluyen CUR-61414, provitamina D3, Sant1-4, Sant-75, el compuesto bis-amida 5 y la desmetilveramilina. Los glucocorticoides se han propuesto también como moduladores de Hh ⁽¹⁵⁹⁾.

Antagonistas Ptch

La interferencia de la señalización Hh a través del bloqueo de Ptch se ha demostrado en modelos experimentales. El anticuerpo monoclonal 5E1 bloquea la unión de ligandos Hh a Ptch con baja potencia nanomolar y se ha utilizado a nivel experimental pero no ha progresado para su uso en ensayos clínicos. Otras 2 pequeñas moléculas, robotnikinin que se une e inhibe a la proteína Sh, y RU-SKI, un inhibidor de la acetiltransferasa Hh, que dificulta la palmitoilación Sh y bloquea Hh ⁽¹⁵⁹⁾.

Antagonistas Gli

Hasta el momento, solo se han identificado unas pocas moléculas que actúen sobre proteínas Gli, y su uso se limita únicamente a estudios preclínicos. 2 compuestos, GANT61 y GANT58 son capaces de interferir con Gli1 y Gli2 respectivamente, e inhibir el crecimiento tumoral de una forma Gli-dependiente ⁽³²⁹⁾. El trióxido de arsénico (ATO), inhibe los factores de transcripción Gli y ya ha sido aprobado para el tratamiento de la leucemia promielocítica aguda. ATO se une directamente a la proteína Gli1 e inhibe su transcripción y bloquea la acumulación ciliar de Gli2 ⁽³³⁰⁾.

El pyrvinium, un agente anti-oxiuros aprobado por la FDA, recientemente ha demostrado su capacidad para inhibir la actividad Gli y promover su degradación ⁽³³¹⁾. También la Glabresciona B, una isoflavona presente de forma natural en las semillas de la planta Derris glabrescens, se ha demostrado que interfiere con la interacción de Gli y el ADN ⁽³³²⁾.

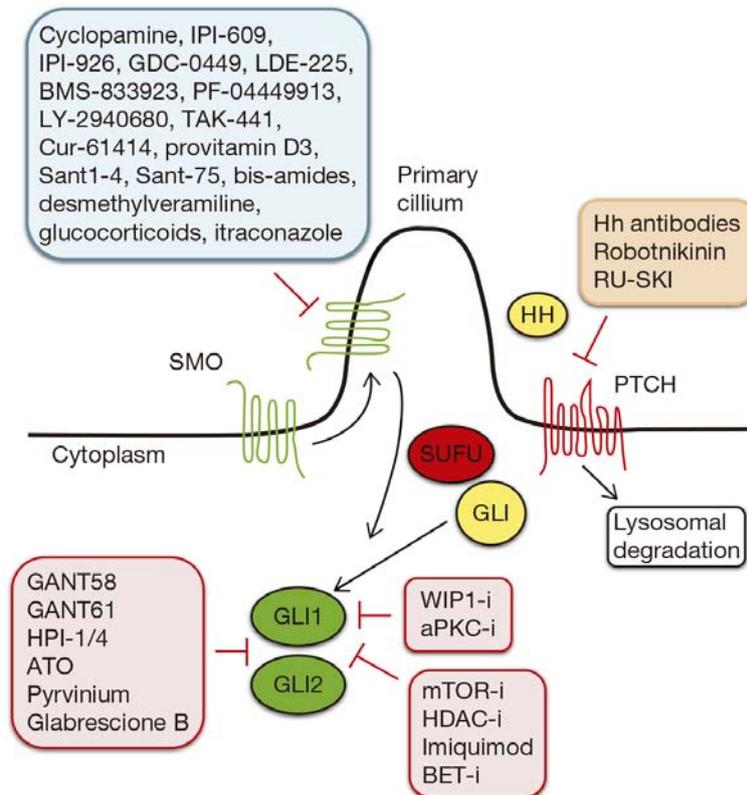


Figura 5. Dianas terapéuticas de la vía Hh según el nivel molecular inhibido ⁽¹⁵⁹⁾.

Los agentes señalados en azul (ciclopamina, IPI-609, IPI-926, GDC-0449, LDE-225, BMS-833923, PF-04449913, LY-2940680, TAK-441, Cur-61414, provitamin D3, Sant1-4, Sant-75, bis-amidas, desmethylveramiline, glucocorticoides, itraconazol) bloquean SMO. Los agentes señalados en naranja (Hh antibodies, Robotnikinin y RU-SKI) bloquean Ptch y los enmarcados en rojo (GANT58, GANT61, HPI-1/4, ATO, Pyrvinium, Glabrescione B, WIP1-i, aPKC-i, mTOR-i, HDAC-i, Imiquimod, BET-i) bloquean Gli. Abreviaturas: PKC-i, inhibidor de la protein-kinasa-C; ATO, trióxido de arsénico; BET-i, inhibidor del brodominio BET; HDAC-i, inhibidores de la histona-desacetilasa; HHerizo; IPH-1/4, inhibidores de la vía hedgehog-1-4; mTOR-i, inhibidores de la vía mTOR; WIP1-i, de tipo salvaje p53 inducida fosfatasa 1-inhibidores.

4. JUSTIFICACIÓN, HIPÓTESIS Y OBJETIVOS DEL ESTUDIO

4.1. JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO

Los estudios publicados hasta la fecha evalúan la eficacia de vismodegib basándose en criterios clínicos y radiológicos, pero disponemos de escasa información respecto a las bases moleculares que justifican la eficacia clínica probada del fármaco. Concretamente, Tang y col ⁽²⁸⁴⁾ en su ensayo clínico fase II en el que recogieron 42 pacientes afectos de SG, evaluaron y compararon, mediante PCR, la expresión del ARNm que codifica el factor de transcripción Gli1 en biopsias cutáneas lesionales de los 2 grupos a estudio (tratamiento vs placebo) realizadas al inicio de tratamiento con vismodegib y al mes, objetivando una reducción de hasta el 90% de la expresión de ARNm en el grupo tratado con vismodegib al mes de tratamiento comparado con el grupo placebo; también confirmaron una reducción en la proliferación tumoral mediante la determinación de la expresión de Ki67 sin objetivar cambios en factores de apoptosis evaluados mediante la medición de la caspasa 3.

Por su parte, Sekulic y col ⁽²⁸¹⁾ en su ensayo fase II en el que recogieron 104 pacientes afectos de CBCIa y/o metastásico, únicamente registraron y confirmaron el aumento de expresión de los genes que codifican el factor Gli1 y el receptor Ptch2 en biopsias cutáneas tumorales previas al tratamiento con vismodegib, comparado con biopsias cutáneas de piel sana de otros sujetos.

Sabemos que la vía Hh contribuye a la tumorigénesis a diferentes niveles, como iniciación, crecimiento, mantenimiento, metástasis y resistencia tumoral, sin embargo su papel en cada uno de estos niveles puede estar influenciado por otras vías de señalización que pueden ayudar en el proceso de progreso tumoral y que podrían explicar en algunos casos los fenómenos de resistencia al fármaco. Por lo tanto, en algunos casos podría ser necesaria la terapia combinada con fármacos que inhiban estas vías de señalización para una adecuada erradicación tumoral.

Mediante la realización de este estudio, se pretende ampliar la información científica disponible e investigar nuevas bases moleculares que expliquen la eficacia, los diferentes niveles de respuesta clínica y fenómenos de resistencia durante el tratamiento con Vismodegib.

4.2. HIPÓTESIS

- 1- ¿Hay otras vías de señalización diferentes de Hh implicadas en el inicio, desarrollo, mantenimiento y progreso del carcinoma basocelular localmente avanzado?
- 2- ¿Existe cross-talk entre éstas vías y la vía de señalización Hh?
- 3- ¿Qué tipo de interacción existe entre las vías de señalización analizadas?
- 4- ¿Qué tipo de moléculas se hayan implicadas en la respuesta clínica durante el tratamiento con vismodegib?
- 5- ¿Pueden definirse algunas moléculas implicadas en los fenómenos de resistencia (respuesta parcial/no respuesta) entre aquellos pacientes con CBCla tratados con vismodegib?
- 6- ¿Podemos relacionar algunas bases moleculares con el desarrollo de los fenómenos de transformación escamosa en pacientes tratados con vismodegib?

4.3. OBJETIVOS

- 1- Evaluar la eficacia del tratamiento con vismodegib en nuestra cohorte de pacientes.
- 2- Estudiar las moléculas/variables que puedan ayudar a determinar la eficacia de vismodegib y establecer posibles fenómenos de resistencia al fármaco.
- 3- Intentar identificar bases moleculares adicionales que ayuden a la comprensión de los niveles de respuesta (completa, parcial y no respuesta), así como fenómenos de resistencia en pacientes con carcinoma basocelular localmente avanzado tratados con vismodegib.
- 4- Intentar definir y aclarar algunas de las bases moleculares implicadas en el desarrollo de diferenciación escamosa en las biopsias de seguimiento realizadas en el curso del tratamiento.

5. DISEÑO DEL ESTUDIO

5.1. DISEÑO DEL ESTUDIO

Se trata de un estudio intervencionista y prospectivo con utilización de muestras biológicas, que ha evaluado el tratamiento con vismodegib en una cohorte hospitalaria de pacientes diagnosticados de CBCIa incluídos dentro del ensayo clínico STEVIE. Este ensayo era un estudio multicéntrico, prospectivo, no comparativo, de un solo brazo de tratamiento, fase II, promovido y patrocinado por ROCHE Pharma, en el que han participado 36 países, y en el que se han incluido 1229 pacientes con CBCIa y/o CBCm, que tenía como objetivo principal evaluar la seguridad de vismodegib en pacientes con CBCIa y/o CBCm, y como objetivos secundarios valorar la tasa de respuesta global al fármaco, tiempo hasta la respuesta y duración de la misma, tasa de supervivencia global y libre de progresión, y la calidad de vida relacionada con el tratamiento. El período de inclusión de pacientes se realizó entre Junio de 2011 y Julio de 2013.

Título del estudio: Definición de bases moleculares adicionales que ayuden a comprender la eficacia y niveles de respuesta así como fenómenos de resistencia a vismodegib en pacientes afectos de carcinoma basocelular localmente avanzado y/o metastásico mediante la recogida y procesamiento sistemático de biopsias cutáneas.

Promotor del estudio: Institut de Recerca de l'Hospital de la Santa Creu i Sant Pau – IIB Sant Pau

Centros participantes: Hospital de la Santa Creu i Sant Pau (HSCSP). Instituto Oncológico Dr. Rosell.

Investigador principal: Verónica Ruiz Salas, del servicio de Dermatología del HSCSP.

Investigadores colaboradores: Dra. Marta Alegre Fernández y Dr. Joan Ramón Garcés Gatnau, del servicio de Dermatología del HSCSP. Margarida Majem Tarruella e Ivana Sullivan, facultativas especialistas del servicio de Oncología Médica del HSCSP. Josep Isern Verdún, facultativo especialista del servicio de Oncología Radioterápica del HSCSP. Dra. Anna Mozos Rocafort, del servicio de Anatomía Patológica del HSCSP.

Investigador coordinador: Dr. Lluís Puig Sanz, Director del servicio de Dermatología del HSCSP.

Comité ético de investigación clínica: C.E.I.C. del HSCSP

Código del estudio: IIBSP-VIS-2014-22

Enfermedad a estudio: Carcinoma basocelular localmente avanzado (CBCIa)

Tratamiento y posología de administración: vismodegib en comprimidos de 150 mg administrados de forma oral y diaria.

Duración del tratamiento: El tratamiento con vismodegib se administraba de forma continuada hasta la observación de progresión de la enfermedad, desarrollo de toxicidad inaceptable relacionada con el fármaco, retirada del consentimiento por parte del paciente o fallecimiento del mismo.

Periodicidad de las visitas clínicas: 1 visita mensual durante el período de tratamiento.

Tamaño de la muestra: 15 pacientes diagnosticados de CBCla.

Período de inclusión: Noviembre 2012- Julio 2013

Número de biopsias recogidas: Durante el período de tratamiento, se han recogido un total de 50 biopsias cutáneas, con un mínimo de 2 y un máximo de 4 biopsias por paciente, con un intervalo entre ellas de un máximo de 3 meses.

Definición de variables a estudio:

Variables de evaluación genética y molecular:

- Estudio y análisis molecular de la proteína Gli de la vía Hh en las muestras cutáneas.
- Estudio y análisis de moléculas pertenecientes a otras vías de señalización que interactúan con Hh, en las muestras cutáneas: SOX2, DISP1, HHAT, HES1, NUMB, PKCi y BIM.
- Estudio de los mecanismos de interacción entre éstas vías de señalización.

Variables de evaluación patológica:

- Patrón histológico inicial y evolutivo/residual del CBC en las biopsias cutáneas: Superficial, nodular e infiltrante.
- Porcentaje de fibrosis asociada (0-100%).
- Tipo de inflamación (aguda/crónica) y grado de la misma (expresada como leve, moderada e importante).
- Presencia de diferenciación escamosa (Si/No) y grado de la misma (expresada como grado 1 [+], grado 2 [++] y grado 3 [+++]).

Variables de evaluación clínica/radiológica:

- Características objetivas relacionadas con el tumor y el fármaco:
 - Tamaño tumoral: Medición del diámetro mayor y menor (en los casos que fuera factible) pre y post-tratamiento, expresado en centímetros (cm), superficie tumoral (cm₂), obtención de fotografías en cada visita.
 - Grado de induración/infiltración tumoral mediante palpación, en cada visita.

- Realización de pruebas de imagen (TAC/RMN) con periodicidad trimestral en aquellos pacientes con evidencia radiológica inicial de invasión tumoral en profundidad y que fuera susceptible de ser medible radiológicamente.
 - Correlación de los parámetros anteriores para definir la eficacia y grado de respuesta clínica global: Tasa de respuesta global, tasas de respuesta completa, parcial, enfermedad estable y progresión tumoral; necesidad de tratamiento adyuvante; tasa de recidiva; tiempo hasta la recidiva; tiempo medio libre de progresión. Se consideraba respuesta completa si se objetivaba resolución completa tumoral mediante evaluación clínica, radiológica e histopatológica. Se consideraba respuesta parcial si se objetivaba reducción clínica y/o radiológica de hasta >30% del tamaño tumoral inicial pero con evidencia de persistencia tumoral clínica/radiológica/histopatológica.
 - Seguridad del fármaco evaluada mediante el registro de la toxicidad relacionada con éste clínicamente objetivable, en cada visita: Presencia de alopecia/ pérdida de peso, analítica de sangre.
- Características subjetivas relacionadas con el tumor y el fármaco:
- Seguridad relacionada con el fármaco evaluada mediante el registro de la toxicidad relacionada con éste clínicamente no objetivable pero referida por el paciente.
 - Sintomatología asociada referida por el paciente en el área tumoral y/o peritumoral.
 - Evaluación de la calidad de vida relacionada con el tratamiento: Con periodicidad trimestral, cada paciente completaba el cuestionario denominado Skindex-16. (ANEXO 1).

Estudio de la correlación clínica, anatomopatológica y molecular entre las variables previamente descritas.

Manejo y análisis de los datos: La creación de la base de datos, la entrada de la información, descripción del estudio y resultados se ha realizado por el investigador principal; el estudio molecular y estadístico se ha realizado por parte de Ana Drowzokj, del Instituto Oncológico Dr. Rosell, y del Dr. Ignasi Gich, del servicio de Epidemiología clínica y Estadística del HSCSP.

Aspectos éticos:

- *Evaluación beneficio-riesgo de la investigación:* La realización de este estudio no supone ningún riesgo, dado que han utilizado bloques sobrantes de las biopsias cutáneas ya recogidas como parte del seguimiento de los pacientes con la patología y el tratamiento en estudio. Tampoco existen beneficios directos derivados de la participación en este estudio, no obstante los resultados podrán ser de utilidad para ampliar la información científica disponible e investigar nuevas bases moleculares que expliquen la eficacia y los diferentes niveles de respuesta clínica durante el tratamiento con vismodegib.
- *Consideraciones sobre información a los sujetos y consentimiento informado:* El estudio se ha llevado a cabo siguiendo rigurosamente las recomendaciones éticas internacionales para investigación médica en humanos. El investigador principal garantiza que el estudio se ha realizado de acuerdo con las normas recogidas en la Declaración de Helsinki. Antes de iniciar el estudio, el Comité Ético del HSCSP ha aprobado el protocolo del estudio, la información que se dará al sujeto y el modelo de consentimiento informado que se utilizará. Ha sido responsabilidad del investigador principal obtener el consentimiento informado del paciente. Como Anexo se presenta el Modelo de Hoja de Información al Paciente y de Formulario de Consentimiento. (ANEXO 2).
- *Muestras biológicas:* En lo referente a la obtención, manejo y conservación de las muestras biológicas se ha seguido lo establecido en la Ley de Investigación Biomédica y el Real Decreto 1716/2011. Una vez finalizado el estudio las muestras biológicas serán destruidas.
- *Confidencialidad de los datos:* En lo referente a la confidencialidad de los datos del estudio se ha seguido lo establecido en la Ley Orgánica 15/1999 de 13 de diciembre, de “Protección de Datos de Carácter Personal”.

Control de calidad: El investigador principal ha garantizado la exactitud e integridad de los datos, así como de todos los informes que se le requieran. El investigador se ha comprometido a guardar los documentos del estudio hasta al menos 5 años de finalizada su realización. Ante la solicitud del monitor, auditor, CEIC o autoridad sanitaria, el investigador deberá tener disponible todos los archivos relacionados con el estudio, permitiendo el acceso directo a los datos o documentos fuente para la realización de la monitorización, la auditoria, la revisión por el CEIC, así como la inspección del ensayo por las autoridades competentes.

Limitaciones del estudio, de la fuente de información y de los métodos de análisis: El tamaño muestral es pequeño y en todos los casos se ha intentado obtener el número de biopsias explicada previamente, exceptuando aquellas situaciones en las que la recogida de la biopsia no haya sido posible por la complejidad de la lesión tumoral/contexto clínico del paciente.

Financiación del estudio: La inclusión y seguimiento de los pacientes y la recogida de las muestras cutáneas se ha realizado en pacientes que han participado en el ensayo clínico multicéntrico STEVIE patrocinado por ROCHE Pharma, dentro del HSCSP. Las biopsias cutáneas han sido evaluadas para diagnóstico anatomopatológico por el servicio de Anatomía Patológica del mismo centro. El procesamiento de las muestras para el análisis molecular y genético y la financiación necesaria para su realización han sido asumidos por el Instituto Oncológico Dr Rosell.

Plan detallado del estudio:

El estudio ha constado de una visita de screening pre-inclusión, un período variable de tratamiento, una visita de final de tratamiento y un período de seguimiento posterior de un año. La recogida de biopsias cutáneas se ha realizado de forma protocolizada en el día 1 de inicio de tratamiento, al mes, 3 y 6 meses.

Visita 0, basal o de pre-inclusión. Se recogían los siguientes parámetros:

- Datos demográficos, antecedentes patológicos y medicación concomitante no esporádica.
- Características del tumor y síntomas asociados: tiempo de evolución, momento del diagnóstico, tamaño, localización y tratamientos recibidos previamente.
- Exploración física: peso, talla, temperatura (T^a) corporal, tensión arterial (TA) y frecuencia cardiaca (FC).
- Electrocardiograma (ECG) de 12 derivaciones.
- Bioquímica sanguínea: Incluyendo glucosa, sodio, potasio, cloro, bicarbonato, urea, creatinina, creatinquinasa, bilirrubina total, fosfatasa alcalina, aspartato aminotransferasa (AST) y alanina aminotransferasa (ALT).
- Hematología: incluyendo hemoglobina, hematocrito, recuento glóbulos rojos, glóbulos blancos y plaquetas.
- En tumores medibles radiológicamente, se solicitaban pruebas de imagen (TAC/RMN) en función de la localización tumoral.
- Obtención del consentimiento informado por parte del paciente.

Periodo de tratamiento:

El día 1 o inicial del período de tratamiento se define como el primer día que el paciente comenzaba a tomar el fármaco. Un ciclo terapéutico constaba de 28 días de tratamiento y la evaluación clínica se realizaba en el correspondiente día 1 de cada ciclo, por lo tanto con periodicidad mensual.

Se recogían los siguientes parámetros:

- Exploración física tumoral: Evolución del tamaño tumoral, palpación del grado de infiltración/induración tumoral, toma de fotografías, pruebas radiológicas (TAC/RMN) en casos de tumores medibles radiológicamente con periodicidad trimestral.
- Constantes vitales (TA, T^a corporal, FC) y peso corporal.
- Hematología y bioquímica (incluyendo los parámetros anteriormente descritos en la visita 0).
- ECG 12 derivaciones.
- Registro de introducción de fármacos y/o enfermedades asociadas diagnosticadas de forma concomitante.
- Efectos adversos y calidad de vida (Skindex-16) relacionados con vismodegib.
- Recogida de biopsias cutáneas de forma protocolizada en el día 1 de tratamiento, al mes, 3 y 6 meses, de aquellas áreas tumorales sugestivas de infiltración/persistencia tumoral.
- Registro de cumplimiento terapéutico: en la visita de inicio de cada ciclo, el paciente devolvía el envase correspondiente al ciclo anterior con los comprimidos sobrantes y/o por olvido de toma.

Visita final de estudio. Se recogían los mismos parámetros correspondientes a las visitas realizadas durante el período de tratamiento.

Período de seguimiento tras finalizar el tratamiento (1 año):

- Cada paciente realizaba 5 visitas durante 1 año de seguimiento tras finalizar vismodegib: al mes, 3, 6, 9 y 12 meses.
- Se recogían los mismos parámetros y mismas pruebas que en las visitas del período de tratamiento.

6. PACIENTES Y MÉTODOS

6.1. PACIENTES

6.1.1. POBLACIÓN EN ESTUDIO

- Pacientes con CBCIa
- Pacientes con CBCm
- Pacientes con SG
- Pacientes con CBC múltiples en número ≥ 2 con historia previa de desarrollo de múltiples CBC.

De los 15 pacientes incluidos en el estudio, 10 (66,66%) presentaban CBCIa, 1 (6,66%) paciente estaba diagnosticado de SG y 3 (20%) pacientes con CBC múltiples (≥ 2), 1 de las cuales con un síndrome genético no filiado pero con historia previa de desarrollo de múltiples CBC. La caracterización de CBCIa y la indicación de vismodegib como tratamiento más adecuado para éstos casos, se realizó en base a la realización de exploración física clínica, pruebas de imagen (TAC/RMN) y la confirmación por parte del cirujano y oncólogo radioterapeuta de que la cirugía y RT eran inadecuadas, insuficientes o contraindicadas para lograr la curación del tumor, ya sea por características del propio tumor (por ej localización, fracaso de tratamientos previos) o del paciente (por ej existencia de pluripatología y calidad de vida del paciente).

6.1.2. CRITERIOS DE INCLUSIÓN

- Pacientes ≥ 18 años
- Obtención del consentimiento informado por escrito firmado.
- Los pacientes con CBCIa debían presentar al menos una lesión ≥ 10 mm de diámetro, con diagnóstico histológico confirmado de CBC y debe existir confirmación por escrito de un cirujano especialista y de un oncólogo radioterapeuta de que el tumor se considera inoperable, la cirugía y RT están contraindicadas o resultan inadecuadas.
- Los pacientes con síndrome de Gorlin podían ser incluidos en éste estudio si cumplían los requisitos especificados anteriormente para la enfermedad localmente avanzada y/o metastásica.
- Pacientes con CBC múltiples en número ≥ 2 con historia previa de desarrollo de múltiples CBC.
- Pacientes con enfermedad tumoral medible o no medible.
- Parámetros analíticos adecuados: hemoglobina $> 8,5$ g/dl, recuento de granulocitos $\geq 1000/\mu\text{L}$, recuento plaquetario $\geq 75000/\mu\text{L}$, AST y ALT con valores ≤ 3 veces su valor normal, bilirrubina total $\leq 1,5$.

- Para mujeres premenopáusicas, el uso de 2 métodos anticonceptivos adecuados, incluyendo uno de alta eficacia y un método barrera, durante el período de tratamiento y al menos 24 meses después de haberlo finalizado.
- Esperanza de vida >12 semanas.
- Test de gestación negativo 7 días antes del inicio de tratamiento, en mujeres premenopáusicas.

6.1.3. CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

- Embarazo o lactancia.
- Tratamiento antitumoral concomitante (quimioterapia, RT, otras dianas antitumorales terapéuticas, TFD) y participación en otro ensayo clínico experimental con otros fármacos.
- Haber recibido un tratamiento antitumoral reciente en un período menor de 21 días antes de comenzar con vismodegib.
- Enfermedad grave asociada no controlable.
- Presencia de enfermedad, disfunción metabólica, hallazgo analítico o en la exploración física que contraindicase el empleo de un fármaco experimental, que pudiera interferir con la interpretación de los resultados del estudio o que el paciente se encuentre en alto riesgo de desarrollo de complicaciones severas por el tratamiento.
- Pacientes con una de las siguientes enfermedades raras hereditarias: intolerancia a la galactosa, hipolactasia primaria o malabsorción glucosa-galactosa.

6.1.4. CARACTERÍSTICAS DE LOS PACIENTES A ESTUDIO

La **Tabla 15** recoge de forma resumida los datos basales de los 15 pacientes estudiados, que incluyen tipo, localización y tamaño tumoral, tiempo de evolución y tratamientos previos realizados.

PACIENTE 1

Paciente varón de 87 años con antecedentes patológicos (AP) de Hipertensión arterial (HTA) y Parkinsonismo en tratamiento con levodopa, dutasteride, ácido acetilsalicílico, amelorida y omeprazol, que fue diagnosticado en abril 2011 de CBCi extenso que ocupaba todo el área del hélix y retroauricular derecha con invasión de cartílago auricular. Como tratamiento inicial recibió RT (dosis total 39 Gy) con respuesta parcial. En el momento del estudio, se trataba de un CBCi persistente de 8 x 7 cm, por lo que dada la extensión e invasión tumoral y persistencia tumoral tras RT, se consideró que la cirugía y/o una nueva RT en éste paciente de edad avanzada estaban contraindicadas, ya que la cirugía podría resultar muy mutilante y no curativa, y la RT insuficiente por la existencia de persistencia tumoral tras una primera sesión. Por ello, con el diagnóstico de CBCIa, se inició tratamiento con vismodegib 150 mg/d en noviembre 2012.

PACIENTE 2

Paciente mujer de 64 años con AP de síndrome genético todavía no filiado con desarrollo de CBC múltiples desde 1995, HTA y adenocarcinoma de endometrio tratado mediante cirugía hacía años, en tratamiento con enalapril, bromazepam, paroxetina y calcio. En el momento de inicio del estudio la paciente presentaba múltiples CBC, el de mayor tamaño localizado a nivel malar izq de 3 x 3 cm, que había recidivado tras cirugía y RT previas. Por tratarse de una paciente con CBC múltiples ≥ 2 , uno de ellos recidivado tras una cirugía y una pauta de RT previas, se consideró que una nueva cirugía y/o RT estaban contraindicadas por resultar insuficientes y/o inadecuadas por persistencia tumoral, por lo que se inició vismodegib a dosis de 150 mg/d en noviembre 2012.

PACIENTE 3

Paciente mujer de 96 años con AP alergia a penicilina, HTA, dislipemia (DLP), anemia de trastornos crónicos y osteoporosis, en tratamiento con simvastatina, valproato, furosemida, hierro y factor IXa plus, que fue diagnosticada en abril 2010 de CBCi extenso localizado en canto interno de ojo izquierdo, que fue tratado ese mismo año mediante CMM y RT adyuvante (dosis total 20 Gy). En el momento del estudio, se trataba de un CBCi de 3 x 3 cm persistente tras varios tratamientos previos; en ésta paciente de edad avanzada, se consideró contraindicada la realización de una nueva cirugía y/o RT por considerarse insuficientes y/o inadecuadas, al tratarse de una persistencia tumoral. Por ello, con el diagnóstico de CBCIa, se inició vismodegib a dosis de 150 mg/d en diciembre 2012.

PACIENTE 4

Paciente mujer de 69 años con AP de portadora del virus de la hepatitis C (VHC+) por lo que no se encontraba en tratamiento, que fue diagnosticada en noviembre 1992 de CBCi extenso de localizado en cavidad nasal, que fue tratado mediante múltiples cirugías y varias pautas de RT. En el momento del estudio, se trataba de un CBCi de 3,5 x 3,5 cm (área externa medible) persistente con evidencia de infiltración por TAC del apéndice nasal y de los huesos del reborde orbitario medial e inferior con extensión por el suelo de la órbita hasta la apófisis cigomática izquierda. Por ello, en éste caso se consideró contraindicada la realización de más cirugías y/o RT por resultar insuficientes y/o inadecuadas dada la persistencia tumoral, y con el diagnóstico de CBCla se inició tratamiento con vismodegib a dosis 150 mg/d en diciembre 2012.

PACIENTE 5

Paciente mujer de 84 años con AP de HTA y trastorno bipolar en tratamiento con donezepilo, amlodipino, litio, ramipril y citalopram. La paciente tenía historia de desarrollo de CBC múltiples desde hacía >20 años, y en el momento de inicio del estudio presentaba 3 CBCi localizados a nivel dorsal central, escápula derecha y mandibular derecha, siendo éste último el de mayor tamaño de 1,5 x 1 cm. Con el diagnóstico de CBC múltiples ≥ 2 en una paciente con historia previa de CBC, se inició vismodegib a dosis de 150 mg/d en febrero 2013.

PACIENTE 6

Paciente varón de 33 años diagnosticado de SG, con historia de desarrollo de múltiples CBC, sobre todo faciales. En el momento de inicio del estudio, presentaba CBC múltiples (>5), sobre todo localizados en la cara, algunos con aspecto de CBCs, siendo el de mayor tamaño un CBCi supraciliar izquierdo, de 1 x 1 cm. Con el diagnóstico de SG y presencia de CBC múltiples ≥ 2 , se inició tratamiento con vismodegib a dosis de 150 mg/d en enero 2013.

PACIENTE 7

Paciente varón de 71 años sin AP de interés, que fue diagnosticado en diciembre 2012 de CBCi extenso de 6 x 4 cm con evidencia de fijación a planos profundos por palpación clínica, localizado en área malar derecha. En éste caso se consideró que la cirugía y/o RT estaban contraindicadas por resultar muy mutilantes e insuficientes por ser potencialmente no curativas, por lo que con el diagnóstico de CBCla se inició vismodegib a dosis de 150 mg/d en enero 2013.

PACIENTE 8

Paciente mujer de 86 años monorrena congénita, con AP de HTA, Parkinsonismo e Hipertiroidismo en tratamiento con levodopa, rotigotina, amlodipino y omeprazol. La paciente fue diagnosticada en noviembre 2011 de 2 CBCi, el de mayor tamaño localizado en vestíbulo nasal y columela nasal derecha de 1,5 x 1,5 cm, que, en el momento del estudio, había recidivado tras una pauta de RT (dosis total 56 Gy) realizada el mismo año y otro CBCi pretibial derecho de 1 x 1 cm. Por tratarse de una paciente de edad avanzada y un CBCi recidivado, se consideró que un segundo tratamiento mediante cirugía y/o RT estaban contraindicadas porque podrían resultar muy mutilantes e insuficientes, por lo que con el diagnóstico de CBCla se inició tratamiento con vismodegib a dosis de 150 mg/d en marzo 2013.

PACIENTE 9

Paciente mujer de 71 años sin AP de interés que fue diagnosticada en enero 2004 de CBCi extenso de localizado en el área de pared lateral nasal izquierda y ala nasal izquierda, que fue tratado mediante múltiples tratamientos quirúrgicos. En el momento del estudio se trataba de un CBCi recidivado de 2,5 x 1,5 cm en dicha localización. En este caso, se consideró contraindicada la realización de otra cirugía y/o pauta RT por resultar insuficientes para lograr la resolución tumoral, por lo que, con el diagnóstico de CBCla se inició tratamiento con vismodegib a dosis de 150 mg/d en abril 2013.

PACIENTE 10

Paciente mujer de 86 años con AP de HTA, DLP y Glaucoma en tratamiento con latanoprost colirio, valsartán, pravastatina, hidroclorotiazida, amitriptilina y lorazepam que fue diagnosticada en enero 2006 de CBCi localizado en canto interno ojo izquierdo que fue tratado mediante cirugía ese mismo año. En el momento del estudio se trataba de CBCi recidivado de 1x1 cm con evidencia de infiltración por TAC del hueso frontal y huesos propios de la nariz. En éste caso, dado que se trataba de una paciente de edad avanzada y una recidiva tumoral con presencia de invasión de estructuras óseas, se consideró contraindicada la realización de otra cirugía y/o pauta de RT por resultar insuficientes para la curación completa del tumor, por lo que con el diagnóstico de CBCla se inició tratamiento con vismodegib a dosis de 150 mg/d en abril 2013.

PACIENTE 11

Paciente varón de 95 años con AP de HTA, DLP y cardiopatía isquémica (CI) en tratamiento con ácido acetilsalicílico, simvastatina, nitroglicerina parche y atenolol que fue diagnosticado en febrero 2013 de un CBCi extenso de 10x8 cm localizado en región torácica anterior derecha con evidencia de infiltración por TAC de grasa subcutánea y musculo pectoral derecho. Por tratarse de un paciente de edad avanzada y dada la extensión e invasión tumoral, se consideraron contraindicadas la cirugía y/o RT por resultar muy destructivas y/o insuficientes para lograr la resolución completa tumoral. Por ésto y con el diagnóstico de CBCla se inició tratamiento con vismodegib a dosis de 150 mg/d en abril 2013.

PACIENTE 12

Paciente varón de 71 años con AP de HTA, DLP y litiasis renal izquierda en tratamiento con simvastatina, enalapril y ácido acetilsalicílico. El paciente tenía historia de desarrollo de CBC múltiples desde hacía >10 años. En el momento del estudio presentaba 2 CBC, localizados en dorso mano izquierda y región torácica anterior, siendo éste último el de mayor tamaño de 1x5x1 cm. Con el diagnóstico de CBC múltiples en un paciente con historia previa de CBC, se inició tratamiento con vismodegib a dosis de 150 mg/d en mayo 2013.

PACIENTE 13

Paciente varón de 72 años con AP de HTA, diabetes mellitus (DM), enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), CI, fibrilación auricular, insuficiencia renal crónica, neoplasia de colon tratada mediante hemicolectomía derecha y nódulo pulmonar en lóbulo izquierdo inferior a estudio, en tratamiento con aldocumar, ácido acetilsalicílico, amlodipino, hidralazina, valsartan, atorvastatina, furosemida, aldactone, alopurinol, darbepoetin y pantoprazol. El paciente fue diagnosticado en enero 2004 de CBCi localizado en dorso nasal, que había sido tratado mediante varios tratamientos quirúrgicos y pautas de RT. En el momento del estudio se trataba de un CBCi recidivado de 1,5x1,5 cm en dicha localización. Dada la condición de recidiva tumoral en un paciente que había recibido varios tratamientos previos, se consideraron contraindicadas la cirugía y/o RT por resultar insuficientes para lograr la resolución completa tumoral. Por esto y con el diagnóstico de CBCi, se inició tratamiento con vismodegib a dosis de 150 mg/d en mayo 2013.

PACIENTE 14

Paciente mujer de 68 años con AP de alergia a penicilina y voltarén, HTA y DLP en tratamiento con metformina y simvastatina. La paciente fue diagnosticada en enero 2002 de CBCi extenso localizado a nivel malar izquierdo, que fue tratado mediante RT. En el momento del estudio, se trataba de un CBCi recidivado de 2,5x2 cm en dicha localización con evidencia de infiltración por RMN del espacio bucinador que profundizaba hasta la pared anterior del seno maxilar sin clara infiltración ósea pero con hallazgos que sugerían la infiltración perineural del nervio infraorbitario y segunda rama del trigémino. Por tratarse de un tumor recidivado y dada la invasión tumoral, se consideró contraindicada la realización de cirugía y/o nueva pauta de RT por resultar muy destructivas y/o insuficientes. Con el diagnóstico de CBCi, se inició tratamiento con vismodegib a dosis de 150 mg/d en julio 2013.

PACIENTE 15

Paciente varón de 52 años con AP de hepatopatía crónica VHC+ por la que había recibido tratamiento con rivabirina durante 1 año. El paciente fue diagnosticado en enero 2011 de CBCi extenso localizado a nivel malar derecho que había sido tratado mediante varias cirugías. En el momento del estudio, se trataba de un CBCi recidivado de 5,5 x 3 cm en dicha localización con evidencia de infiltración por RMN de los músculos bucinador y zigomático derechos. Dada la invasión tumoral y por tratarse de un CBC recidivado después de varios tratamientos quirúrgicos previos, se consideró que la realización de una nueva cirugía y/o RT estaban contraindicadas porque resultarían insuficientes, por lo que con el diagnóstico de CBCIa, se inició tratamiento con vismodegib a dosis de 150 mg/d en julio 2013.

Tabla 15. Características basales de los pacientes estudiados.

Paciente	Sexo	Edad (años)	Tipo tumoral	Localización del tumor	Tamaño tumoral (cm) Φ mayor x Φ menor	Tiempo de evolución (meses o años)	Tratamientos previos
1	V	87	CBCIa	Hélix y retroauricular derecho	8 x 7	18 meses	RT
2	M	64	Múltiples CBC (s. genético no filiado)	El de mayor tamaño malar izquierdo	3 x 3	1990	Cirugía + RT
3	M	96	CBCIa	Canto interno ojo izquierdo	3 x 3	30 meses	Cirugía(CMM)+ RT
4	M	69	CBCIa	Ala nasal y endonasal izquierdo	3,5 x 3,5	20 años	Cirugía + RT
5	M	84	Múltiples CBC	El de mayor tamaño mandibular izquierdo	1,5 x 1	2 meses	No
6	V	33	SG	El de mayor tamaño supraciliar izquierdo	1 x 1	12 meses	IQ
7	V	71	CBCIa	Malar Derecho	6 x 4	2 meses	No
8	M	86	CBCIa	Columnela nasal derecha	1,5 x 1,5	15 meses	RT
9	M	71	CBCIa	Pared lateral nasal y ala nasal izquierda	2,5 x 1,5	9 años	Cirugías múltiples
10	M	86	CBCIa	Canto interno ojo izquierdo	1 x 0,7	7 años	IQ
11	V	95	CBCIa	Región torácica Derecha	10 x 8	2 meses	No
12	V	71	Múltiples CBC	El de mayor tamaño pectoral anterior	1,5 x 1	3 meses	No
13	V	72	CBCIa	Dorso nasal	1,5 x 1,5	9 años	Cirugía + RT
14	M	68	CBCIa	Malar izquierdo	2 x 2,5	11 años	RT
15	V	52	CBCIa	Malar Derecho	5,5 x 3	2 años	IQ

Abreviaturas: CBC: Carcinoma basocelular; CBCIa; Carcinoma basocelular localmente avanzado; CMM: cirugía micrográfica de Mohs; RT: Radioterapia; SG: síndrome de Gorlin; Φ : Diámetro

6.2. MÉTODOS

6.2.1. TRATAMIENTO

Vismodegib se presentaba en forma de comprimidos de 150 mg cada uno, de administración oral, en un envase de plástico que contenía el tratamiento necesario para 1 ciclo terapéutico (28 comprimidos).

6.2.2. OBTENCIÓN DE LAS MUESTRAS CUTÁNEAS

Las biopsias cutáneas se obtenían bajo anestesia local (50% mepivacaína + 50% bupivacaína) y mediante punch de 3-4 milímetros (mm), al inicio del tratamiento y en el curso del mismo. Se obtuvieron un total de 51 biopsias en 15 pacientes; 9 pacientes (pacientes nº 1, 2, 3, 6, 7, 11, 12, 14 y 15) completaron la obtención protocolizada de 4 biopsias (al inicio del tratamiento, al mes, 3 y 6 meses); de 4 pacientes se obtuvieron únicamente 2 biopsias por paciente: en 3 (pacientes nº 5, 10 y 13) al inicio de tratamiento y al mes, ya que suspendieron el fármaco al mes de haber iniciado el fármaco, y en 1 paciente (paciente nº 8) se obtuvo únicamente la biopsia de inicio de tratamiento por resolución completa de la lesión tumoral tras 1 primer ciclo terapéutico; en 1 paciente (paciente nº 4) que presentaba CBCIa que ocupaba la cavidad nasal con invasión de paredes orbitarias se obtuvo únicamente 1 biopsia al inicio del tratamiento y no se realizaron las sucesivas por dificultad de acceso para su realización; en 1 paciente (paciente nº 9) se obtuvieron 4 biopsias cutáneas: 3 correspondientes al inicio de tratamiento, al mes y 3 meses y la otra resultante de la exéresis de un carcinoma escamoso que presentó de forma concomitante al inicio del tratamiento con vismodegib. En los pacientes con múltiples CBC, las biopsias se recogían de la lesión de mayor tamaño.

6.2.3. PROCESADO DE LAS MUESTRAS

Cada muestra de 3-4 mm se dividía en 2 mitades iguales en el servicio de Anatomía patológica. De una mitad se realizaban 4 secciones verticales para tinción en hematoxilina-eosina (H-E) y estudio histopatológico. La otra mitad era fijada en formaldehído e incluida en parafina y guardada en un archivador a temperatura ambiente para su procesamiento posterior para estudio genético y molecular.

6.2.4. DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LAS MOLÉCULAS ESTUDIADAS Y SU RELACIÓN CON HH.

HES1

El factor de transcripción HES1 es una proteína codificada por el gen *Hes1*, homólogo en mamíferos del gen *hairy* de la *Drosophila*. *Hes1* es uno de los 7 miembros de la familia de genes *Hes* (*HES1-7*) que codifican proteínas nucleares que actúan como supresoras de la transcripción y es un efector de la vía de señalización Notch. HES1 pertenece a la familia de factores de transcripción represores transcripcionales hélix-loop-helix (bHLH), que influyen en la proliferación y diferenciación celular durante la embriogénesis. Concretamente, HES1 juega un papel importante en el desarrollo y diferenciación del sistema nervioso y digestivo, parcialmente a través de la vía de señalización Notch ⁽²³³⁾. La activación de ésta vía promueve la expresión de HES1 mientras que la inhibición de Notch, inactiva HES1. De hecho, la diana terapéutica mejor documentada de la vía Notch es *Hes-1*. Notch participa en una gran variedad de procesos celulares incluyendo el mantenimiento de células troncales, especificación del destino celular, diferenciación, consolidación de diferencias entre células adyacentes, proliferación y apoptosis, por lo que posee efectos pleiotrópicos en diferentes órganos. Sus tres efectos principales son: el mantenimiento de las células troncales o precursoras en un estado no diferenciado, la influencia en las decisiones del destino celular, ya sea a través de la vía lateral o bien por una vía inductora dependiente de la cantidad de receptor-ligando expresado en la membrana, y la habilidad de influenciar la diferenciación y la progresión del ciclo celular. Ejemplo de ello es el sistema nervioso, en el cual Notch promueve la diferenciación de varios tipos celulares de la glia incluyendo astrocitos, células de Schwann, células de Müller y células radiales ⁽²³⁴⁾. También contribuye a la adquisición del fenotipo de transición epitelio-mesénquima (EMT), implicado en la recurrencia tumoral y resistencia a fármacos y es un proceso altamente coordinado por el cual las células epiteliales pierden muchas o la mayoría de sus características y asumen propiedades que son típicas de las células mesenquimales. Este proceso es crucial durante el periodo embrionario, e incluye cambios como pérdida de conexión y polaridad celular y adquisición de propiedades migratorias e invasivas. Sin embargo, una EMT aberrante en el período embrionario y en la edad adulta contribuye al inicio, desarrollo e invasión tumoral, metástasis y resistencia a fármacos ⁽¹³³⁾. Las vías que se encuentran mayoritariamente implicadas en éste proceso son Notch, Wnt, Hh y TGF- β , a través de la activación de diversos factores de transcripción como Twist, Snail, Slug y ZEB ⁽³³⁵⁾. El receptor Notch es una proteína transmembrana que para llegar a ser funcional en su dominio extracelular, requiere que tras su síntesis sea objeto de un clivaje y se transforme en un heterodímero que posteriormente migre a la superficie celular para convertirse en receptor maduro. En mamíferos hay 4 receptores Notch 1-4 y 5 ligandos canónicos del tipo Delta-Scrrate-Lag (DSL), *Jag1* y *Jag2*, y Delta like 1,2 y 4 (*Dll1*, *Dll2*, *Dll4*). Esto genera una amplia combinación receptor-ligandos con múltiples respuestas distintas. El receptor mejor estudiado es Notch1 y se halla implicado principalmente en el proceso de neurogénesis, hematopoyesis y vasculogénesis, Notch-2 en la morfogénesis dental, Notch-3 en neurogénesis y adipogénesis, y Notch-4 en el desarrollo vascular, renal y hepático. Tras la unión del ligando, el fragmento intracelular Notch (NICD) se libera en el

citoplasma y es transportado al núcleo donde forma un complejo con diversas proteínas como EP00 y la histona acetiltransfera y actúa como factor de transcripción de diferentes genes, entre ellos Hes y Hey, cuyos productos actúan como represores de la transcripción de diferentes factores de transcripción específicos de tejido, manteniendo así el potencial de la célula para su autor-renovación. El tipo de tejido, localización y naturaleza de la mutación en la vía Notch es lo que va a determinar el comportamiento de este tumor y la respuesta a fármacos. En tumores sólidos el papel de Notch-1 no está tan bien caracterizado, pudiendo actuar como supresor u oncogénico. A nivel epidérmico, Notch estimula la expresión de marcadores de diferenciación y reduce la proliferación celular a través de la activación de Notch-1, de tal manera que en queratinocitos se ha caracterizado como supresor tumoral, protegiendo a ésta célula de la transformación mediada por fármacos o radiación UV. Se ha demostrado que Notch y Hh interactúan en las células neurales y del mesodermo, de manera que la sobreexpresión de Hes1 mediada por Sh parece ser dependiente de Smo. La señalización Hh también parece inducir la expresión del ligando de Notch Jag2⁽²³⁶⁾.

NUMB

Es una proteína codificada por el gen Numb, que desempeña un papel fundamental en la determinación de destinos celulares durante el desarrollo embrionario. Se ha estudiado de forma amplia en invertebrados y mamíferos pero su mecanismo molecular se entiende mejor en la *Drosophila*, donde juega un papel crucial en la división celular asimétrica durante el desarrollo, lo que permite la especificación diferencial del destino celular en el sistema nervioso central y periférico. Durante la división celular, NUMB se localiza de forma asimétrica en un extremo de la célula progenitora de manera que juega un papel clave en las decisiones de destino celular binarios tras las divisiones celulares asimétricas. La célula “hija” receptora de NUMB es capaz de adoptar un destino neuronal y conducir el desarrollo del sistema nervioso. La otra célula adopta el papel de la “célula madre progenitora” de forma que mantiene y asegura la proliferación. NUMB antagoniza Notch principalmente por 2 mecanismos moleculares: mediante la ubiquitinización del receptor activo Notch, que consiste en la endocitosis y posterior degradación del mismo, y mediante la modificación de una proteína denominada Sanpodo. Sanpodo se encuentra en la membrana plasmática y es necesaria para la activación Notch, promoviendo la escisión del receptor y la señalización NICD en el núcleo. NUMB convierte a Sanpodo de activador a inhibidor de Notch, modificando e incrementando las diferencias de señalización Notch entre las células “hijas”⁽³³⁷⁾.

AXL y Gas6

Es una proteína perteneciente a la familia de receptores tirosin-quinasa que se halla implicada en fenómenos de supervivencia y adhesión celular, quimiotaxis y la función de los vasos sanguíneos. La activación de AXL sucede tras su unión a Gas6 (factor de detención del crecimiento específico-6) cuya carboxilación es dependiente de vit K y es necesaria para su actividad y unión al receptor. AXL se encuentra disregulado en diversos tipos de cáncer, como el cáncer de colon, leucemia, melanoma, cáncer de mama y páncreas, y su expresión se ha relacionado con la caracterización de un fenotipo

tumoral agresivo, favoreciendo la progresión y las metástasis. Por ejemplo, su expresión es esencial como reguladora del proceso EMT en el cáncer de mama y páncreas, prediciendo y determinando una pobre supervivencia. Todavía no se conoce muy bien esta vía por lo que resulta difícil establecer estrategias terapéuticas que interfieran con la misma ⁽³³⁸⁾.

DISP1 (Dispatched homólogo-1)

La proteína DISP1 está codificada por el gen del mismo nombre y actúa como reguladora de la vía Hh a diversos niveles. Principalmente modula la liberación y acumulación extracelular modificada por colesterol de proteínas Hh, y por lo tanto es un factor importante en la consecución de una señalización Hh efectiva ⁽³³⁹⁾.

BIM

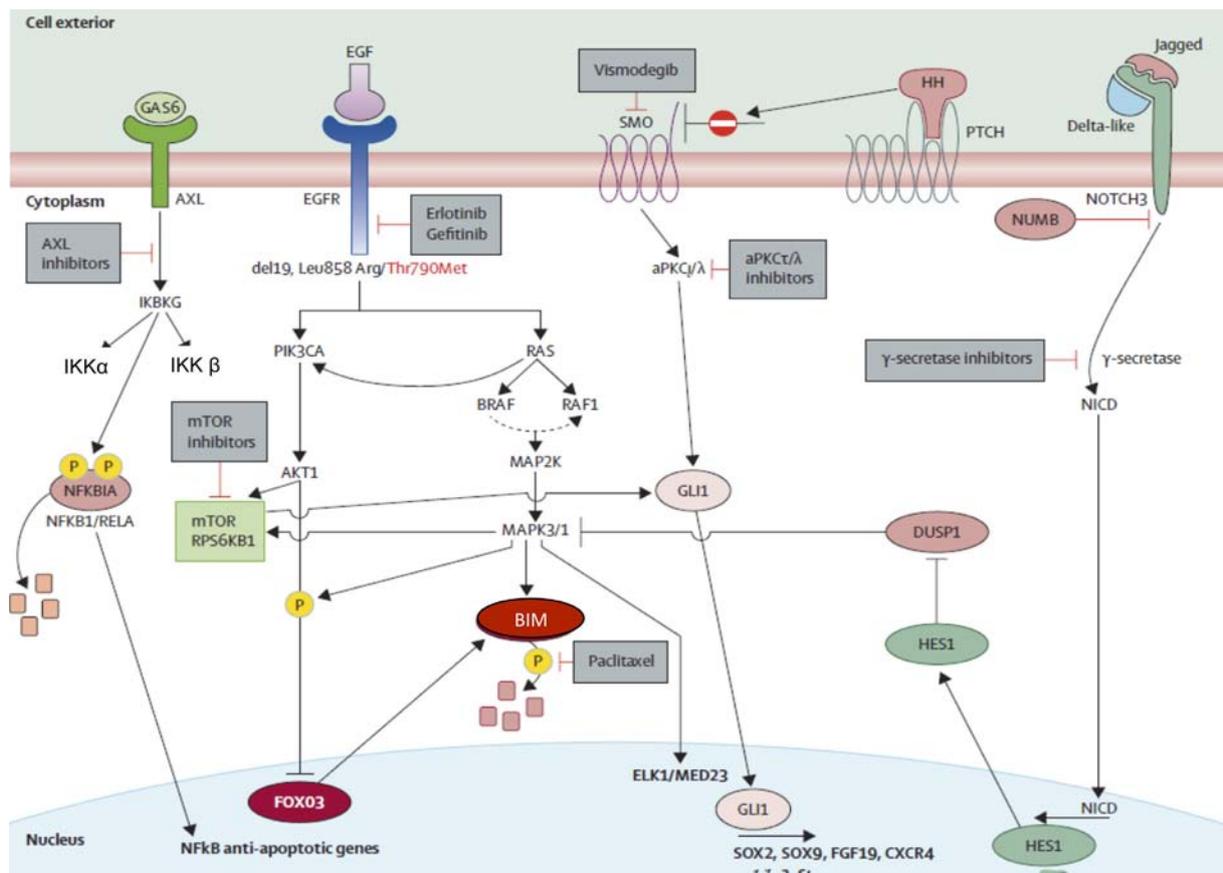
Es una proteína pro-apoptótica, codificada por el gen del mismo nombre localizado en el cromosoma 2q13, y que forma parte de la familia de proteínas Bcl-2. Interactúa con otras proteínas de éste grupo, incluyendo BCL2, Bcl2l1/BCL-X (L), y MCL1. Su expresión puede ser inducida por el factor de crecimiento nervioso (NGF), así como por el factor de transcripción forkhead FKHR-L1, lo que sugiere un papel en la apoptosis neuronal y de linfocitos. En mamíferos existen 2 vías de señalización apoptóticas o de muerte celular programada: una vía intrínseca y una extrínseca, y ambas convergen en la activación de la cascada de caspasas. Sabemos que la apoptosis es esencial para el mantenimiento de la homeostasis inmune y determinar la respuesta inmunitaria pero la contribución concreta de cada una de éstas vías a la apoptosis no está muy bien documentada. La vía extrínseca se inicia por la unión de determinados ligandos de muerte celular, como Fas y la vía intrínseca se inicia con la activación de genes pro-apoptóticos como BIM en respuesta a diversos estímulos citotóxicos como la deprivación de citocinas ⁽³⁴⁰⁾.

PRKCI, SOX2 Y HHAT

PRKCI y SOX2 son 2 oncogenes coamplificados en el cromosoma 3q26, que se encuentran sobreexpresados en el carcinoma escamoso de pulmón no de células pequeñas y que cooperan en la génesis de un fenotipo stem-like, favoreciendo la progresión, metástasis y conduciendo a un peor pronóstico de la enfermedad. La amplificación del cromosoma 3q26 es una de las alteraciones cromosómicas más frecuentes en el cáncer humano y se encuentra en muchos tipos de tumores como el carcinoma escamoso de pulmón, carcinoma seroso de ovario, cervical, cabeza y cuello y esófago. El gen HHAT codifica una enzima que cataliza la palmitoilación N-terminal de Sh y las mutaciones en éste gen generan un fenotipo que es similar a las que ocasionan las mutaciones denominadas pérdida-de-función de la vía Hh. La sobreexpresión aislada de SOX y PRKCI actúa de forma débil en la transformación oncogénica, sin embargo se encuentran frecuentemente coamplificados y coordinados entre sí junto a Hh para el desarrollo y proliferación tumoral. La fosforilación de SOX2 mediada por la protein-kinasa C α (PKC α), que es un producto de la expresión de PRKCI, es necesaria para la activación de HHAT, de tal manera que la interacción PKC α -SOX2-HHAT actuaría de forma sinérgica y coordinada en la progresión tumoral ⁽³⁴¹⁾.

En líneas generales, la evolución natural de todos los marcadores en relación al tratamiento con vismodegib sería el descenso de sus niveles de forma más o menos paralela a como lo realizan los marcadores de la vía Hh, si la respuesta al tratamiento es buena. De todos ellos, SOX2 sería el más relacionado con una posible diferenciación-transformación escamosa.

Figura 6. Resumen de la interacción entre las diferentes moléculas estudiadas y la vía Hh ⁽³⁴²⁾.



6.2.5. METODOLOGÍA ESTADÍSTICA

6.2.5.1. ESTUDIO DE LOS PACIENTES

Bases de datos: Con todos los resultados clínicos y patológicos se crearon bases de datos con el programa Excel 2007.

Estadística descriptiva: Para las variables categóricas se calculó el porcentaje (%) y número de casos (n); para las variables cuantitativas, se facilitó la media aritmética, así como el rango y la desviación estándar (DE).

Estadística inferencial: Para evaluar el posible cambio de la superficie tumoral, se empleó la “t” para datos apareados, así mismo se repitió la comparación con el equivalente no paramétrico (test de Wilcoxon). Para la comparativa del tiempo de tratamiento entre los diferentes grupos de respuesta, se empleó el análisis de la varianza (ANOVA). El tiempo de supervivencia global, se evaluó mediante las gráficas de Kaplan-Meier, y la comparativa con el test de log-rank.

Significancia estadística: Si el análisis estadístico mostraba una $p < 0,05$ se consideró que las diferencias detectadas eran estadísticamente significativas. Programa estadístico: El programa empleado para todos los análisis ha sido el paquete estadístico IBM-SPSS (V 22.0).

6.2.5.2. ESTUDIO MOLECULAR Y GENÉTICO

El análisis de la expresión génica de SOX2, DISP1, HHAT, HES1, NUMB, PKCi, Gli1 and BIM se realizó sobre ARN aislado de las biopsias cutáneas, concretamente de acuerdo con el procedimiento propietario (European patent number EP1945764-B1). Las muestras cutáneas fueron procesadas para la obtención del ARN mediante EDTA, sulfato de sodio dodecil (SDS) y proteinasa K. El ARN se extrajo con alcohol fenol-cloroformo-isoamil, seguido de precipitación con isopropanol en presencia de glicógeno y acetato de sodio. El ARN fue re-suspendido en agua y tratado con DNasa para evitar contaminación. El ADNc fue sintetizado mediante el enzima M-MLV retrotranscriptasa. La plantilla de cADN fue añadida a Taqman Universal Master Mix (Applied Biosystems) en una reacción de 12.5 μ l con cebadores y sondas específicos para cada gen. Los sets y cebadores de sondas para SOX2, DISP1, HHAT, HES1, NUMB, PKCi, Gli1 and BIM son diseñados utilizando el software Primer Express 3.0 (Applied Biosystems) software de acuerdo con la referencia (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/LocusLink>). La cuantificación de la expresión génica fue calculada según el método comparativo Ct. Los resultados finales fueron determinados de esta manera: $2^{-(\Delta Ct_{\text{sample}} - \Delta Ct_{\text{calibrator}})}$, donde los valores ΔCt del calibrador y de la muestra se determinan sustrayendo el valor Ct del gen diana del valor del gen endógeno (β -actin). Se utilizaron controles comerciales de ARN como calibradores (Liver and Lung; Stratagene, La Jolla, CA, USA). En experimentos

cuantitativos, una muestra se considera como no evaluable cuando la desviación estandar del valor Ct es $>0,30$ en 2 análisis independientes.

Estadística descriptiva: Para expresar la distribución de los valores de expresión de ARNm de cada biomarcador en los diferentes momentos de recogida de las muestras cutáneas se calculó la media aritmética, DE, mediana, rango y cuantiles Q1 y Q3.

Estadística inferencial: Para el cálculo de la correlación entre biomarcadores como variables continuas se empleó el coeficiente de correlación de Pearson. Para evaluar la correlación entre los diferentes biomarcadores y la respuesta al tratamiento así como los niveles de respuesta, se utilizó el test exacto de Fisher, calculando la mediana y definiendo el nivel de expresión del biomarcador como bajo si el valor era $<Q33$, intermedio si el valor se encontraba en el intervalo $[Q33, Q66]$ y alto si el valor era $\geq Q66$.

El cálculo de la supervivencia global y supervivencia libre de progresión se realizó mediante la curva de Kaplan-Meier y la correlación entre la expresión de los diferentes biomarcadores y la supervivencia global y supervivencia libre de progresión mediante la regresión de Cox.

7. RESULTADOS

7.1. CARACTERÍSTICAS BASALES

Nº de pacientes, sexo y características del CBC: Entre Noviembre 2012 y Julio 2013 se incluyeron 15 pacientes, 8 mujeres (53,3%) y 7 varones (46,7%) diagnosticados de CBC y candidatos a recibir tratamiento con vismodegib. De éstos 15 pacientes, 11 (73,33%) presentaban CBCIa, 1 paciente (6,66%) estaba diagnosticado de SG y 3 pacientes (20%) tenían CBC múltiples (≥ 2), 1 de las cuales con un síndrome genético no filiado pero con historia previa de desarrollo de múltiples CBC.

Edad media de los pacientes: La edad media de los pacientes era de 73,67 años (rango 33-96, DE 16, 55).

Pruebas de imagen: En 5 pacientes evaluados como CBCIa, se confirmó la presencia de invasión de estructuras vecinas en profundidad (músculo, hueso o cartílago subyacente) mediante TAC (pacientes nº 4,10 y 11) y RMN (pacientes nº 14 y 15).

Tratamientos previos:

- De los 15 pacientes, 12 (80%) habían recibido algún tratamiento previo (cirugía, RT, cirugía + RT), mientras que 3 pacientes (20%) no habían sido tratados.
- De los 11 pacientes con CBCIa, 9 (81,81%) habían recibido algún tratamiento previo: 2 (18,18%) únicamente RT (nº 1 y 14), 4 (36,36%) cirugía y RT (nº 2,3,4 y 13) y 3 (27,27%) únicamente cirugía (nº 9,10 y 15). 2 pacientes (18,18%) no habían recibido ningún tratamiento previo a vismodegib (nº 7 y 11).
- De los 4 pacientes con CBC múltiples, 1 (25%) había recibido cirugía y RT (nº 2), 1 (25%) RT (nº 8) y 2 pacientes (50%) no habían recibido ningún tratamiento previo (nº 5 y 12).
- El paciente con SG (nº 6) había realizado cirugía previa con recurrencia tumoral.

Tiempo de evolución del CBC: El tiempo de evolución medio (meses) desde el diagnóstico del CBC hasta el inicio de vismodegib fue de 65,66 meses (rango 1-240, DE 75,13).

Tamaño y superficie tumoral pre-vismodegib: La media del diámetro tumoral mayor antes de iniciar vismodegib fue de 3,47 cm (rango 1-10, DE 2,72) y del menor de 2,78 cm (rango 1-8, DE 2,18). La superficie tumoral media antes del inicio de vismodegib fue de 11,76 cm² (rango 0.5-62,83, DE 18,03).

Tipo histológico de CBC: El tipo histológico mayoritario en las 15 biopsias previas al inicio del tratamiento fue de CBCi; en 2 pacientes (13,33%) con múltiples CBC (n° 8 y 12) la biopsia inicial mostró un patrón histopatológico de CBCn. El porcentaje medio de fibrosis presente en la biopsia inicial fue de 31,33% (rango 0-80%, DE), con presencia de inflamación crónica grado 1 (+) en 2 pacientes (13,33%) (n° 1 y 11) y diferenciación escamosa grado 1 (+) en 4 pacientes (26,66%) (n° 2, 6, 12 y 13).

7.2. HALLAZGOS HISTOPATOLÓGICOS EN LAS BIOPSIAS DE SEGUIMIENTO

Estudio histopatológico en biopsias realizadas al mes de inicio de tratamiento con vismodegib: De las 14 biopsias realizadas, no había evidencia de focos tumorales en 5 pacientes (33,33%) (nº 3, 8, 10, 12 y 15), se objetivaba persistencia de CBC con histología mayoritariamente infiltrante en 6 pacientes (40%) (nº 1, 2, 6, 7, 9 y 14) y CBC con histología preferentemente nodular en 3 pacientes (20%) (nº 5, 11 y 13). El porcentaje medio de fibrosis fue de 48,46% (rango 0-100%, DE 41,66) con presencia de reacción inflamatoria asociada en 9 pacientes (60%) con características de inflamación crónica grado 2 (++) en 5 pacientes (nº 5, 9, 10, 11 y 13) e inflamación aguda de grado 1 (+) en 4 pacientes (nº 2, 8, 12 y 15). Se objetivaba diferenciación escamosa tumoral en 7 pacientes (46,66%) (nº 1, 5, 7, 9, 11, 13 y 14), mayoritariamente de grado 1 (+), de los cuales todos excepto la paciente nº 9 pertenecían al grupo de RP. Entre los pacientes que tuvieron RC (nº 8,9 y 12), se realizó bx de los 3 sin objetivar focos tumorales residuales. Entre los que obtuvieron RP se realizó bx en 10 pacientes (1, 3, 5, 6, 7, 10, 11, 13, 14 y 15) y en todos ellos excepto en 3 pacientes (nº 3, 10 y 15) había persistencia tumoral.

Estudio histopatológico de las biopsias realizadas a los 3 meses: De las 10 biopsias realizadas, no había evidencia de focos tumorales en 7 pacientes (46,66%) (nº 1, 3, 7, 9, 11, 12 y 15) y se objetivaba persistencia de CBC con histología mayoritariamente infiltrante en 3 pacientes (20%) (nº 2, 6 y 14). El porcentaje medio de fibrosis fue del 65,55% (rango 0-100%, DE 39,47) con presencia de reacción inflamatoria asociada en 5 pacientes (33,33%) con características de inflamación crónica grado 2 (++) en todos ellos (nº 3,9,11,14 y15) y diferenciación escamosa grado 1 (+) en 2 pacientes (13,33%) (nº 6 y 14) que pertenecían al grupo de RP. Entre los pacientes que tuvieron RC, en 2 pacientes (nº 9 y 12) se realizó bx sin objetivar persistencia tumoral. Entre los pacientes que obtuvieron RP, se realizó bx en 8 pacientes (1, 2, 3, 6, 7, 11, 14 y 15) y en 6 pacientes no se observaban focos tumorales (nº 1, 2, 3, 7, 11 y 15) mientras que en 2 pacientes persistía tumor (nº 6 y 14).

Estudio histopatológico de las biopsias realizadas a los 6 meses: De las 9 biopsias realizadas, no había evidencia de CBC en 3 pacientes (20%) (nº 7, 12 y 14), y muy escasos focos tumorales con histología mayoritariamente de CBC infiltrante en 6 pacientes (40%) (nº 1, 2, 3, 6,11 y 15). El porcentaje medio de fibrosis fue de 42,22% (rango 10-100%, DE 33,59) con presencia de reacción inflamatoria con características de inflamación crónica grado 2 (++) en 2 pacientes (13,33%) (nº 2 y 12) y diferenciación escamosa grado 1 (+) en 2 pacientes (13,33%) (nº 1 y 15), pertenecientes al grupo de RP. Entre los pacientes que tuvieron RC, únicamente se realizó bx a los 6 meses en 1 paciente (nº 12) que confirmaba la ausencia de tumor. Entre los pacientes que obtuvieron RP, se realizó bx en 8 pacientes (nº 1, 2, 3, 6, 7, 11, 14 y 15) entre los cuales únicamente se observaba ausencia de focos tumorales en 2 pacientes (nº 7 y 14).

Estudio de biopsias realizadas tras la retirada de vismodegib: En el paciente nº 1 se realizó una biopsia a los 2 meses de haber finalizado el tratamiento, objetivándose persistencia de CBC infiltrante, con presencia de un 40% de fibrosis y diferenciación escamosa grado 1 (+); en 2 pacientes se analizaron las piezas de exéresis quirúrgica de la lesión tumoral persistente (nº 11), donde se objetivaba persistencia tumoral de CBC infiltrante, con un 30% fibrosis y diferenciación escamosa grado 1 (+), y de la pieza de linfadenectomía cervical derecha por metástasis adenopáticas del CE concomitante (nº 9) que confirmaba la presencia de CE.

7.3. TRATAMIENTO CON VISMODEGIB

Tiempo de tratamiento: El tiempo medio de tratamiento (meses) para todos los pacientes fue de 8,33 meses (rango 2-22, DE 5,32). 3 pacientes (20%) (nº 5, 10 y 13) suspendieron el fármaco a los 2 meses de tratamiento: 1 paciente (nº 13) por agudización de su insuficiencia cardiaca y respiratoria de base, requiriendo ingreso hospitalario y siendo éxitus a los 2 meses de haber finalizado el tratamiento con vismodegib, y 2 pacientes (nº 5 y 10) por retirada del CI para proseguir con el estudio y tratamiento, aludiendo problemas logísticos con el régimen de visitas y tratamiento. Los 2 pacientes que han realizado más ciclos de tratamiento han sido los pacientes 4 y 15 con 22 y 15 meses respectivamente.

Tiempo de seguimiento: El tiempo medio de seguimiento (meses) para todos los pacientes ha sido de 18,87 meses (rango 2-30, DE 9,72). No hubo seguimiento más allá de 2 meses en los 3 pacientes que suspendieron vismodegib a los 2 meses de haber iniciado el tratamiento: 1 por éxitus y 2 pacientes por negativa de los propios pacientes a realizar controles clínicos. Otra paciente (nº 3) que realizó el tratamiento durante 10 meses fue éxitus por neumonía a los 2 meses de haber finalizado vismodegib.

Tamaño y superficie tumoral post-vismodegib: La media del diámetro tumoral mayor tras haber finalizado vismodegib fue de 0,97 cm (rango 0-4, DE 1.15) y del menor de 0,80 cm (rango 0-4, DE 1.09). La superficie tumoral media post-vismodegib fue de 1,51 cm². (rango 0-9, 62, DE 3.06). Se encontró una diferencia media estadísticamente significativa entre las superficies tumorales pre y post-tratamiento (10.24, DE 16.76, P=0.033).

Respuesta clínica tras haber finalizado vismodegib: **Tabla 16**

- En 3 pacientes (20%) (nº 8, 9 y 12) hubo aparente RC clínica, radiológica e histopatológica con resolución total de la lesión tumoral y sin evidenciar restos tumorales en las bx practicadas al mes (nº 8) y a los 3 meses (nº 9 y 12). La evaluación de la RC se objetivó mediante exploración física, toma de fotografías y bx en todos los pacientes. 1 paciente (paciente 12) presentaba CBC múltiples y el resto CBCIa. La paciente 8 presentó RC al mes del inicio de vismodegib. El tiempo medio de tratamiento en éste grupo de pacientes fue de 5,67 meses (DE 0,57).
- En 11 pacientes (73,33%) hubo aparente RP clínica y radiológica (RP) con reducción >30% del diámetro tumoral (nº 1, 2, 3, 5, 6, 7, 10, 11, 13, 14 y 15). La evaluación de la RP se efectuó mediante exploración física, toma de fotografías en todos los pacientes, además de TAC en el paciente 11 y RMN en los pacientes 14 y 15, y mediante bx cutáneas. En los pacientes 1, 2, 3, 5, 6, 11,13 y 15 se observaba persistencia tumoral en las bx practicadas a los 6 m (nº 1, 2, 3, 6, 11 y 15) y al mes de tratamiento en los pacientes 5 y 13. En el paciente 7 se consideró RP porque a pesar de que la bx practicada a los 6 m de tratamiento no evidenciaba presencia tumoral y la lesión se redujo de forma significativa con el tratamiento, persistía un

foco indurado en el tercio superior lesional que sugería persistencia tumoral, por lo que posteriormente se realizó RT adyuvante. La paciente 14 también experimentó una reducción importante de la masa tumoral inicial sin presencia tumoral en la bx de los 6 m, pero con evidencia de infiltración perineural del nervio infraorbitario evaluada por RMN. En éste grupo se incluye el paciente que fue éxitus a los 2 meses de haber finalizado el fármaco (nº 13), la paciente que fue éxitus a los 10 meses de tratamiento (nº 3), las 2 pacientes que retiraron el CI a los 2 meses de inicio del tratamiento (nº 5 y 10) y 2 de los pacientes con CBC múltiples (nº 2 con síndrome genético no filiado y nº 6 con SG) en los que se objetivó reducción del diámetro tumoral de la lesión de mayor tamaño sin incremento en la aparición de nuevas lesiones tumorales durante el período de tratamiento. El resto de pacientes presentaban CBCIa. El tiempo medio de tratamiento en éste grupo de pacientes fue de 7,45 meses (DE 4,07).

- En 1 paciente (6,67%) la lesión tumoral se mantuvo estable (EE) (nº 4). El tiempo de tratamiento para este paciente fue de 22 meses.
- No se encontraron diferencias estadísticamente significativas respecto a la comparación de tiempo de tratamiento entre grupos.

Finalización del tratamiento: La decisión de finalizar el tratamiento se realizó principalmente en base a la obtención de respuesta clínica completa/parcial. A parte de los 3 pacientes que suspendieron el fármaco a los 2 meses de iniciarlo, únicamente 3 pacientes discontinuaron el tratamiento antes del tiempo medio de tratamiento de 8 meses por EA intolerables (nº 7 ,9 y 12) pero ésta finalización coincidió con la consecución de una buena respuesta, parcial en el paciente 7 y completa en los pacientes 9 y 12. Adicionalmente, en 2 pacientes (nº 1 y 9), la discontinuación del tratamiento coincidió con el desarrollo concomitante de un carcinoma escamoso incidental (en cuero cabelludo en el paciente nº 1 y en la región malar derecha con metástasis ganglionares cervicales ipsilaterales en la paciente nº 9) que fueron tratados inicialmente mediante cirugía + RT en la paciente nº 9 y únicamente mediante RT en el paciente nº 1.

Tratamiento adyuvante: Se realizó tratamiento adyuvante en 7 pacientes (46,66%) (nº1, 2, 6, 7,11,14 y 15), todos ellos habían presentado RP:

- En los pacientes 2 y 6 (CBC múltiples) se realizó CMM de las lesiones tumorales de mayor tamaño.
- En el paciente 7 se realizó una sesión única de RT (dosis total 12 Gy).
- En el paciente 11 se realizó cirugía + RT (dosis total 60 Gy).
- En la paciente 14 se realizó RT (dosis total 54 Gy).

- El paciente 15 recibió RT adyuvante de consolidación (dosis total 60 Gy).
- En 3 pacientes que habían presentado RP no se pudo realizar tratamiento adyuvante ni seguimiento por éxitus (nº 3 y 13) y la paciente que retiró el CI a los 2 meses de iniciar el fármaco (nº 5).

Recidiva tras vismodegib ± tratamiento adyuvante: 4 pacientes (26,66%) han presentado recidiva tumoral (nº 1, 2 6 y 7):

- Los pacientes 2 y 6 (CBC múltiples) con síndrome genético no filiado y SG respectivamente, desarrollaron nuevos CBC tributarios de tratamiento a partir del cuarto mes de finalización del tratamiento. La paciente 2 fue tratada mediante CMM de un CBC de novo en surco nasogeniano izquierdo y el paciente 6 fue tratado mediante terapia farmacológica tópica /TFD de CBC de características superficiales/nodulares principalmente de localización facial.
- El paciente 1 presentó recidiva tumoral extensa al año de haber finalizado el tratamiento, que ha sido tratada mediante RT (dosis total 25 Gy), obteniendo la curación completa del tumor.
- El paciente 7 presentó recidiva tumoral amplia a los 19 meses de haber finalizado el tratamiento con vismodegib + adyuvancia, que prácticamente abarcaba la extensión tumoral inicial aunque con menos infiltración en profundidad, que ha sido tratado mediante CMM y reconstrucción mediante injerto libre de piel parcial, logrando la resolución completa tumoral.
- El tiempo medio hasta la recidiva ha sido de 10 meses (rango 4-19, DE 6.48).
- El diagnóstico de la recidiva se ha efectuado mediante exploración física y confirmación histopatológica en todos los pacientes, además de TAC en el paciente 1.

Supervivencia global (SG): En nuestra cohorte de pacientes, se ha calculado la SG (en meses) desde el inicio de tratamiento con vismodegib hasta la fecha de éxitus o la última visita de seguimiento. Como vemos en la **gráfica 1**, con un máximo de 30 meses de seguimiento, la SG se estima en un 86,6%, representándose los 2 éxitus a los 5 y 10 meses del inicio del tratamiento.

Tiempo libre de progresión: El tiempo medio libre de progresión tras vismodegib ± adyuvancia y de los pacientes que han realizado seguimiento hasta la actualidad (n=11, 73,33%) (nº 1, 2, 4, 6, 7, 8, 9, 11, 12, 14 y 15) ha sido de 13,82 meses (rango 6-22, DE 5.75).

Supervivencia libre de progresión (SLP): Se ha calculado, en meses, desde el inicio de tratamiento con vismodegib hasta la fecha de éxitus o recurrencia de la enfermedad. La **gráfica 2** expresa que, con un máximo de 30 meses de seguimiento, la mediana de SLP se estima alrededor de 25 meses,

representándose los 2 éxitos (a los 5 y 10 meses del inicio del fármaco) y las 4 recidivas de la enfermedad (a los 22, 23, 25 y 26 meses del inicio del tratamiento).

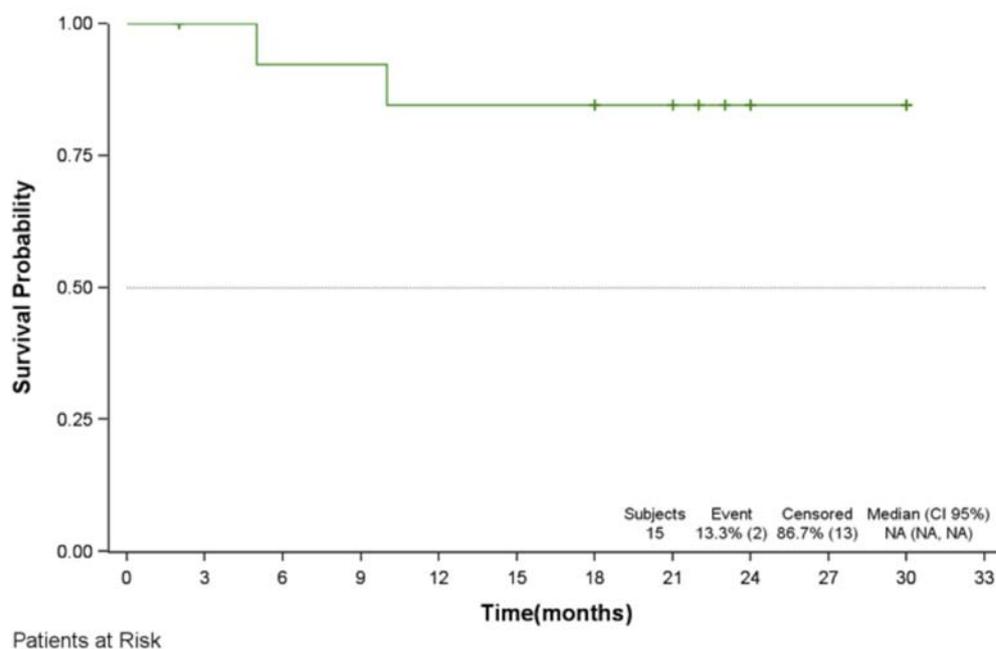
Tabla 16. Resumen de la respuesta a vismodegib en todos los pacientes.

	N	%
Best overall response	3	20.00
CR		
PR	11	73.33
SD	1	6.67
Total	15	100.00

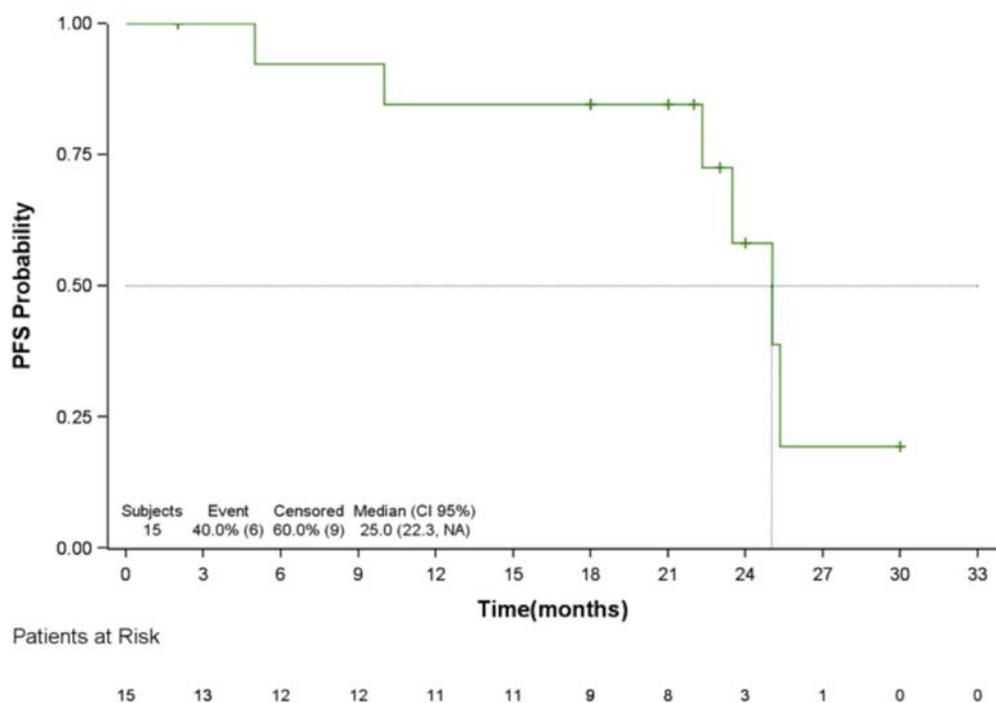
	N	%
Best overall response	14	93.33
Responder		
Non Responder	1	6.67
Total	15	100.00

Abreviaturas: CR: respuesta completa; PR: respuesta parcial; SD: enfermedad estable

Gráfica 1. Curva de Kaplan-Meier para la SG



Gráfica 2. Curva de Kaplan-Meier para la SLP



La **Tabla 17** recoge de forma resumida los principales datos relativos a la respuesta del tratamiento con vismodegib: tamaño tumoral post-tratamiento, tiempo de tratamiento, respuesta clínica, necesidad de tratamiento adyuvante, desarrollo de recidiva, tiempo hasta la recidiva, tratamiento de ésta y el tiempo de seguimiento.

Tabla 17. Características generales de la eficacia de vismodegib en los pacientes estudiados

Paciente	Tamaño tumoral (cm) Φ mayor x Φ menor postV	Tiempo tratamiento	Respuesta clínica tras V	Adyuvancia	Recidiva tumoral	Tiempo hasta la recidiva (meses)	Tratamiento recidiva	Tiempo seguimiento (meses)
1	0	9	RP	N	S	12	RT	30
2	0,5 x 0,5	11	RP	S Cirugía	S	4	CMM	30
3	0,5 x 0,3	10	RP	N	NS F			10
4	3,5 x 3,5	22	EE	N	EE			30
5	1,4 x 1	2	RP	N	NS Retirada Ci			2
6	0,8 x 0,4	7	RP	S Cirugía	S	7	Tópicos	24
7	1,3 x 1,3	7	RP	S RT	S	19	CMM	24
8	0	6	RC	N	N			24
9	0	5	RC	N	N			18
10	0,5 x 0,4	2	RP	N	NS Retirada Ci			2
11	3,5 x 3	10	RP	S Cirugía + RT	N			23
12	0	6	RC	N	N			22
13	1,5 x 1,3	2	RP	N	NS F			5
14	1 x 0,3	11	RP	S RT	N			21
15	0	15	RP	S RT	N			18

Abreviaturas: Ci: consentimiento informado; CMM: cirugía micrográfica de Mohs; Φ : Diámetro; F: Fallecido; NS: no se sabe; RC: respuesta completa; RP: respuesta parcial; RT: radioterapia

7.4. SEGURIDAD DE VISMODEGIB

Todos los pacientes (100%) presentaron EA relacionados con el fármaco, que fueron relativamente bien tolerados y que únicamente condujeron al abandono del estudio en 3 pacientes antes del tiempo medio de tratamiento de 8,3 meses (nº 7, 9 y 12) pero ésta finalización coincidió con la obtención de una buena respuesta, parcial en el paciente 7 y completa en los pacientes 9 y 12.

Los EA más frecuentemente observados y en grado 1-2 fueron:

- Toxicidad relacionada con el fármaco, clínicamente objetivable:
 - Alopecia (100%)
 - Pérdida de peso (60%): La media de pérdida ponderal fue de 5,5 kg (rango 3-9)
- Toxicidad relacionada con el fármaco, clínicamente no objetivable pero referida por el paciente:
 - Disgeusia (100%)
 - Astenia (60%)
 - Calambres musculares (40%), que fueron minimizados en la mayoría de los pacientes con la toma de magnesio en comprimidos orales (2c/d)
 - Sintomatología gastrointestinal (33,33%): Anorexia, náuseas, diarreas, sensación de plenitud gástrica.
 - Cefalea (20%), que remitía con analgésicos comunes.
- Evaluación de calidad de vida mediante el cuestionario Skindex-16: La cumplimentación de éste cuestionario con periodicidad trimestral no reveló un impacto importante del régimen de tratamiento y EA relacionados con el fármaco en la calidad de vida de los pacientes.

La mayoría de los EA se presentaron entre los 2 -3 meses de haber iniciado el fármaco y se prolongaban hasta el último mes de tratamiento. La resolución de la toxicidad se producía de forma relativamente rápida tras la finalización del tratamiento respecto a la sintomatología clínicamente no objetivable en 2-3 semanas, y de forma progresiva y gradual en relación a la alopecia y ganancia ponderal.

Cabe destacar que los pacientes que presentaron una peor tolerancia al fármaco fueron los de menor peso basal y los más jóvenes, sugiriendo que la dosis estándar de 150 mg/d resultaría más tóxica en éste grupo de pacientes.

En el caso de la paciente 14, la probabilidad de infiltración tumoral del nervio infraorbitario izquierdo demostrada por TAC, ocasionaba dolor local intermitente pero diario, que remitía parcialmente con una pauta combinada y continua de analgésicos comunes y neurolépticos (pregabalina 75 mg/d).

No se han producido EA graves (grado 5) que pusieran en peligro la vida del paciente o que se demostrara que condujeran al fallecimiento del mismo.

La paciente 9 desarrolló un CE malar derecho de forma concomitante al inicio de vismodegib, presentando una rápida progresión en forma de crecimiento local y adenopática cervical ipsilateral, siendo tributario de tratamiento mediante cirugía + RT adyuvante, con RC de la enfermedad. Sin embargo, en abril de 2015 y 24 meses después de haber finalizado el tratamiento con vismodegib, le fue diagnosticado un Adenocarcinoma primario de pulmón que condujo al fallecimiento de la paciente por complicaciones intraoperatorias.

La paciente 8 presentó una fractura de fémur tras caída accidental a los 2 meses de finalización del tratamiento, sin embargo no puede demostrarse una relación directa con el fármaco ya que se trata de una paciente de edad avanzada, con el consiguiente riesgo inherente de fracturas.

El paciente 1 ha sido diagnosticado recientemente de Penfigoide ampolloso, 20 meses después de la finalización de vismodegib. Sin embargo, tampoco puede establecerse una relación directa debido al largo tiempo transcurrido entre la discontinuación del fármaco y el diagnóstico de la enfermedad ampollosa y que se trata de una entidad que se diagnostica con frecuencia en pacientes de edad avanzada. Como se ha comentado previamente y coincidiendo con la finalización del tratamiento, el paciente desarrolló de forma concomitante un CE a nivel centroparietal del cuero cabelludo que inicialmente fue tratado mediante RT con aparente RC. Recientemente, experimentó recidiva extensa locorregional de la enfermedad, con invasión de tejido óseo craneal y de la duramadre evaluado por TAC, siendo tributario de exéresis completa radical de la lesión + RT adyuvante.

El paciente 12 ha sido diagnosticado recientemente de un síndrome mielodisplásico (SMD) y se encuentra pendiente de iniciar tratamiento. El paciente no presentaba antecedentes personales ni familiares de ésta enfermedad y debido al largo intervalo de tiempo transcurrido entre la finalización de vismodegib y el diagnóstico de SMD (18 meses) y la edad avanzada del paciente, tampoco puede demostrarse una relación directa con el fármaco.

En el curso del tratamiento se produjo 1 éxito (nº 13) a los 2 meses de iniciar vismodegib en un paciente con pluripatología y polimedicado, por agudización de su insuficiencia respiratoria/cardíaca de base. La otra paciente que fue éxito (nº 3), era una paciente de edad avanzada (96 años) que desarrolló una neumonía a los 2 meses de haber finalizado el tratamiento.

7.5. ANALISIS GENETICO Y SU RELACION CON LA RESPUESTA A VISMODEGIB

De las 51 biopsias efectuadas, únicamente se pudo proceder al análisis de 29 por dificultades técnicas en la extracción del ARN, debido a que se trataba de muestras de pequeño tamaño (3-4 mm). Concretamente, se han podido analizar 14 biopsias basales ya que 1 paciente (nº 9) no tenía biopsia inicial, 4 biopsias al mes de tratamiento (nº 6, 11, 13, 14), 4 biopsias a los 3 meses (nº6, 9 [x2] y 14), 5 a los 6 meses (nº 1, 2, 3, 6 y 11) y 2 tras haber finalizado tratamiento con vismodegib en 2 pacientes (nº 1 y 11, que corresponden a la biopsia confirmatoria de recidiva tumoral y de exéresis quirúrgica de la lesión tumoral residual, respectivamente).

7.5.1. DISTRIBUCIÓN DE LOS VALORES DE EXPRESIÓN DE ARNm DE LOS BIOMARCADORES SELECCIONADOS EN DIFERENTES MOMENTOS EVOLUTIVOS DURANTE EL TRATAMIENTO

El propósito principal del análisis presentado es estudiar el impacto de la expresión del ARNm de los biomarcadores seleccionados en respuesta al tratamiento con vismodegib. No está incluido el caso del que no disponemos de biopsia basal. El número máximo de biopsias analizadas por paciente fue de 4 y el mínimo de 1.

La **Tabla 18** expresa la media, mediana y rango de la expresión de ARNm en todas las muestras cutáneas analizadas, en diferentes momentos evolutivos: basal, al mes, 3, 6 meses de tratamiento y tras la finalización del fármaco (1 year).

Tabla 18. Análisis descriptivo del valor de la expresión de ARNm de los biomarcadores seleccionados en diferentes momentos evolutivos.

	N	Missing	Mean (SD)	Mean CI 95%	Median [Q1, Q3]	Min, Max
HES1						
Baseline	14	0	1.18 (0.69)	0.78, 1.58	0.94 [0.76, 1.66]	0.31, 2.86
After 1 month	4	0	1.13 (0.78)	-0.11, 2.37	0.91 [0.54, 1.73]	0.53, 2.18
After 3 months	4	0	1.15 (0.47)	0.40, 1.89	1.16 [0.85, 1.44]	0.55, 1.70
After 6 months	5	0	0.94 (0.78)	-0.03, 1.92	0.81 [0.44, 0.90]	0.30, 2.27
After 1 year	2	0	0.55 (0.06)	0.04, 1.06	0.55 [0.51, 0.59]	0.51, 0.59
TOTAL	29	0	1.08 (0.65)	0.83, 1.33	0.90 [0.55, 1.27]	0.30, 2.86
NUMB						
Baseline	13	1	0.56 (0.15)	0.46, 0.65	0.53 [0.40, 0.72]	0.37, 0.75
After 1 month	4	0	0.46 (0.30)	-0.01, 0.94	0.47 [0.26, 0.67]	0.09, 0.82
After 3 months	4	0	0.25 (0.06)	0.15, 0.34	0.23 [0.20, 0.29]	0.19, 0.32
After 6 months	5	0	0.55 (0.31)	0.17, 0.93	0.59 [0.26, 0.83]	0.21, 0.87
After 1 year	2	0	0.19 (0.02)	0.01, 0.37	0.19 [0.17, 0.20]	0.17, 0.20
TOTAL	28	1	0.47 (0.23)	0.38, 0.56	0.46 [0.26, 0.69]	0.09, 0.87
AXL						
Baseline	14	0	3.32 (2.02)	2.16, 4.48	2.61 [2.16, 3.89]	1.10, 9.44
After 1 month	4	0	3.52 (2.81)	-0.96, 7.99	3.07 [1.25, 5.78]	0.92, 7.01
After 3 months	4	0	2.70 (2.32)	-0.99, 6.39	1.69 [1.30, 4.10]	1.29, 6.14
After 6 months	5	0	3.43 (1.16)	1.99, 4.86	3.05 [2.58, 4.11]	2.31, 5.09
After 1 year	2	0	3.96 (3.64)	-28.78, 36.70	3.96 [1.38, 6.54]	1.38, 6.54
TOTAL	29	0	3.33 (2.02)	2.56, 4.09	2.58 [2.05, 4.37]	0.92, 9.44
GAS6						
Baseline	13	1	1.20 (0.56)	0.86, 1.54	1.07 [0.84, 1.50]	0.37, 2.57
After 1 month	4	0	2.17 (2.82)	-2.32, 6.66	1.12 [0.33, 4.01]	0.16, 6.28
After 3 months	4	0	2.08 (3.20)	-3.01, 7.17	0.56 [0.42, 3.74]	0.33, 6.87
After 6 months	4	1	2.36 (2.30)	-1.30, 6.02	1.64 [0.81, 3.91]	0.51, 5.66
After 1 year	2	0	1.08 (0.95)	-7.48, 9.64	1.08 [0.41, 1.75]	0.41, 1.75
TOTAL	27	2	1.64 (1.78)	0.93, 2.34	1.07 [0.52, 1.74]	0.16, 6.87
Gli1						
Baseline	14	0	226.71 (150.20)	139.99, 313.44	177.32 [121.30, 326.84]	79.47, 627.05
After 1 month	1	3	120.46 (NA)		120.46 [120.46, 120.46]	120.46, 120.46
After 3 months	3	1	84.83 (62.96)	-71.58, 241.23	102.00 [15.06, 137.42]	15.06, 137.42
After 6 months	4	1	190.49 (88.76)	49.25, 331.72	163.98 [125.69, 255.29]	120.46, 313.52

	N	Missing	Mean (SD)	Mean CI 95%	Median [Q1, Q3]	Min, Max
After 1 year	1	1	99.21 (NA)		99.21 [99.21, 99.21]	99.21, 99.21
TOTAL	23	6	191.74 (133.13)	134.17, 249.31	137.42 [120.46, 274.84]	15.06, 627.05
PRKCI						
Baseline	14	0	5.99 (3.27)	4.11, 7.88	5.06 [3.79, 8.02]	2.70, 15.07
After 1 month	4	0	5.21 (3.10)	0.28, 10.15	4.34 [3.35, 7.07]	2.49, 9.67
After 3 months	3	1	3.43 (1.94)	-1.39, 8.25	4.24 [1.22, 4.83]	1.22, 4.83
After 6 months	5	0	4.53 (2.05)	1.98, 7.07	3.90 [3.15, 4.74]	2.89, 7.96
After 1 year	2	0	3.59 (0.44)	-0.35, 7.53	3.59 [3.28, 3.90]	3.28, 3.90
TOTAL	28	1	5.17 (2.84)	4.07, 6.27	4.42 [3.59, 5.18]	1.22, 15.07
HHAT						
Baseline	12	2	7.66 (4.24)	4.97, 10.35	7.30 [4.0, 9.64]	2.28, 16.43
After 1 month	2	2	6.25 (3.96)	-29.33, 41.83	6.25 [3.45, 9.05]	3.45, 9.05
After 3 months	3	1	7.55 (8.38)	-13.27, 28.38	4.05 [1.49, 17.12]	1.49, 17.12
After 6 months	5	0	7.74 (5.25)	1.22, 14.26	9.05 [2.39, 11.61]	2.13, 13.53
After 1 year	2	0	3.32 (0.44)	-0.62, 7.26	3.32 [3.01, 3.63]	3.01, 3.63
TOTAL	24	5	7.18 (4.66)	5.21, 9.15	6.80 [3.23, 9.64]	1.49, 17.12
DISP1						
Baseline	8	6	1.64 (0.57)	1.17, 2.11	1.65 [1.19, 2.14]	0.84, 2.34
After 1 month	3	1	0.96 (0.57)	-0.45, 2.36	0.78 [0.50, 1.59]	0.50, 1.59
After 3 months	3	1	1.40 (0.44)	0.30, 2.50	1.45 [0.93, 1.81]	0.93, 1.81
After 6 months	4	1	1.56 (1.20)	-0.35, 3.46	1.30 [0.83, 2.29]	0.40, 3.24
After 1 year	1	1	2.44 (NA)		2.44 [2.44, 2.44]	2.44, 2.44
TOTAL	19	10	1.52 (0.73)	1.17, 1.87	1.34 [0.93, 2.10]	0.40, 3.24
SOX2						
Baseline	9	5	317.82 (880.38)	-358.90, 994.54	20.67 [4.82, 40.78]	1.89, 2664.69
After 1 month	3	1	11.65 (5.47)	-1.93, 25.23	9.45 [7.62, 17.87]	7.62, 17.87
After 3 months	2	2	45.63 (58.24)	-477.68, 568.93	45.63 [4.44, 86.81]	4.44, 86.81
After 6 months	4	1	57.65 (76.81)	-64.57, 179.88	24.45 [10.67, 104.64]	10.48, 171.23
After 1 year	1	1	10.55 (NA)		10.55 [10.55, 10.55]	10.55, 10.55
TOTAL	19	10	169.88 (605.55)	-121.99, 461.75	14.52 [7.62, 40.78]	1.89, 2664.69
BIM						
Baseline	13	1	1.94 (1.32)	1.14, 2.74	1.84 [1.06, 1.95]	0.59, 5.13
After 1 month	4	0	2.07 (1.11)	0.30, 3.83	2.13 [1.11, 3.02]	0.94, 3.07
After 3 months	3	1	1.18 (0.93)	-1.13, 3.49	0.66 [0.62, 2.25]	0.62, 2.25
After 6 months	4	1	1.80 (0.64)	0.78, 2.81	1.86 [1.35, 2.25]	0.97, 2.50
After 1 year	2	0	0.90 (0.55)	-4.06, 5.86	0.90 [0.51, 1.29]	0.51, 1.29
TOTAL	26	3	1.77 (1.12)	1.32, 2.22	1.51 [0.94, 2.25]	0.51, 5.13

	N	Missing	Mean (SD)	Mean CI 95%	Median [Q1, Q3]	Min, Max
BIM_EL						
Baseline	12	2	1.86 (1.45)	0.94, 2.79	1.01 [0.88, 3.10]	0.61, 4.52
After 1 month	4	0	1.13 (0.51)	0.33, 1.94	1.17 [0.76, 1.51]	0.50, 1.69
After 3 months	3	1	1.56 (1.33)	-1.76, 4.87	1.71 [0.15, 2.80]	0.15, 2.80
After 6 months	4	1	1.63 (1.10)	-0.11, 3.38	1.63 [0.82, 2.45]	0.34, 2.94
After 1 year	2	0	1.31 (0.97)	-7.36, 9.98	1.31 [0.63, 2.00]	0.63, 2.00
TOTAL	25	4	1.63 (1.19)	1.14, 2.12	1.22 [0.85, 2.00]	0.15, 4.52

La interpretación de los resultados sobre la evolución de los niveles de los diferentes biomarcadores durante el tratamiento con vismodegib debe realizarse con precaución, ya que el número de biopsias de seguimiento en los que se ha podido realizar el análisis es escaso en comparación con el número de biopsias basales y en la mayoría de las ocasiones las diferentes biopsias analizadas de los 4 momentos de seguimiento corresponden a pacientes diferentes.

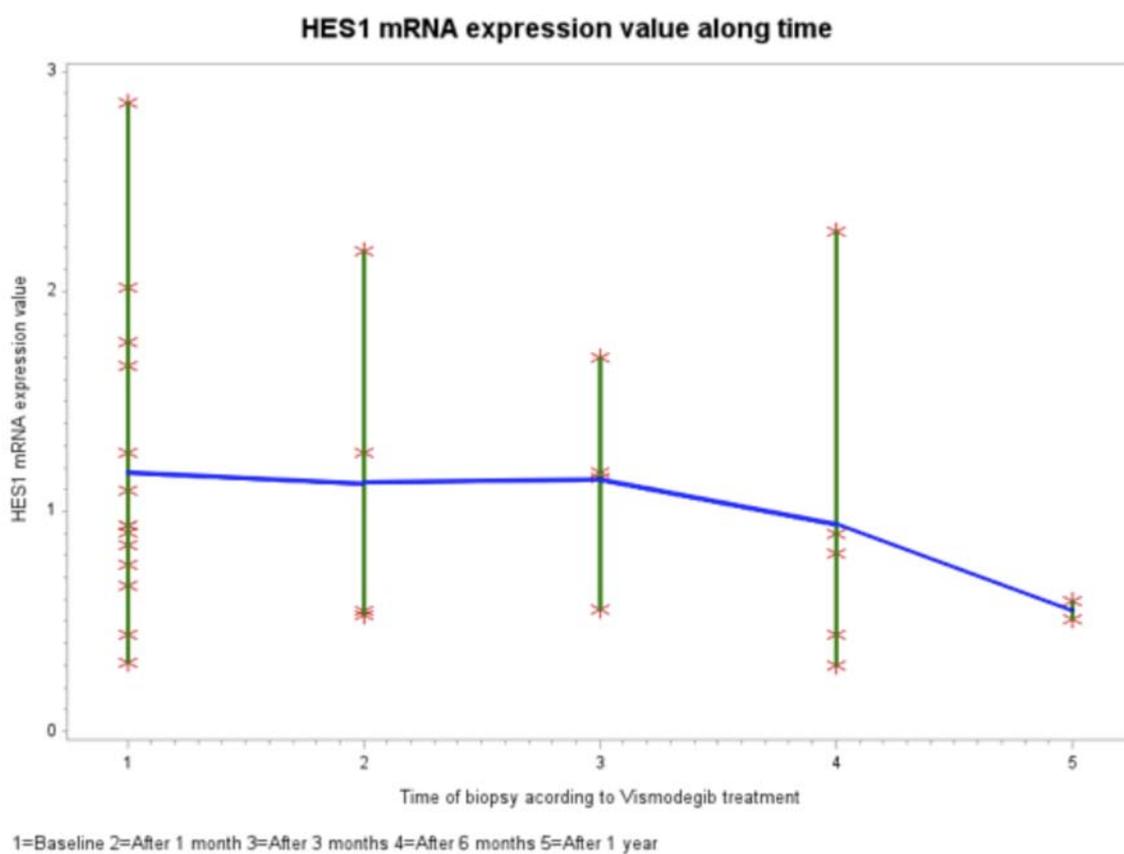
En líneas generales los biomarcadores que presentan una tendencia hacia el descenso de sus niveles en respuesta al tratamiento son HES1, Gli1, PRKCI, DISP1 y SOX2. Los biomarcadores que presentan una tendencia hacia la estabilidad de sus niveles e incluso observando un discreto aumento en las biopsias a los 6 meses son NUMB, AXL, HHAT, BIM y BIM_EL.

El biomarcador en el que se observa una tendencia al aumento global de sus niveles durante el tratamiento es GAS6.

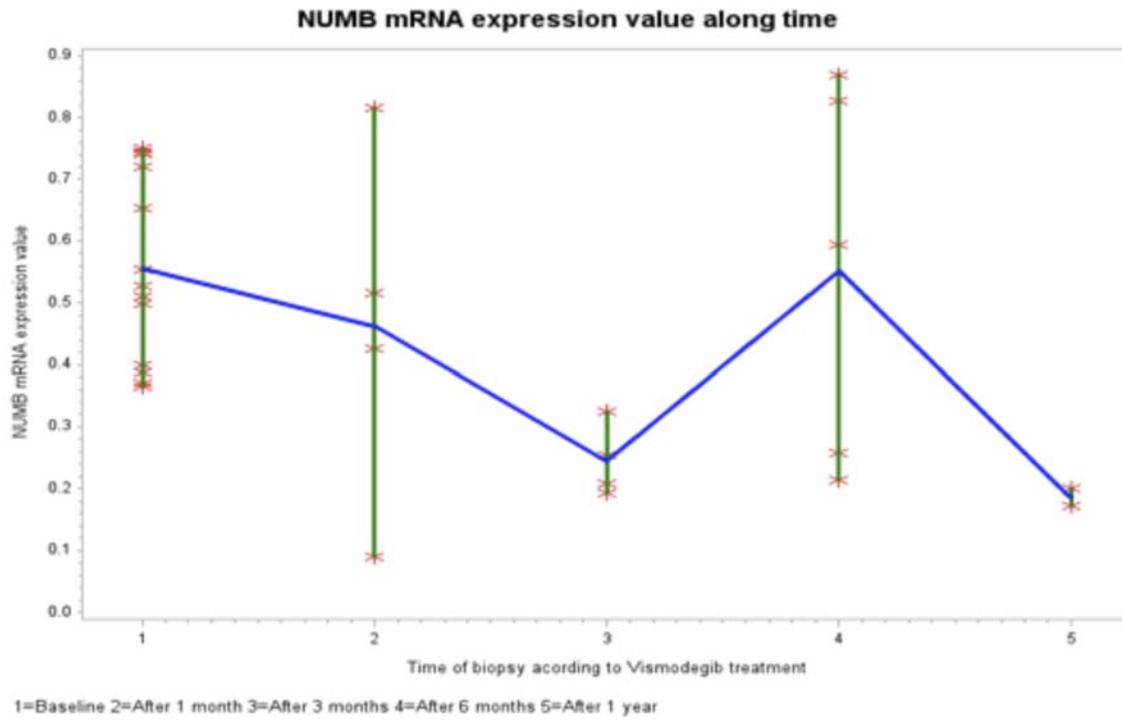
7.5.2. EXPLORACIÓN GRÁFICA DE LA EVOLUCIÓN DE LOS VALORES DE ARNm DE LOS BIOMARCADORES SELECCIONADOS DURANTE EL TRATAMIENTO EN TODOS LOS PACIENTES.

Para éste análisis se consideran 4 puntos en el tiempo correspondientes al orden en el que las biopsias fueron realizadas para cada paciente.

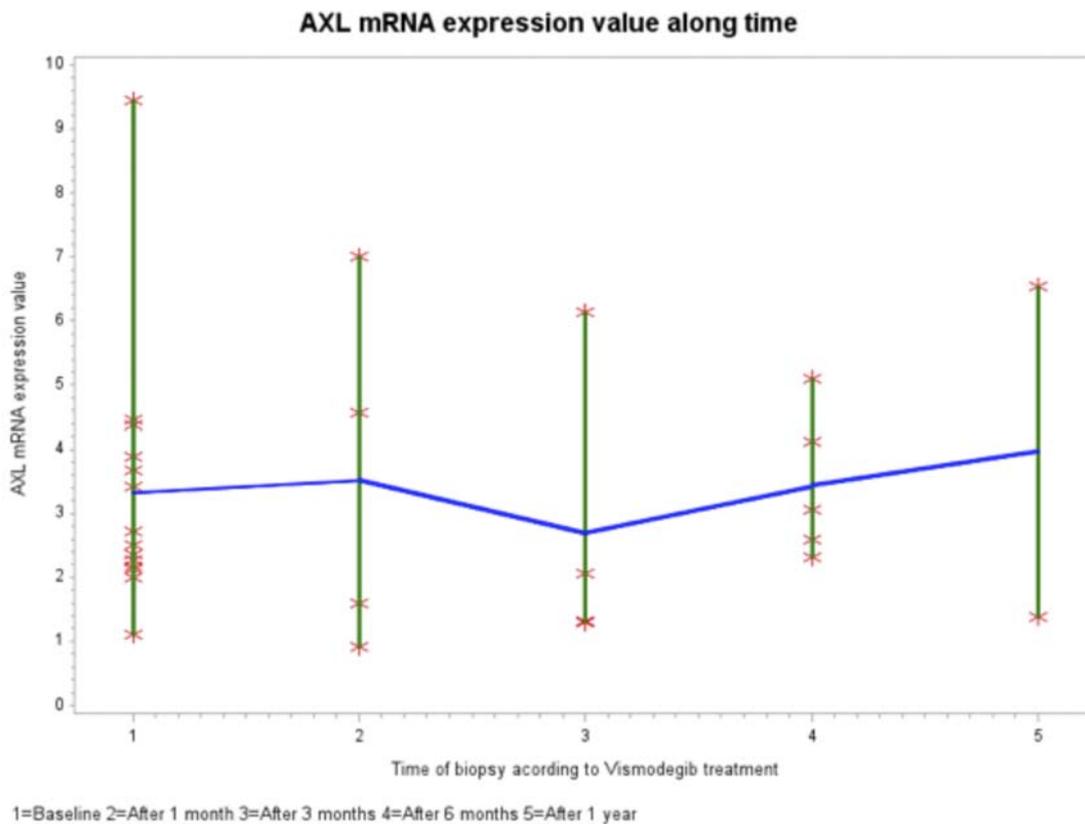
Gráfica 3. Evolución de la expresión ARNm de HES1



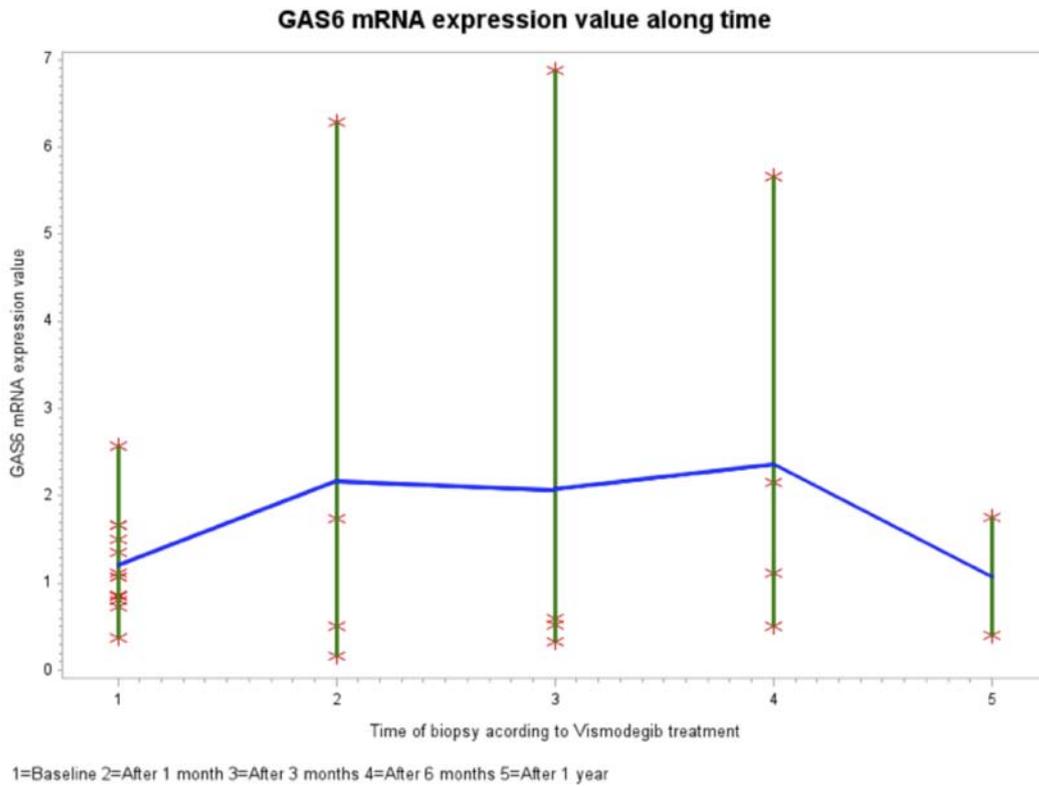
Gráfica 4. Evolución de la expresión de ARNm de NUMB



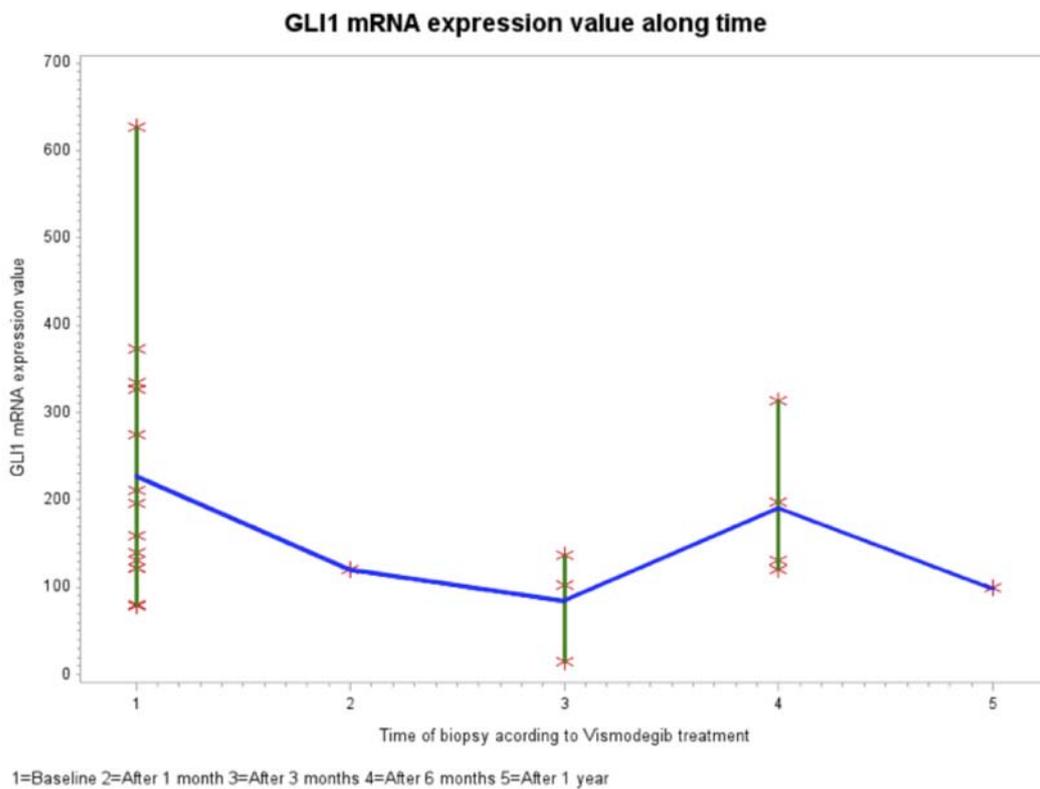
Gráfica 5. Evolución de la expresión de ARNm de AXL.



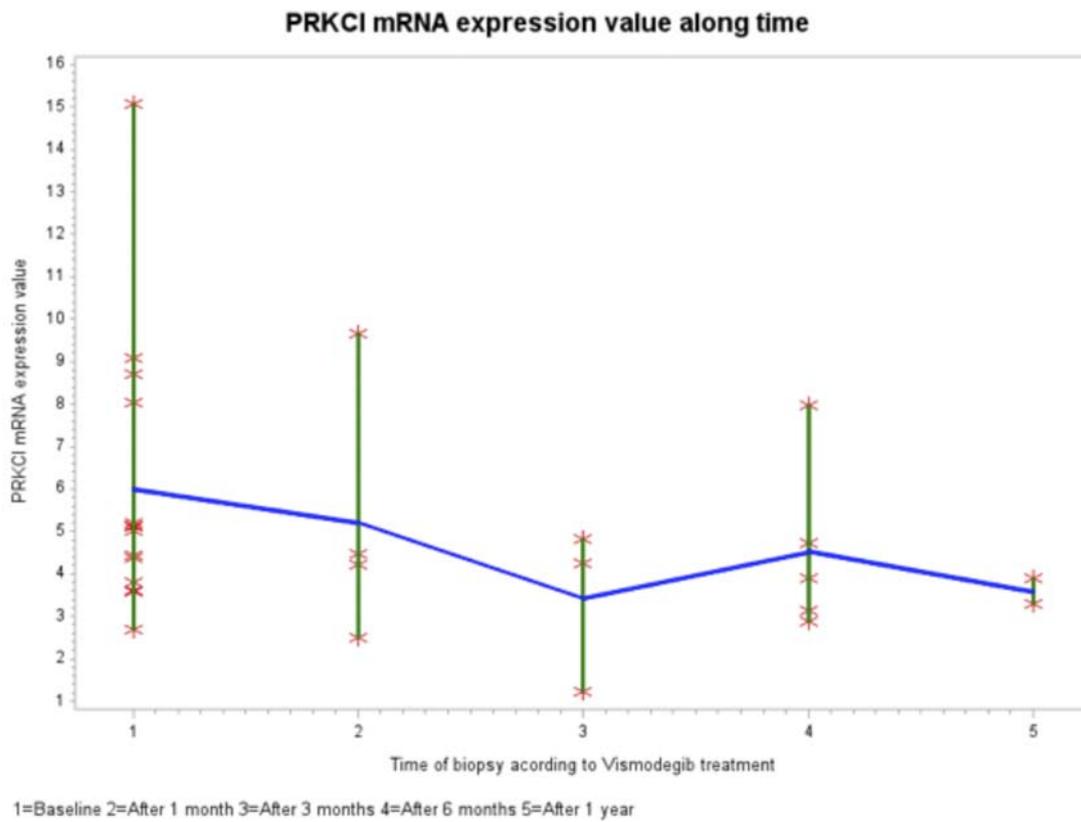
Gráfica 6. Evolución de la expresión de ARNm GAS6.



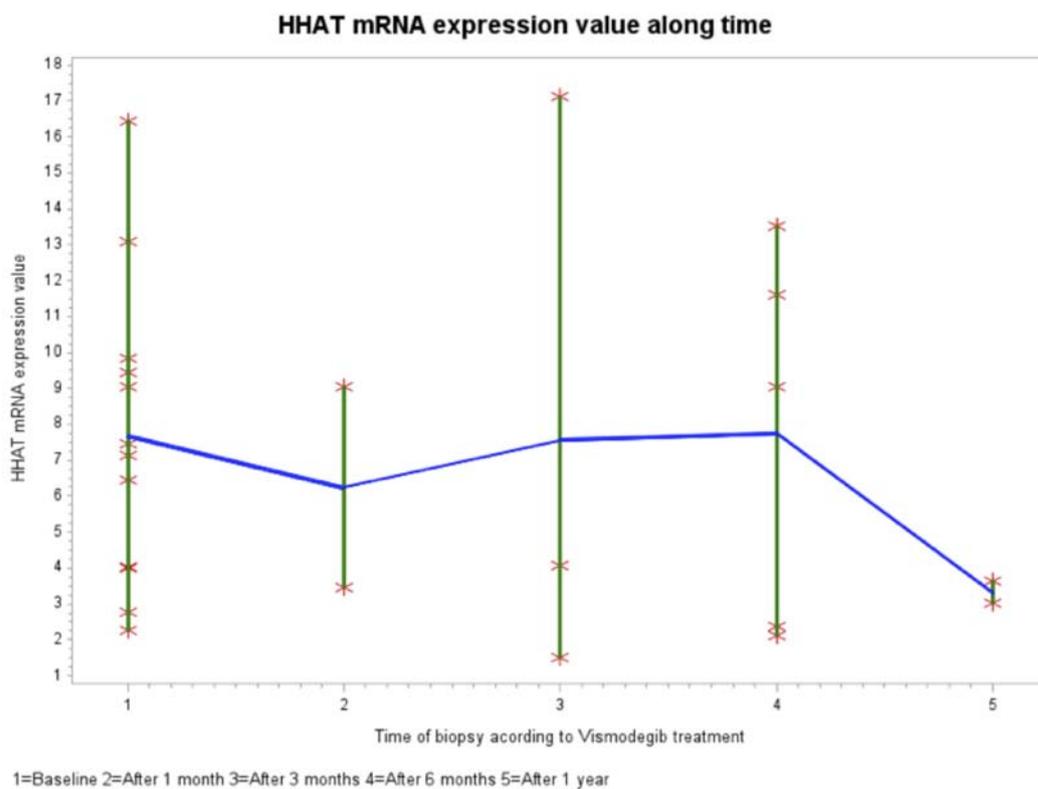
Gráfica 7. Evolución de la expresión de ARNm de Gli.



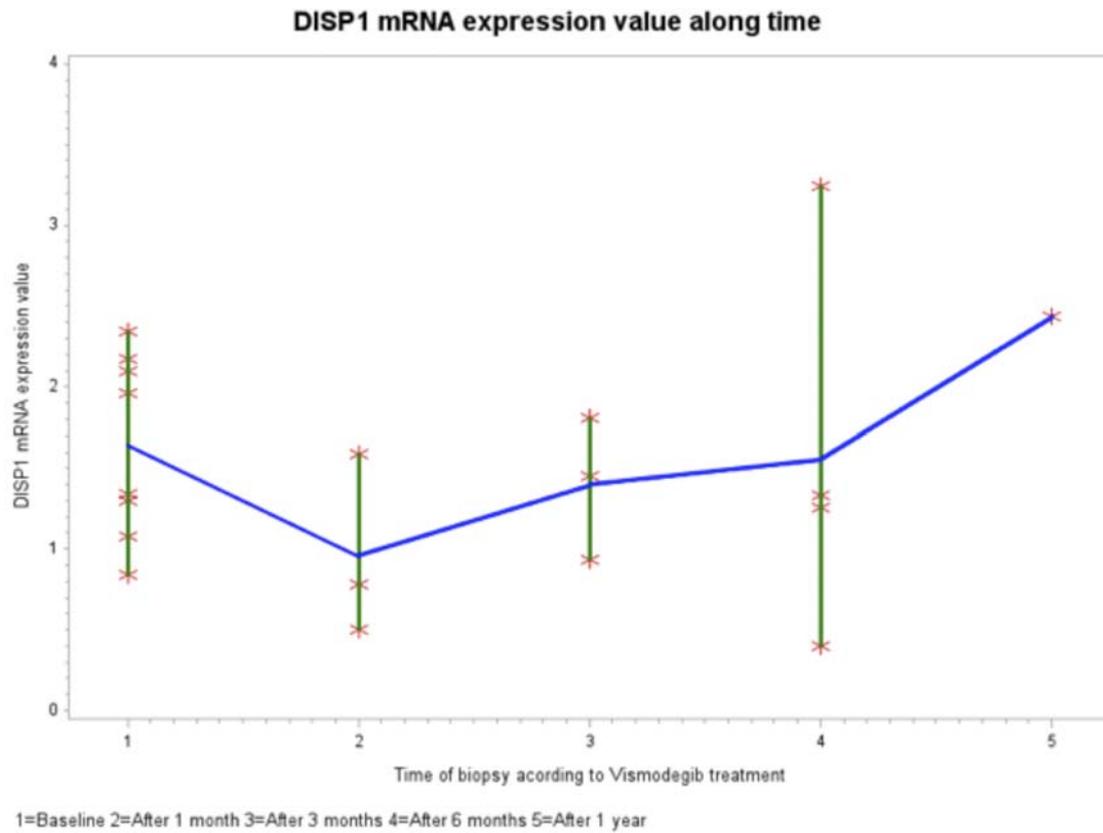
Gráfica 8. Evolución de la expresión de ARNm de PRKCI.



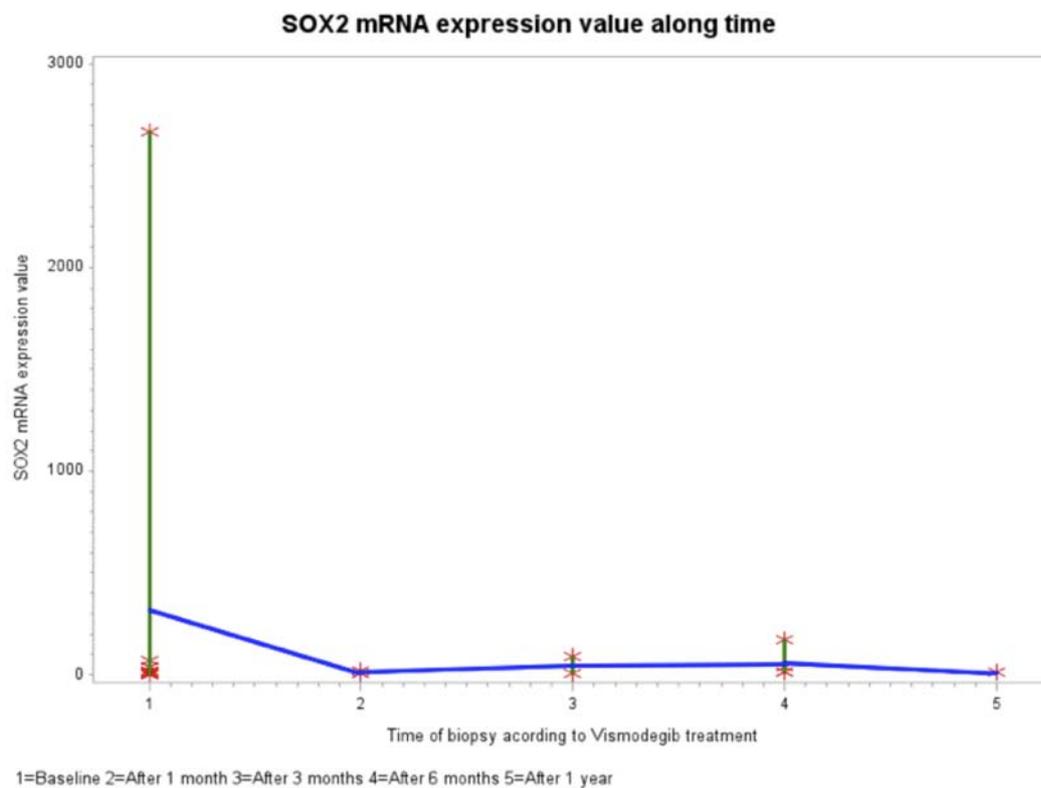
Gráfica 9. Evolución de la expresión de ARNm de HHAT.



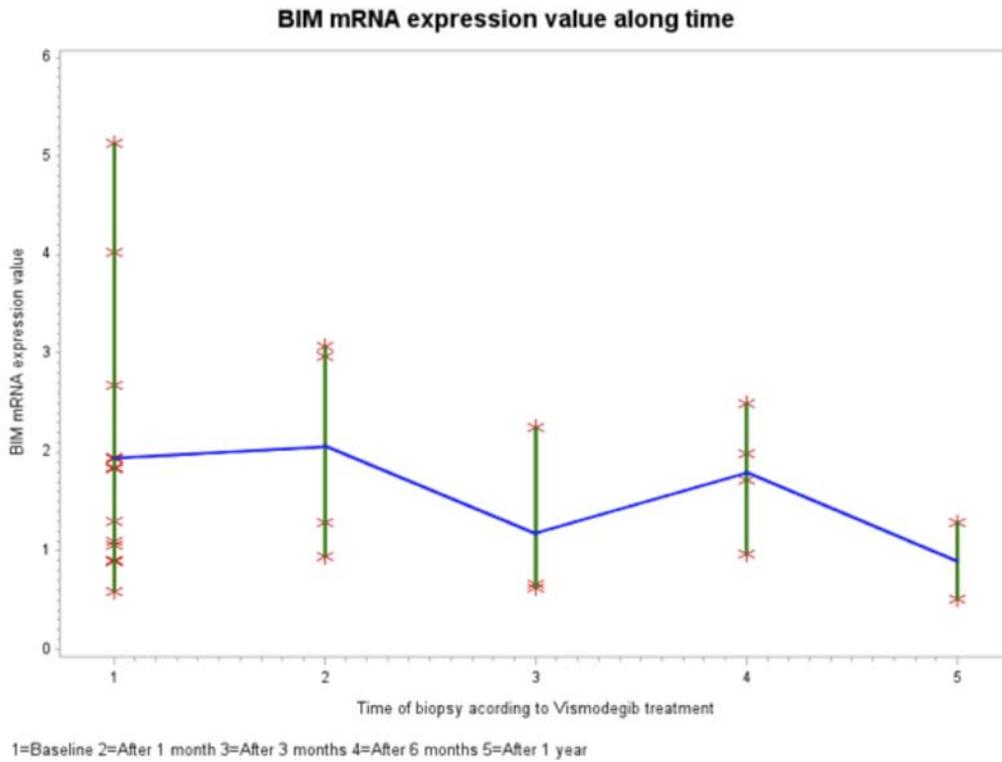
Gráfica 10. Evolución de la expresión de ARNm de DISP.



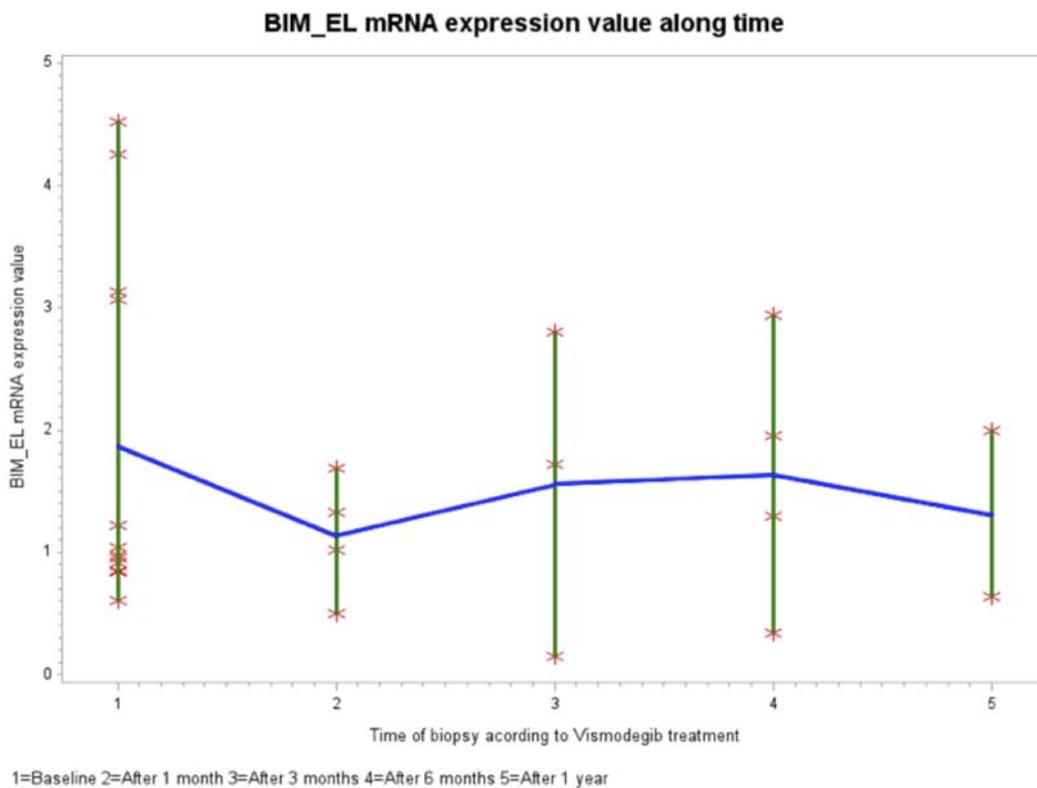
Gráfica 11. Evolución de la expresión de ARNm de SOX2.



Gráfica 12. Evolución de la expresión de ARNm de BIM.



Gráfica 13. Evolución de la expresión de ARNm de BIM_EL.



7.5.3. CORRELACIÓN ENTRE LOS VALORES DE EXPRESIÓN DE ARNm DE LOS BIOMARCADORES SELECCIONADOS EN LAS BIOPSIAS BASALES EN TODOS LOS PACIENTES

En las biopsias basales, esperaríamos obtener una relación directa lineal entre niveles de aquellos biomarcadores que presentan una correlación positiva, es decir, niveles basales elevados de un biomarcador implicaría la obtención de niveles también elevados de aquellos biomarcadores con los que está correlacionado de forma positiva y, de esta manera, podríamos también esperar una modificación paralela y lineal de sus niveles en respuesta al tratamiento.

Al realizar un análisis de correlación de Pearson entre todos los biomarcadores a nivel basal, teniendo en cuenta que un valor de Rho <0 o negativa indica que no hay correlación entre biomarcadores, mientras que un valor de Rho >0 indica una correlación positiva entre éstos, observamos algunas correlaciones positivas:

- **HES1 con GAS6** (Rho = 0,66, p = 0,013), **PRKCI1** (Rho=0,78, p=0,0008), **HHAT** (Rho= 0,60, p=0,03), y **SOX2** (Rho=0,80, p= 0,008)
- **GAS6 con Gli1**: Rho= 0,59, p=0,03
- **PRKCI con HHAT** (Rho= 0,75, p= 0,004), **SOX2** (Rho=0,98, p<0,001) y **BIM** (Rho=0,80, p=0,0008)
- **HHAT con SOX2** (Rho=0,76, p=0,02) y **BIM** (Rho=0,76, p=0,006)
- **SOX2 con BIM** (Rho=0,89, p=0,001)

El coeficiente de correlación puede interpretarse de la siguiente manera: (0-0,2): Correlación Mínima; (0,2-0,4) Baja; (0,4-0,6) Moderada; (desde 0,6 hasta 0,8) Buena; (0,8-1) Fuerte.

Particularmente, aquellos biomarcadores que presentan una correlación positiva fuerte basal son HES1 con SOX2 (Rho=0,80, p= 0,008), PRKCI con SOX2 y BIM (Rho=0,98, p<0,001 y Rho=0,80, p=0,0008 respectivamente), y entre SOX y BIM (Rho=0,89, p=0,001).

La **Tabla 19** presenta el grado de correlación entre biomarcadores en las muestras cutáneas basales.

Tabla 19. Matriz del análisis de correlación de Pearson entre la expresión de ARNm de los biomarcadores como variables continuas, en las biopsias basales.

Pearson Correlation Coefficients Prob > r under H0: Rho=0 Number of Observations											
	HES1	NUMB	AXL	GAS6	Gli1	PRKCI	HHAT	DISP1	SOX2	BIM	BIM_EL
HES1	1.00000 14	0.09455 0.7587 13	0.02432 0.9342 14	0.66483 0.0132 13	0.49933 0.0691 14	0.78667 0.0008 14	0.60530 0.0370 12	0.46856 0.2416 8	0.80671 0.0086 9	0.47511 0.1009 13	0.08016 0.8044 12
NUMB	0.09455 0.7587 13	1.00000 13	-0.12551 0.6829 13	0.24550 0.4418 12	-0.20481 0.5021 13	-0.35524 0.2336 13	0.26085 0.4385 11	0.04687 0.9122 8	0.54769 0.1600 8	0.15946 0.6206 12	0.10020 0.7567 12
AXL	0.02432 0.9342 14	-0.12551 0.6829 13	1.00000 14	-0.22639 0.4570 13	0.13893 0.6357 14	0.03924 0.8940 14	0.00533 0.9869 12	-0.11885 0.7792 8	0.13378 0.7315 9	0.03789 0.9022 13	0.35793 0.2533 12
GAS6	0.66483 0.0132 13	0.24550 0.4418 12	-0.22639 0.4570 13	1.00000 13	0.59958 0.0303 13	0.35992 0.2271 13	0.39000 0.2357 11	0.67268 0.0978 7	0.26016 0.4990 9	0.05175 0.8667 13	0.11862 0.7135 12
Gli1	0.49933 0.0691 14	-0.20481 0.5021 13	0.13893 0.6357 14	0.59958 0.0303 13	1.00000 14	0.38089 0.1791 14	0.06301 0.8458 12	0.43866 0.2769 8	0.06258 0.8729 9	0.02079 0.9463 13	0.44883 0.1433 12
PRKCI	0.78667 0.0008 14	-0.35524 0.2336 13	0.03924 0.8940 14	0.35992 0.2271 13	0.38089 0.1791 14	1.00000 14	0.75360 0.0046 12	0.34248 0.4063 8	0.98259 <.0001 9	0.80856 0.0008 13	0.27374 0.3893 12
HHAT	0.60530 0.0370 12	0.26085 0.4385 11	0.00533 0.9869 12	0.39000 0.2357 11	0.06301 0.8458 12	0.75360 0.0046 12	1.00000 12	0.50147 0.2515 7	0.76440 0.0272 8	0.76564 0.0060 11	0.47508 0.1653 10
DISP1	0.46856 0.2416 8	0.04687 0.9122 8	-0.11885 0.7792 8	0.67268 0.0978 7	0.43866 0.2769 8	0.34248 0.4063 8	0.50147 0.2515 7	1.00000 8	0.28965 0.7104 4	-0.24758 0.5925 7	0.30740 0.5024 7
SOX2	0.80671 0.0086 9	0.54769 0.1600 8	0.13378 0.7315 9	0.26016 0.4990 9	0.06258 0.8729 9	0.98259 <.0001 9	0.76440 0.0272 8	0.28965 0.7104 4	1.00000 9	0.89486 0.0011 9	0.49014 0.2176 8
BIM	0.47511 0.1009 13	0.15946 0.6206 12	0.03789 0.9022 13	0.05175 0.8667 13	0.02079 0.9463 13	0.80856 0.0008 13	0.76564 0.0060 11	-0.24758 0.5925 7	0.89486 0.0011 9	1.00000 13	0.50231 0.0961 12
BIM_EL	0.08016 0.8044 12	0.10020 0.7567 12	0.35793 0.2533 12	0.11862 0.7135 12	0.44883 0.1433 12	0.27374 0.3893 12	0.47508 0.1653 10	0.30740 0.5024 7	0.49014 0.2176 8	0.50231 0.0961 12	1.00000 12

7.5.4. RELACIÓN ENTRE LOS NIVELES BASALES DE EXPRESIÓN DE ARNm DE LOS BIOMARCADORES Y LA RESPUESTA AL TRATAMIENTO

Para cada valor de la expresión del ARNm, se calculan los terciles a partir de los valores basales. Según éstos parámetros, el nivel de expresión se define como:

- Bajo: valor de expresión de ARNm es $< Q33$.
- Intermedio: valor de la expresión de ARNm se encuentra en el intervalo $[Q33, Q66)$
- Alto: valor de la expresión de ARNm es $\geq Q66$

El análisis y la comparación entre grupos se ha realizado teniendo en cuenta la mediana del valor de expresión de ARNm y la agrupación según los niveles o terciles de expresión de ARNm de los diferentes biomarcadores: bajo vs intermedio/alto y bajo/intermedio vs alto.

- Grupo $<$ mediana si el biomarcador correspondiente tiene valor por debajo de la mediana.
- Grupo \geq mediana si el biomarcador correspondiente tiene un valor superior o igual a la mediana.

Se han incluido las tablas que muestran los resultados que presentan de forma más clara la relación entre los niveles de los biomarcadores y la respuesta al tratamiento, basándonos en la agrupación según los niveles o terciles de expresión de ARNm. No se han obtenido diferencias estadísticamente significativas, tanto desde el punto de vista de la agrupación y comparación según la mediana del valor de expresión del ARNm entre aquellos pacientes que tenían valores de expresión $<$ o \geq mediana como teniendo en cuenta los niveles de expresión de ARNm (Bajo, intermedio, alto). En las **Tablas 20-30** se detallan los niveles basales de expresión de ARNm de cada biomarcador con la presencia de respuesta y grado de la misma (Responder/Non responder/CR,PR,SD).

Comenzaremos por evaluar aquellos biomarcadores que están más directamente relacionados con la vía Hh: Gli1, HHAT, PRKCI, DISP1 y SOX2 (**Figura 7**).

Figura 7. Relación entre los biomarcadores Gli1, HHAT, PRKCI, DISP1 y SOX2

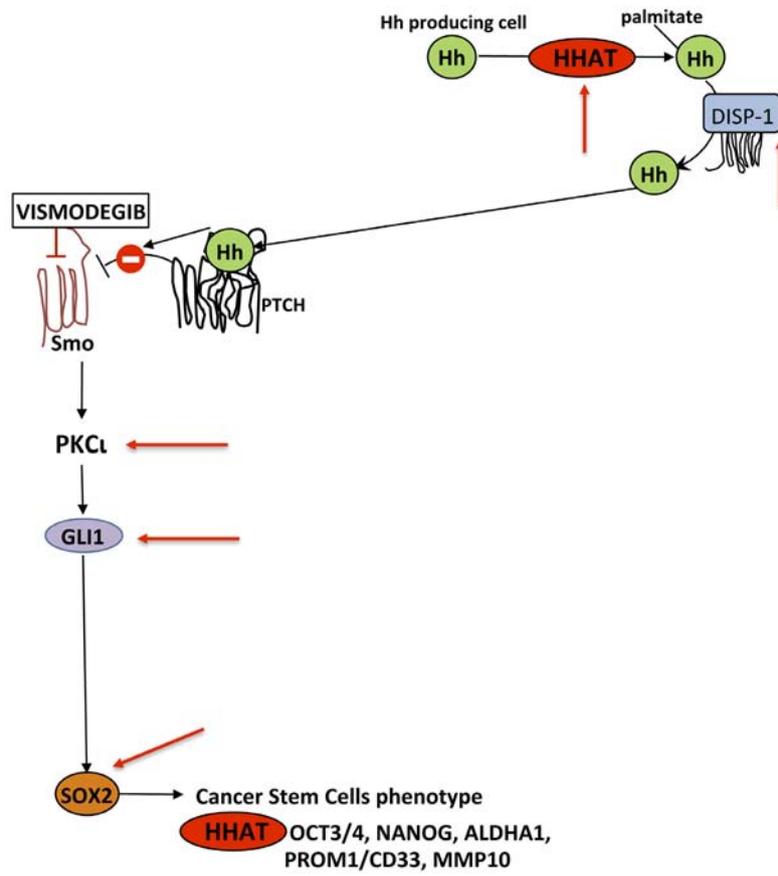


Tabla 20. Relación entre los niveles de expresión de ARNm Gli1 y respuesta al tratamiento (CR, PR y SD/Responder/Non Responder).

		Gli1 Low (N=4)	Gli1 Intermediate High (N=10)	Total (N=14)	P Value Test
Best Response					
<i>Missing</i>	N	0	0	0	
<i>Valid</i>	N	4	10	14	
CR	N (%)	1 (25.00)	1 (10.00)	2 (14.29)	Fisher: 0.1758
PR	N (%)	2 (50.00)	9 (90.00)	11 (78.57)	
SD	N (%)	1 (25.00)	0 (0.00)	1 (7.14)	

		Gli1 Low (N=4)	Gli1 Intermediate High (N=10)	Total (N=14)	P Value Test
Responders					
<i>Missing</i>	N	0	0	0	
<i>Valid</i>	N	4	10	14	
Responder	N (%)	3 (75.00)	10 (100.00)	13 (92.86)	Fisher: 0.2857
Non Responder	N (%)	1 (25.00)	0 (0.00)	1 (7.14)	

Tabla 21. Relación entre los niveles de expresión de ARNm PRKCI y respuesta al tratamiento.

		PRKCI Low (N=4)	PRKCI Intermediate High (N=10)	Total (N=14)	P Value Test
Best Response					
<i>Missing</i>	N	0	0	0	
<i>Valid</i>	N	4	10	14	
CR	N (%)	0 (0.00)	2 (20.00)	2 (14.29)	Fisher: 0.3407
PR	N (%)	3 (75.00)	8 (80.00)	11 (78.57)	
SD	N (%)	1 (25.00)	0 (0.00)	1 (7.14)	

		PRKCI Low (N=4)	PRKCI Intermediate High (N=10)	Total (N=14)	P Value Test
Responders					
<i>Missing</i>	N	0	0	0	
<i>Valid</i>	N	4	10	14	
Responder	N (%)	3 (75.00)	10 (100.00)	13 (92.86)	Fisher: 0.2857
Non Responder	N (%)	1 (25.00)	0 (0.00)	1 (7.14)	

Tabla 22. Relación entre los niveles de expresión de ARNm HHAT y respuesta al tratamiento.

		HHAT Low (N=3)	HHAT Intermediate High (N=9)	Total (N=12)	P Value Test
Best Response					
<i>Missing</i>	N	0	0	0	
<i>Valid</i>	N	3	9	12	
CR	N (%)	1 (33.33)	1 (11.11)	2 (16.67)	Fisher: 0.4545
PR	N (%)	2 (66.67)	8 (88.89)	10 (83.33)	

		HHAT Low (N=3)	HHAT Intermediate High (N=9)	Total (N=12)	P Value Test
Responders					
<i>Missing</i>	N	0	0	0	
<i>Valid</i>	N	3	9	12	
Responder	N (%)	3 (100.00)	9 (100.00)	12 (100.00)	NA

Tabla 23. Relación entre los niveles de expresión de ARNm DISP1 y respuesta al tratamiento.

		DISP1 Low (N=2)	DISP1 Intermediate High (N=6)	Total (N=8)	P Value Test
Best Response					
<i>Missing</i>	N	0	0	0	
<i>Valid</i>	N	2	6	8	
CR	N (%)	0 (0.00)	2 (33.33)	2 (25.00)	Fisher: 0.2857
PR	N (%)	1 (50.00)	4 (66.67)	5 (62.50)	
SD	N (%)	1 (50.00)	0 (0.00)	1 (12.50)	

		DISP1 Low (N=2)	DISP1 Intermediate High (N=6)	Total (N=8)	P Value Test
Responders					
<i>Missing</i>	N	0	0	0	
<i>Valid</i>	N	2	6	8	
Responder	N (%)	1 (50.00)	6 (100.00)	7 (87.50)	Fisher: 0.2500
Non Responder	N (%)	1 (50.00)	0 (0.00)	1 (12.50)	

Tabla 24. Relación entre los niveles de expresión de ARNm SOX2 y respuesta al tratamiento.

		SOX2 Low (N=2)	SOX2 Intermediate High (N=7)	Total (N=9)	P Value Test
Best Response					
<i>Missing</i>	N	0	0	0	
<i>Valid</i>	N	2	7	9	
CR	N (%)	1 (50.00)	0 (0.00)	1 (11.11)	Fisher: 0.2222
PR	N (%)	1 (50.00)	7 (100.00)	8 (88.89)	

		SOX2 Low (N=2)	SOX2 Intermediate High (N=7)	Total (N=9)	P Value Test
Best Response					
<i>Missing</i>	N	0	0	0	
<i>Valid</i>	N	2	7	9	
CR	N (%)	1 (50.00)	0 (0.00)	1 (11.11)	Fisher: 0.2222
PR	N (%)	1 (50.00)	7 (100.00)	8 (88.89)	

La mayoría de los pacientes respondedores al fármaco presentan sobreexpresión basal (valores intermedio/alto) del ARNm de los biomarcadores más directamente relacionados con la vía Hh.

Las siguientes 2 tablas corresponden a la valoración de la expresión de los biomarcadores relacionados con la vía NOTCH.

Tabla 25. Relación entre los niveles de expresión de ARNm HES1 y respuesta al tratamiento.

		HES1 Low (N=9)	HES1 Intermediate High (N=5)	Total (N=14)	P Value Test
Best Response					
<i>Missing</i>	N	0	0	0	
<i>Valid</i>	N	9	5	14	
CR	N (%)	1 (11.11)	1 (20.00)	2 (14.29)	Fisher: 1.0000
PR	N (%)	7 (77.78)	4 (80.00)	11 (78.57)	
SD	N (%)	1 (11.11)	0 (0.00)	1 (7.14)	

		HES1 Low (N=9)	HES1 Intermediate High (N=5)	Total (N=14)	P Value Test
Responders					
<i>Missing</i>	N	0	0	0	
<i>Valid</i>	N	9	5	14	
Responder	N (%)	8 (88.89)	5 (100.00)	13 (92.86)	Fisher: 1.0000
Non Responder	N (%)	1 (11.11)	0 (0.00)	1 (7.14)	

Tabla 26. Relación entre los niveles de expresión de ARNm NUMB y respuesta al tratamiento.

		NUMB Low (N=4)	NUMB Intermediate High (N=9)	Total (N=13)	P Value Test
Best Response					
<i>Missing</i>	N	0	0	0	
<i>Valid</i>	N	4	9	13	
CR	N (%)	1 (25.00)	1 (11.11)	2 (15.38)	Fisher: 1.0000
PR	N (%)	3 (75.00)	7 (77.78)	10 (76.92)	
SD	N (%)	0 (0.00)	1 (11.11)	1 (7.69)	

		NUMB Low (N=4)	NUMB Intermediate High (N=9)	Total (N=13)	P Value Test
Responders					
<i>Missing</i>	N	0	0	0	
<i>Valid</i>	N	4	9	13	
Responder	N (%)	4 (100.00)	8 (88.89)	12 (92.31)	Fisher: 1.0000
Non Responder	N (%)	0 (0.00)	1 (11.11)	1 (7.69)	

La mayoría de los pacientes respondedores presentan baja expresión basal del ARNm de HES1 pero sobreexpresión de NUMB (intermedio/alto).

Las siguientes tablas corresponden a la evaluación de la expresión de los biomarcadores relacionados con la vía AXL.

Tabla 27. Relación entre los niveles de expresión de ARNm AXL y respuesta al tratamiento.

		AXL Low Intermediate (N=9)	AXL High (N=5)	Total (N=14)	P Value Test
Best Response					
<i>Missing</i>	N	0	0	0	
<i>Valid</i>	N	9	5	14	
CR	N (%)	1 (11.11)	1 (20.00)	2 (14.29)	Fisher: 1.0000
PR	N (%)	7 (77.78)	4 (80.00)	11 (78.57)	
SD	N (%)	1 (11.11)	0 (0.00)	1 (7.14)	

		AXL Low Intermediate (N=9)	AXL High (N=5)	Total (N=14)	P Value Test
Responders					
<i>Missing</i>	N	0	0	0	
<i>Valid</i>	N	9	5	14	
Responder	N (%)	8 (88.89)	5 (100.00)	13 (92.86)	Fisher: 1.0000
Non Responder	N (%)	1 (11.11)	0 (0.00)	1 (7.14)	

Tabla 28. Relación entre los niveles de expresión de ARNm GAS6 y respuesta al tratamiento.

		GAS6 Low Intermediate (N=8)	GAS6 High (N=5)	Total (N=13)	P Value Test
Best Response					
<i>Missing</i>	N	0	0	0	
<i>Valid</i>	N	8	5	13	
CR	N (%)	1 (12.50)	1 (20.00)	2 (15.38)	Fisher: 1.0000
PR	N (%)	6 (75.00)	4 (80.00)	10 (76.92)	
SD	N (%)	1 (12.50)	0 (0.00)	1 (7.69)	

		GAS6 Low Intermediate (N=8)	GAS6 High (N=5)	Total (N=13)	P Value Test
Responders					
<i>Missing</i>	N	0	0	0	
<i>Valid</i>	N	8	5	13	
Responder	N (%)	7 (87.50)	5 (100.00)	12 (92.31)	Fisher: 1.0000
Non Responder	N (%)	1 (12.50)	0 (0.00)	1 (7.69)	

La mayoría de los pacientes respondedores al fármaco presentan nivel bajo/intermedio de expresión del ARNm de los biomarcadores AXL y GAS6.

A continuación, se presentan los datos basales de expresión de los marcadores de apoptosis (BIM y BIM_EL).

Tabla 29. Relación entre los niveles de expresión de ARNm BIM y respuesta al tratamiento.

		BIM Low (N=4)	BIM Intermediate High (N=9)	Total (N=13)	P Value Test
Best Response					
<i>Missing</i>	N	0	0	0	
<i>Valid</i>	N	4	9	13	
CR	N (%)	0 (0.00)	2 (22.22)	2 (15.38)	Fisher: 0.6643
PR	N (%)	4 (100.00)	6 (66.67)	10 (76.92)	
SD	N (%)	0 (0.00)	1 (11.11)	1 (7.69)	

		BIM Low (N=4)	BIM Intermediate High (N=9)	Total (N=13)	P Value Test
Responders					
<i>Missing</i>	N	0	0	0	
<i>Valid</i>	N	4	9	13	
Responder	N (%)	4 (100.00)	8 (88.89)	12 (92.31)	Fisher: 1.0000
Non Responder	N (%)	0 (0.00)	1 (11.11)	1 (7.69)	

Tabla 30. Relación entre los niveles de expresión de ARNm BIM_EL y respuesta al tratamiento.

		BIM_EL Low (N=3)	BIM_EL Inter- mediate High (N=9)	Total (N=12)	P Value Test
Best Response					
<i>Missing</i>	N	0	0	0	
<i>Valid</i>	N	3	9	12	
CR	N (%)	1 (33.33)	1 (11.11)	2 (16.67)	Fisher: 0.6182
PR	N (%)	2 (66.67)	7 (77.78)	9 (75.00)	
SD	N (%)	0 (0.00)	1 (11.11)	1 (8.33)	

		BIM_EL Low (N=3)	BIM_EL Inter- mediate High (N=9)	Total (N=12)	P Value Test
Responders					
<i>Missing</i>	N	0	0	0	
<i>Valid</i>	N	3	9	12	
Responder	N(%)	3 (100.00)	8 (88.89)	11 (91.67)	Fisher: 1.0000
Non Responder	N(%)	0 (0.00)	1 (11.11)	1 (8.33)	

La mayoría de los respondedores presentan sobreexpresión (nivel intermedio/alto) del ARNm de los biomarcadores relacionados con la apoptosis tumoral.

7.5.5. ANÁLISIS UNIVARIANTE DE LA RELACIÓN ENTRE LA SG Y SLP CON LA EXPRESIÓN DE ARNm DE LOS BIOMARCADORES SELECCIONADOS EN BIOPSIAS BASALES.

Las Tablas 31 y 32 resumen los resultados de la aplicación del modelo de regresión de Cox univariante para analizar la relación entre la SG y SLP con la expresión del ARNm de cada biomarcador en las biopsias basales, como variable explicativa continua.

Tabla 31. Regresión de Cox que relaciona la SG con la expresión basal global del ARNm de los biomarcadores analizados.

Variable	Cox regression			
	N	Contrast	Pr > ChiSq	Hazard Ratio (CI 95%)
BIM	13	bim as continuous variable	0.2267	2.266 (0.602, 8.533)
BIM_EL	12	bim_el as continuous variable	0.9999	1.2386E8 (0.000, NA)
HES1	14	hes1 as continuous variable	0.9735	0.967 (0.130, 7.198)
NUMB	13	numb as continuous variable	0.8681	0.443 (0.000, 6514.292)
AXL	14	AXL as continuous variable	0.8745	1.049 (0.578, 1.903)
GAS6	13	Gas6 as continuous variable	0.8174	0.641 (0.015, 27.979)
Gli1	14	Gli1 as continuous variable	0.0971	1.006 (0.999, 1.013)
PRKCI	14	prkci as continuous variable	0.3382	1.162 (0.855, 1.579)
HHAT	12	hhat as continuous variable	0.3299	1.154 (0.865, 1.539)
DISP1	8	disp1 as continuous variable	0.5716	3.767 (0.038, 372.647)
SOX2	9	sox2 as continuous variable	.	1.000 (1.000, 1.000)

Tabla 32. Regresión de Cox que relaciona la SLP con la expresión basal global de ARNm de los biomarcadores analizados.

Variable	Cox regression			
	N	Contrast	Pr > ChiSq	Hazard Ratio (CI 95%)
BIM	13	bim as continuous variable	0.5733	1.187 (0.654, 2.155)
BIM_EL	12	bim_el as continuous variable	0.0731	2.591 (0.915, 7.338)
HES1	14	hes1 as continuous variable	0.6597	1.271 (0.438, 3.689)
NUMB	13	numb as continuous variable	0.7969	0.480 (0.002, 128.059)
AXL	14	AXL as continuous variable	0.9215	1.028 (0.595, 1.776)
GAS6	13	gas6 as continuous variable	0.2407	2.348 (0.564, 9.775)
Gli1	14	Gli1 as continuous variable	0.0807	1.005 (0.999, 1.011)
PRKCI	14	prkci as continuous variable	0.3364	1.095 (0.910, 1.317)
HHAT	12	hhat as continuous variable	0.6054	1.052 (0.869, 1.273)
DISP1	8	disp1 as continuous variable	0.2581	4.048 (0.359, 45.660)
SOX2	9	sox2 as continuous variable	0.6936	0.998 (0.990, 1.007)

De todos los biomarcadores analizados, no hay ninguno cuyos niveles basales predigan o tengan una mayor implicación en la determinación a priori de tasas de SG y SLP. Observamos que no existen diferencias estadísticamente significativas entre los valores de expresión basal de ARNm de los diferentes biomarcadores y la SG y SLP; sin embargo, a nivel observacional, podríamos apuntar que, respecto a la SG, el hallazgo de determinados biomarcadores con $HR < 1$ (HES1, NUMB, GAS6) sugeriría que niveles basales de expresión altos se correlacionarían con una mayor SG, de forma similar que ocurriría con NUMB respecto a la SLP.

Las **Tablas 33-36** resumen los resultados del análisis univariante de la relación entre la SLP y los niveles de expresión basales de ARNm de cada biomarcador como variables explicativas. Se han creado 3 categorías según el nivel de expresión de ARNm para cada biomarcador (bajo, intermedio, alto).

Debido al pequeño número de casos y eventos (éxitos), algunas de las categorías no tienen asignado caso para algunos de los biomarcadores. Las siguientes tablas muestran los resultados con los biomarcadores en los que fue factible el análisis.

Tabla 33. Análisis univariante de la relación entre la SLP y los niveles de expresión basal de ARNm de determinados biomarcadores como variables categóricas, comparando de forma independiente los 3 grupos de expresión (bajo, intermedio vs alto).

Variable			Kaplan-Meier model					Cox regression			
Stratum value	N	Events N (%)	Censored N (%)	Median (CI 95%)	Log-rank (p-value)	N	Contrast	Pr > ChiSq	Hazard Ratio (CI 95%)		
HES1	5	4 (80.00%)	1 (20.00%)	25.03 (10.00,25.33)	0.6293	14	HES1 Intermediate vs High	0.6525	0.356 (0.039, 3.247)		
Intermediate	5	1 (20.00%)	4 (80.00%)	NA(5.00,NA)	.	.	HES1 Low vs High	.	0.942 (0.093, 9.574)		
Low	4	1 (25.00%)	3 (75.00%)	NA(22.31,NA)	.	.		.			
AXL	5	2 (40.00%)	3 (60.00%)	25.03 (5.00,25.03)	0.6702	14	AXL Intermediate vs High	0.6888	0.382 (0.032, 4.619)		
Intermediate	5	1 (20.00%)	4 (80.00%)	NA(10.00,NA)	.	.	AXL Low vs High	.	0.994 (0.152, 6.492)		
Low	4	3 (75.00%)	1 (25.00%)	23.49 (22.31,25.33)	.	.		.			
GLI1	5	4 (80.00%)	1 (20.00%)	23.49 (5.00,25.33)	0.3488	14	GLI1 Intermediate vs High	0.3930	0.367 (0.039, 3.464)		
Intermediate	5	1 (20.00%)	4 (80.00%)	25.03 (NA,NA)	.	.	GLI1 Low vs High	.	0.260 (0.029, 2.349)		
Low	4	1 (25.00%)	3 (75.00%)	NA(22.31,NA)	.	.		.			
PRKCI	5	4 (80.00%)	1 (20.00%)	25.03 (5.00,25.33)	0.4915	14	PRKCI Intermediate vs High	0.5238	0.513 (0.050, 5.228)		
Intermediate	5	1 (20.00%)	4 (80.00%)	NA(23.49,NA)	.	.	PRKCI Low vs High	.	0.295 (0.032, 2.696)		
Low	4	1 (25.00%)	3 (75.00%)	NA(22.31,NA)	.	.		.			
HHAT	5	3 (60.00%)	2 (40.00%)	23.49 (5.00,25.03)	0.5186	12	HHAT Intermediate vs High	0.5581	0.294 (0.030, 2.839)		
Intermediate	4	2 (50.00%)	2 (50.00%)	25.33 (10.00,25.33)	.	.	HHAT Low vs High	.	0.937 (0.077, 11.416)		
Low	3	1 (33.33%)	2 (66.67%)	22.31 (NA,NA)	.	.		.			
DISP1	3	1 (33.33%)	2 (66.67%)	23.49 (NA,NA)	0.9079	8	DISP1 Intermediate vs High	0.9094	0.889 (0.070, 11.300)		
Intermediate	3	2 (66.67%)	1 (33.33%)	25.33 (10.00,25.33)	.	.	DISP1 Low vs High	.	0.555 (0.029, 10.732)		
Low	2	1 (50.00%)	1 (50.00%)	NA(22.31,NA)	.	.		.			

Para un período de seguimiento máximo de 30 meses, no existen diferencias estadísticamente significativas entre la SLP y los niveles de expresión de ARNm bajo/intermedio vs alto de los diferentes biomarcadores. Desde el punto de vista exploratorio, en algunos biomarcadores parece haber una tendencia a que niveles más altos de expresión basal de ARNm esté relacionado con un mayor riesgo de recurrencia o éxitus, pero éstos datos se deben interpretar con precaución debido al tamaño pequeño de la muestra y el número escaso de eventos (2 éxitus y 4 recidivas)

Tabla 34. Análisis univariante de la relación entre la SLP y los niveles de expresión basal de ARNm de determinados biomarcadores como variables categóricas, agrupando los niveles bajo e intermedio y comparando con el nivel alto (bajo/intermedio vs alto).

	Variable		Kaplan-Meier model				Cox regression			
	Stratum value	N	Events N (%)	Censored N (%)	Median (CI 95%)	Log-rank (p-value)	N	Contrast	Pr > ChiSq	Hazard Ratio (CI 95%)
BIM	High	5	3 (60.00%)	2 (40.00%)	25.18 (5.00,NA)	0.6431	13	BIM Low/Intermediate vs High	0.6471	1.771 (0.153, 20.453)
	Low/Intermediate	8	2 (25.00%)	6 (75.00%)	23.49 (22.31,NA)	.	.		.	
HES1	High	5	4 (80.00%)	1 (20.00%)	25.03 (10.00,25.33)	0.4379	14	HES1Low/Intermediate vs High	0.4457	0.512 (0.091, 2.863)
	Low/Intermediate	9	2 (22.22%)	7 (77.78%)	NA (5.00,NA)	.	.		.	
NUMB	High	5	2 (40.00%)	3 (60.00%)	23.49 (5.00,NA)	0.9978	13	NUMB Low/Intermediate vs High	0.9978	0.997 (0.162, 6.134)
	Low/Intermediate	8	3 (37.50%)	5 (62.50%)	25.33 (10.00,25.33)	.	.		.	
AXL	High	5	2 (40.00%)	3 (60.00%)	25.03 (5.00,25.03)	0.7191	14	AXL Low/Intermediate vs High	0.7203	0.720 (0.119, 4.348)
	Low/Intermediate	9	4 (44.44%)	5 (55.56%)	23.49 (10.00,NA)	.	.		.	
Gli1	High	5	4 (80.00%)	1 (20.00%)	23.49 (5.00,25.33)	0.1493	14	Gli1 Low/Intermediate vs High	0.1724	0.304 (0.055, 1.683)
	Low/Intermediate	9	2 (22.22%)	7 (77.78%)	25.03 (22.31,NA)	.	.		.	
PRKCI	High	5	4 (80.00%)	1 (20.00%)	25.03 (5.00,25.33)	0.2463	14	PRKCI Low/Intermediate vs High	0.2629	0.371 (0.065, 2.107)
	Low/Intermediate	9	2 (22.22%)	7 (77.78%)	NA(22.31,NA)	.	.		.	
HHAT	High	5	3 (60.00%)	2 (40.00%)	23.49 (5.00,25.03)	0.3525	12	HHAT Low/Intermediate vs High	0.3652	0.432 (0.070, 2.656)
	Low/Intermediate	7	3 (42.86%)	4 (57.14%)	25.33 (10.00,25.33)	.	.		.	
DISP1	High	3	1 (33.33%)	2 (66.67%)	23.49 (NA, NA)	0.8185	8	DISP° Low/Intermediate vs High	0.8191	0.752 (0.066, 8.608)
	Low/Intermediate	5	3 (60.00%)	2 (40.00%)	25.33 (10.00,NA)	.	.		.	

No se observan diferencias estadísticamente significativas en la SLP y la distribución de los niveles bajo/intermedio vs alto de los biomarcadores analizados. Desde el punto de vista observacional, vemos que aquellos pacientes que presentan un nivel de expresión basal bajo/intermedio de determinados biomarcadores presentan una mediana de SLP mayor: NUMB, Gli1, HHAT, DISP1.

Tabla 35. Análisis univariante de la relación entre la SLP y los niveles de expresión basal de ARNm de determinados biomarcadores, agrupando los niveles intermedio y alto y comparando con el nivel bajo (bajo vs intermedio/alto).

Variable		Kaplan-Meier model				Cox regression			
Stratum value	N	Events N (%)	Censored N (%)	Median (CI 95%)	Log-rank (p-value)	N	Contrast	Pr > ChiSq	Hazard Ratio (CI 95%)
BIM	Intermediate/High	3 (33.33%)	6 (66.67%)	25.33 (5.00,NA)	0.1359	13	BIM Low vs Intermediate/High	0.1793	5.290 (0.465, 60.169)
	Low	2 (50.00%)	2 (50.00%)	22.90 (22.31,23.49)					
NUMB	Intermediate/High	3 (33.33%)	6 (66.67%)	23.49 (5.00,NA)	0.9293	13	NUMB Low vs Intermediate/High	0.9293	0.921 (0.151, 5.612)
	Low	2 (50.00%)	2 (50.00%)	25.33 (10.00,25.33)					
AXL	Intermediate/High	3 (30.00%)	7 (70.00%)	25.03 (5.00,NA)	0.5893	14	AXL Low vs Intermediate/High	0.5922	1.554 (0.310, 7.790)
	Low	3 (75.00%)	1 (25.00%)	23.49 (22.31,25.33)					

No se observan diferencias estadísticamente significativas en la SLP y la distribución de los niveles bajo vs intermedio/alto de los biomarcadores analizados. Al realizar una agrupación diferente entre niveles de expresión, vemos de nuevo que niveles basales bajos de NUMB podrían estar relacionados con una mediana de SLP mayor.

Tabla 36. Analisis univariante de la relación entre la SLP y los niveles de expresión basal de ARNm de determinados biomarcadores (<mediana, ≥mediana)

Variable		Kaplan-Meier model						Cox regression			
Stratum value	N	Events N (%)	Censored N (%)	Median (CI 95%)	Log-rank (p-value)	N	Contrast	Pr > ChiSq	Hazard Ratio (CI 95%)		
BIM < median	6	2 (33.33%)	4 (66.67%)	23.49 (22.31,NA)	0.4024	13	BIM < median vs >=median	0.4210	2.681 (0.243, 29.637)		
>=median	7	3 (42.86%)	4 (57.14%)	25.33 (5.00,NA)		
BIM_EL < median	6	2 (33.33%)	4 (66.67%)	25.33 (22.31,NA)	0.5637	12	BIM_EL < median vs >=median	0.5715	0.500 (0.045, 5.514)		
>=median	6	2 (33.33%)	4 (66.67%)	23.49 (5.00,NA)		
HES1 < median	6	2 (33.33%)	4 (66.67%)	22.31 (5.00,NA)	0.3052	14	HES1 < median vs >=median	0.3242	2.701 (0.375, 19.465)		
>=median	8	4 (50.00%)	4 (50.00%)	25.03 (10.00,NA)		
NUM < median	6	3 (50.00%)	3 (50.00%)	25.33 (10.00,25.33)	0.6254	13	NUMB < median vs >=median	0.6282	1.556 (0.260, 9.326)		
>=median	7	2 (28.57%)	5 (71.43%)	23.49 (5.00,NA)		
AXL < median	7	3 (42.86%)	4 (57.14%)	25.33 (22.31,NA)	0.3415	14	AXL < median vs >=median	0.3550	0.425 (0.069, 2.605)		
>=median	7	3 (42.86%)	4 (57.14%)	25.03 (5.00,25.03)		
GAS6 < median	5	1 (20.00%)	4 (80.00%)	.NA(22.31,NA)	0.3469	13	GAS6 < median vs >=median	0.3667	0.363 (0.040, 3.279)		
>=median	8	4 (50.00%)	4 (50.00%)	25.03 (5.00,25.33)		
Gli1 < median	7	1 (14.29%)	6 (85.71%)	NA(22.31,NA)	0.1637	14	Gli1 < median vs >=median	0.1980	0.242 (0.028, 2.100)		
>=median	7	5 (71.43%)	2 (28.57%)	23.49 (5.00,25.33)		
PRKCI < median	7	1 (14.29%)	6 (85.71%)	NA (22.31,NA)	0.1637	14	PRKCI < median vs >=median	0.1980	0.242 (0.028, 2.100)		
>=median	7	5 (71.43%)	2 (28.57%)	23.49 (5.00,25.33)		
HHAT < median	6	2 (33.33%)	4 (66.67%)	NA (10.00,NA)	0.9135	12	HHAT < median vs >=median	0.9134	1.120 (0.146, 8.586)		
>=median	6	4 (66.67%)	2 (33.33%)	25.03 (5.00,25.33)		
DISP1 < median	4	2 (50.00%)	2 (50.00%)	25.33 (22.31,NA)	0.1743	8	DISP1 < median vs >=median	0.2099	0.205 (0.017, 2.444)		
>=median	4	2 (50.00%)	2 (50.00%)	23.49 (10.00,23.49)		
SOX2 < median	4	1 (25.00%)	3 (75.00%)	. (22.31,NA)	0.9219	9	SOX2 < median vs >=median	0.9219	1.155 (0.065, 20.509)		
>=median	5	2 (40.00%)	3 (60.00%)	24.26 (23.49,25.03)		

No hay diferencias estadísticamente significativas en la distribución de la SLP entre el nivel < y ≥ mediana, de los biomarcadores analizados. A nivel observacional y sin poder establecer relaciones estadísticas directas ni concluyentes, vemos que aquellos pacientes que presentan niveles basales de expresión de determinados biomarcadores ≥ mediana se relacionan con una mediana de SLP mayor como son BIM y HES1, mientras que aquellos pacientes que presentan niveles basales de expresión de BIM_EL, NUMB y DISP1 < mediana tienen una mediana de SLP mayor.

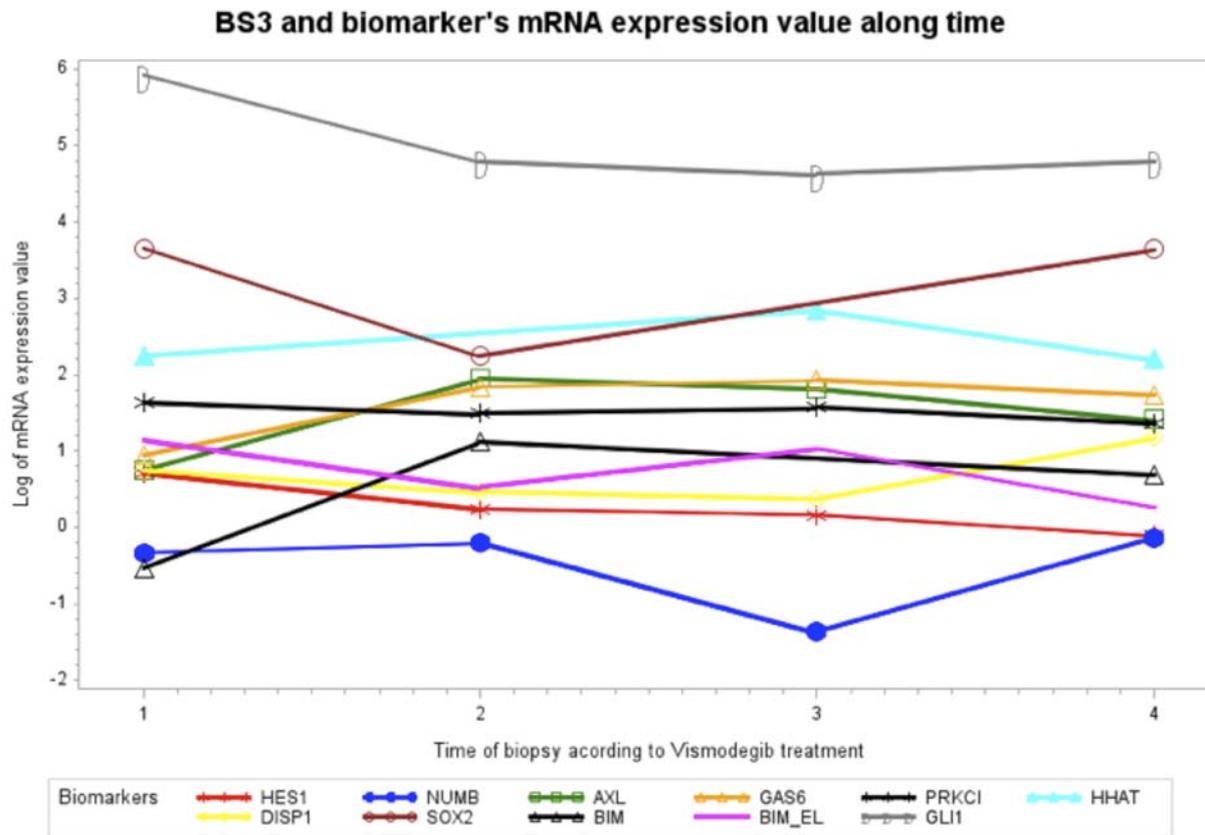
7.5.6. EVOLUCIÓN DE LOS NIVELES DE EXPRESIÓN DE ARNm DE LOS BIOMARCADORES EN AQUELLOS PACIENTES CON ≥ 2 BIOPSIAS ANALIZADAS

En esta sección, para cada paciente seleccionado, se representa la evolución del valor de la expresión de ARNm de los diferentes biomarcadores de forma conjunta y por separado para cada biomarcador. Con el fin de incluir a todos los biomarcadores en la misma gráfica, el registro de la expresión del valor se calcula de manera que los valores numéricos obtenidos sean comparables.

Los pacientes seleccionados son los que tenían ≥ 2 muestras analizadas. Las **Gráficas 14-20** representan a los pacientes BS3 (paciente nº 6), BS4 (paciente nº 2), BS6 (paciente nº 14), BS7 (paciente nº 13), BS10 (paciente nº 3), BS13 (paciente nº 11), y BS15 (paciente nº 1), respectivamente.

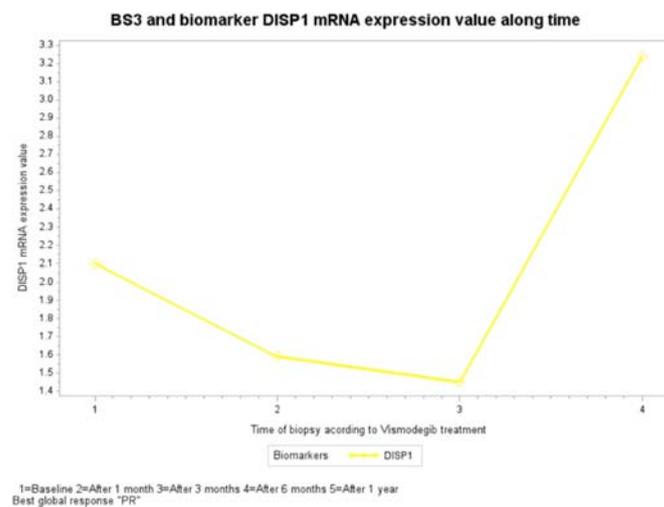
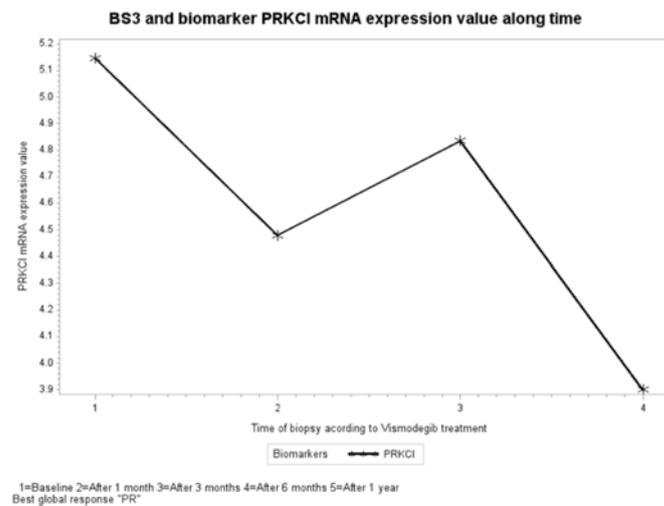
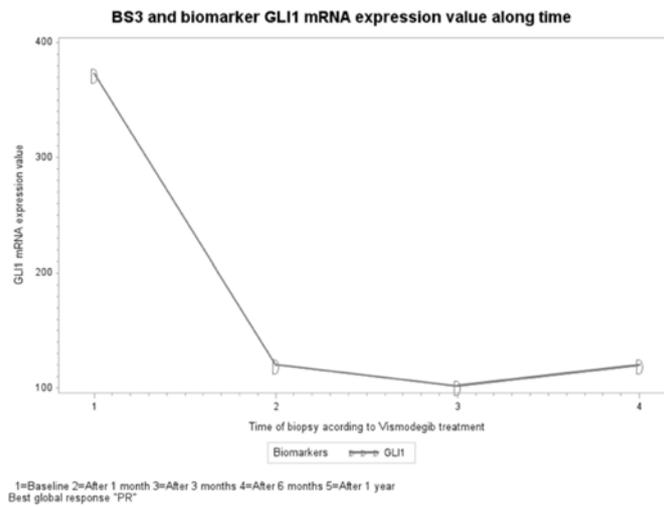
Los valores negativos en el eje vertical corresponden al logaritmo de los valores de expresión cuando son < 1 .

Gráfica 14.

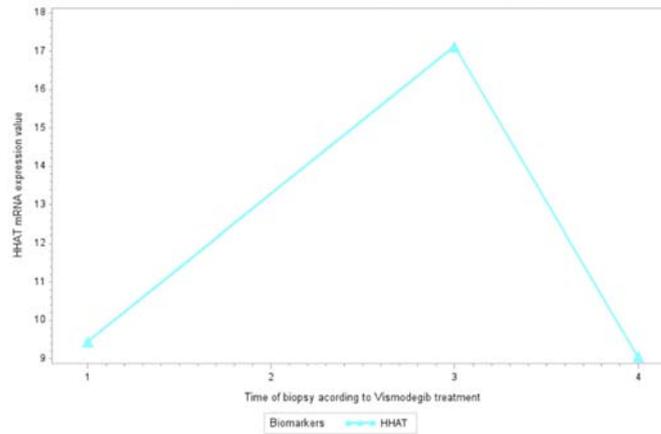


1=Baseline 2=After 1 month 3=After 3 months 4=After 6 months 5=After 1 year
 Best global response "PR"

Gráfica 15. Representa el conjunto de gráficas que expresan la evolución de la expresión de ARNm de cada biomarcador en los diferentes momentos evolutivos del tratamiento con vismodegib en éste paciente.

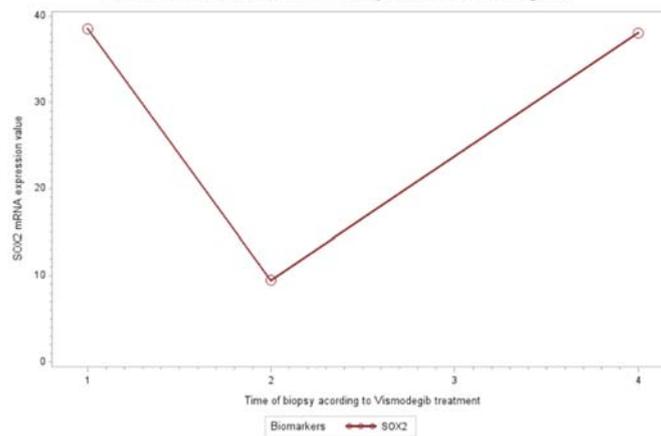


BS3 and biomarker HHAT mRNA expression value along time



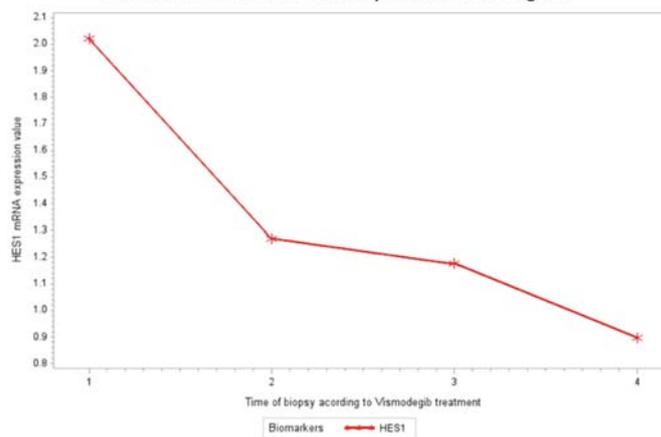
1=Baseline 2=After 1 month 3=After 3 months 4=After 6 months 5=After 1 year
Best global response "PR"

BS3 and biomarker SOX2 mRNA expression value along time

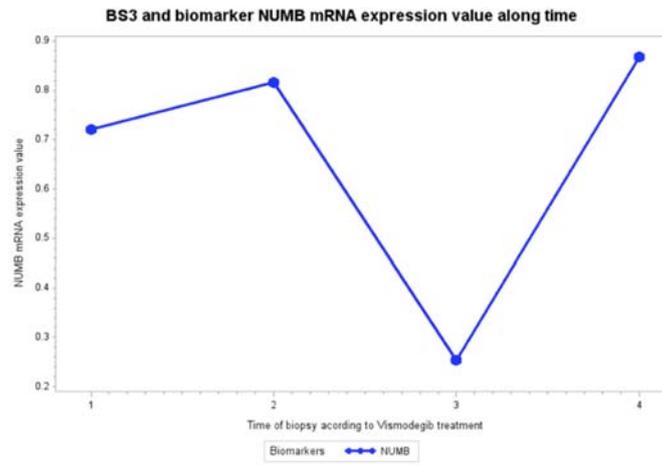


1=Baseline 2=After 1 month 3=After 3 months 4=After 6 months 5=After 1 year
Best global response "PR"

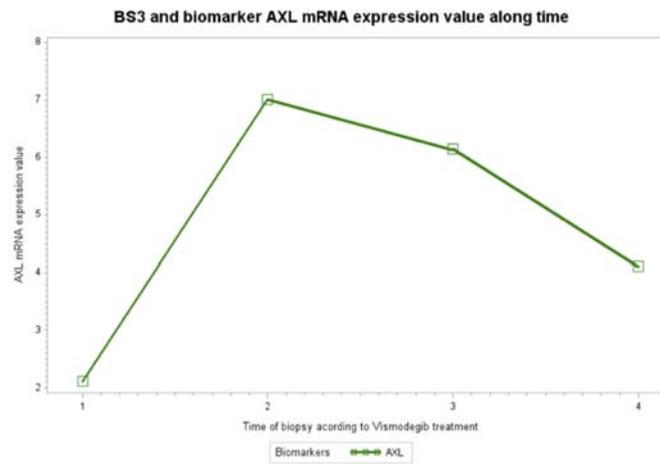
BS3 and biomarker HES1 mRNA expression value along time



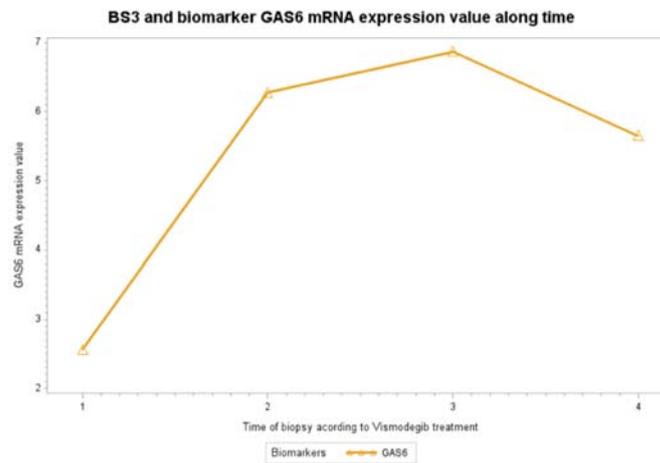
1=Baseline 2=After 1 month 3=After 3 months 4=After 6 months 5=After 1 year



1=Baseline 2=After 1 month 3=After 3 months 4=After 6 months 5=After 1 year
Best global response "PR"

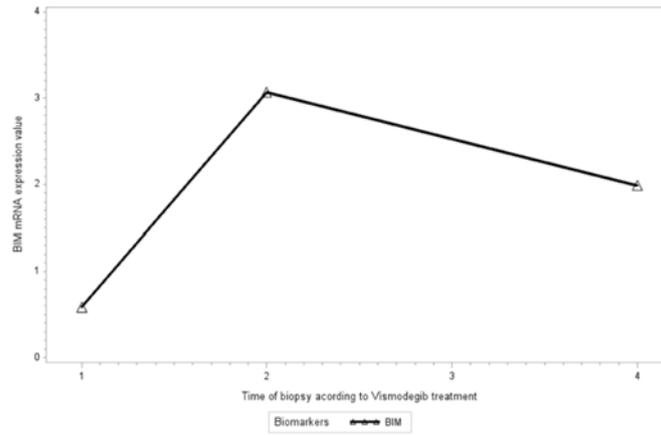


1=Baseline 2=After 1 month 3=After 3 months 4=After 6 months 5=After 1 year
Best global response "PR"



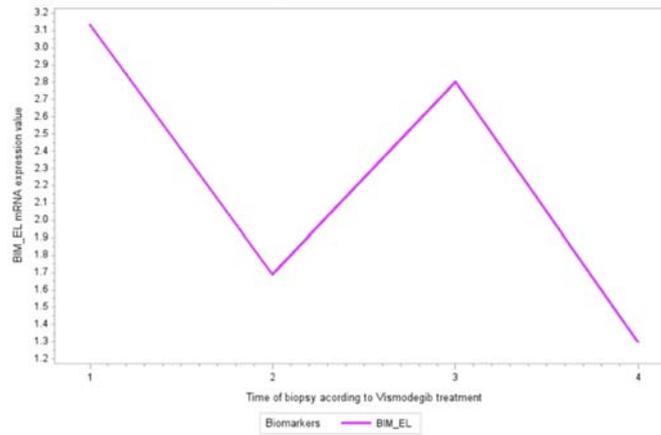
1=Baseline 2=After 1 month 3=After 3 months 4=After 6 months 5=After 1 year
Best global response "PR"

BS3 and biomarker BIM mRNA expression value along time



1=Baseline 2=After 1 month 3=After 3 months 4=After 6 months 5=After 1 year
Best global response "PR"

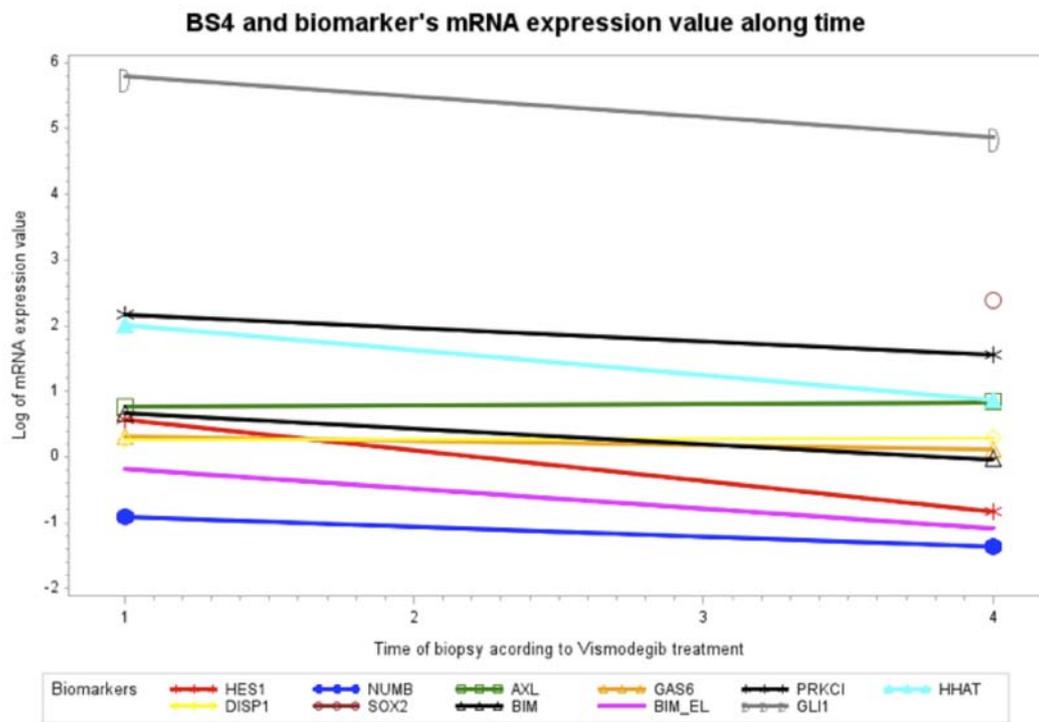
BS3 and biomarker BIM_EL mRNA expression value along time



1=Baseline 2=After 1 month 3=After 3 months 4=After 6 months 5=After 1 year
Best global response "PR"

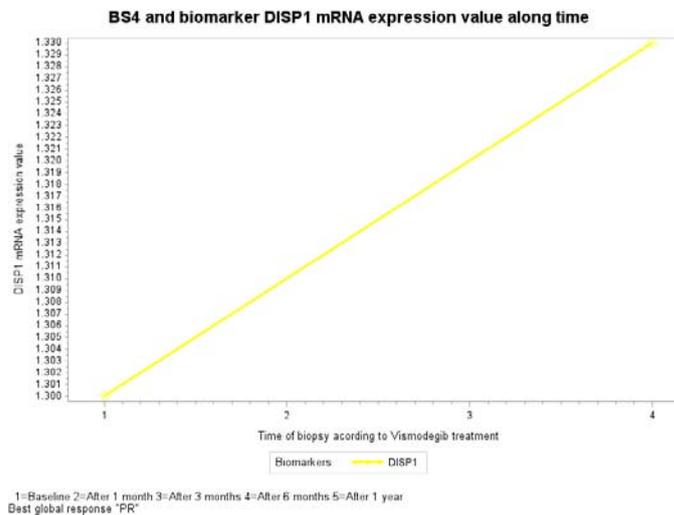
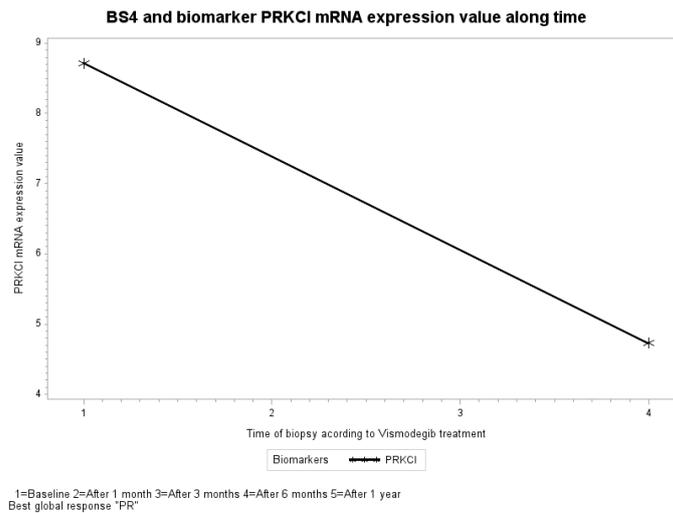
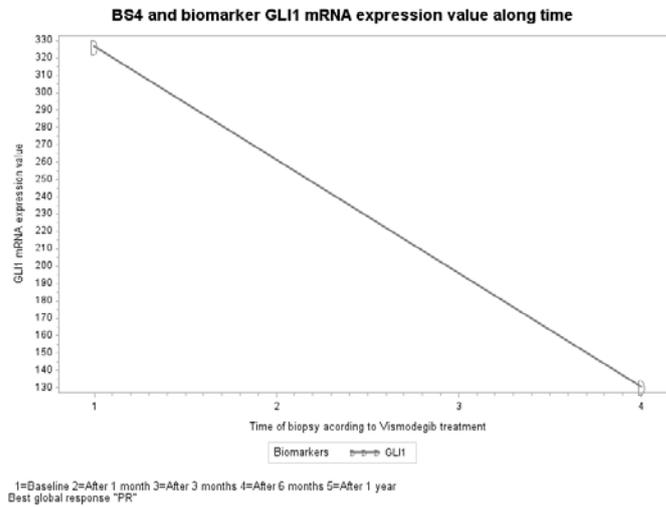
BS3 corresponde al paciente n° 6, diagnosticado de SG y que experimentó una discreta RP en el curso del tratamiento con vismodegib. Este paciente recibió el tratamiento durante 7 meses y las principales causas de finalización del tratamiento fueron la estabilidad de la respuesta clínica al fármaco y EA intolerables. Durante el período de tratamiento, el paciente presentó disminución discreta de los CBC de mayor tamaño y no se objetivaron CBC de novo. De éste paciente disponemos de 4 biopsias analizadas en los diferentes momentos evolutivos (basal, 1, 3 y 6 meses). En todas las biopsias realizadas se objetivaba persistencia tumoral, aunque con mayor porcentaje de fibrosis en las biopsias realizadas durante el tratamiento en comparación con la biopsia basal, lo que es indicativo de respuesta al fármaco, y objetivándose diferenciación escamosa sobre todo en la biopsia de los 3 meses. Respecto a los biomarcadores relacionados directamente con Hh, observamos que los niveles de expresión más altos corresponden al biomarcador Gli, y vemos que hay una tendencia coherente al descenso en todos ellos excepto DISP1 en respuesta al fármaco, al igual que se observa disminución de HES1; sin embargo existe una tendencia al incremento o a la estabilidad respecto a los niveles basales del resto de biomarcadores. BIM presenta incremento discreto de sus niveles durante el tratamiento, lo que ya se correlaciona con la apoptosis celular tumoral y el grado de RP del paciente, es decir, estos datos sugerirían que existe un cierto grado de respuesta pero también de resistencia al fármaco.

Gráfica 16.

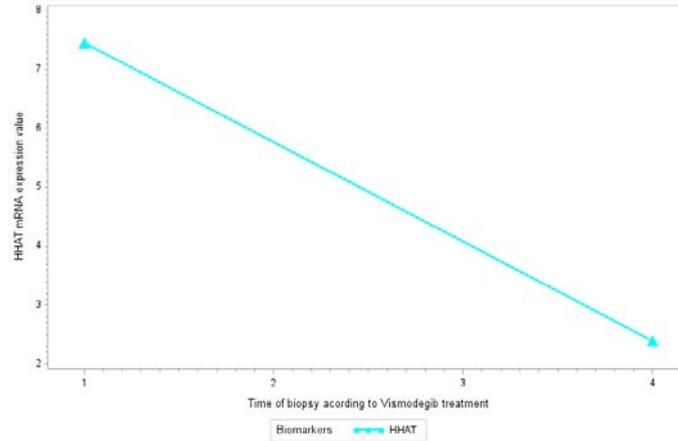


1=Baseline 2=After 1 month 3=After 3 months 4=After 6 months 5=After 1 year
 Best global response "PR"

Gráfica 17. Representa el conjunto de gráficas que expresan la evolución de la expresión de ARNm de cada biomarcador en los diferentes momentos evolutivos del tratamiento con vismodegib en éste paciente.

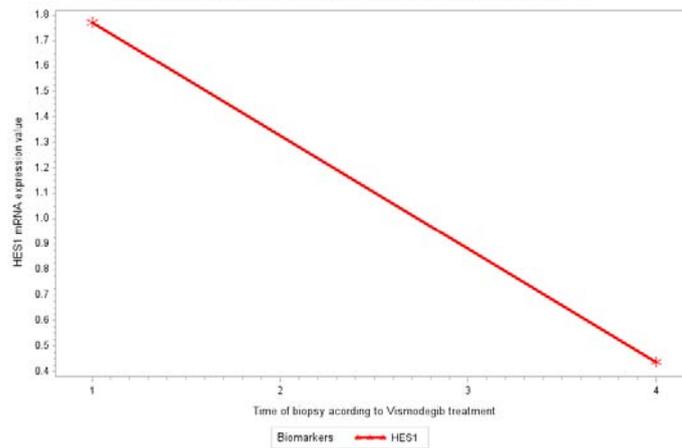


BS4 and biomarker HHAT mRNA expression value along time



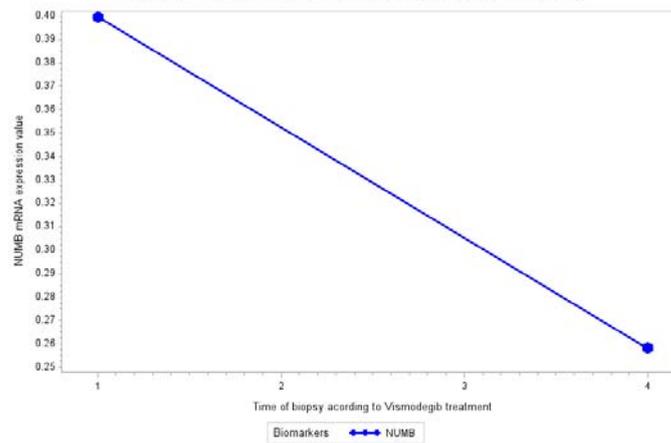
1=Baseline 2=After 1 month 3=After 3 months 4=After 6 months 5=After 1 year
Best global response "PR"

BS4 and biomarker HES1 mRNA expression value along time

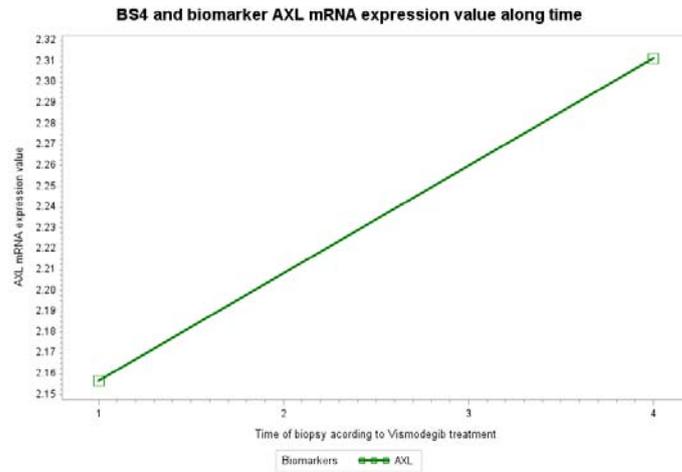


1=Baseline 2=After 1 month 3=After 3 months 4=After 6 months 5=After 1 year
Best global response "PR"

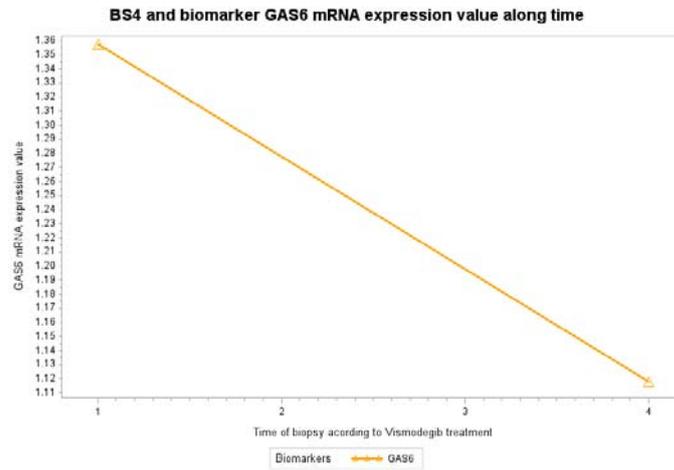
BS4 and biomarker NUMB mRNA expression value along time



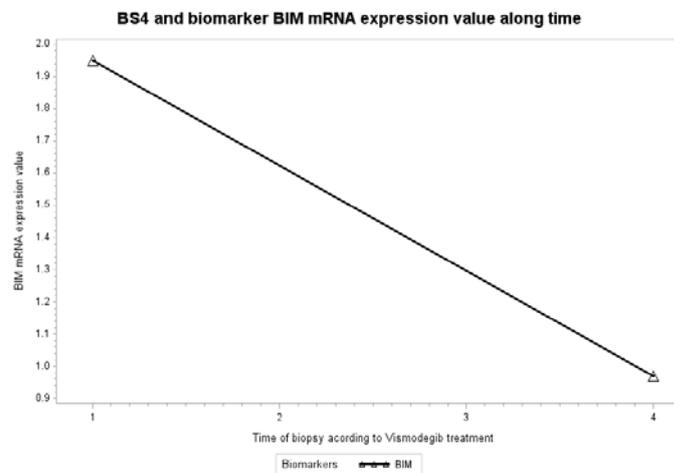
1=Baseline 2=After 1 month 3=After 3 months 4=After 6 months 5=After 1 year
Best global response "PR"



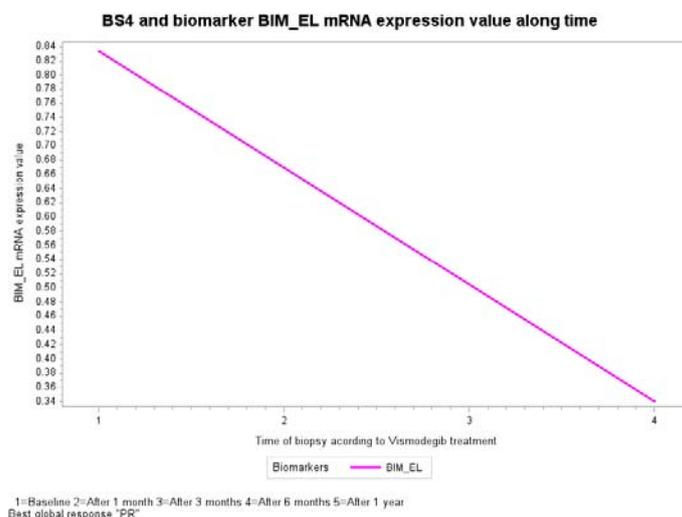
1=Baseline 2=After 1 month 3=After 3 months 4=After 6 months 5=After 1 year
Best global response "PR"



1=Baseline 2=After 1 month 3=After 3 months 4=After 6 months 5=After 1 year
Best global response "PR"



1=Baseline 2=After 1 month 3=After 3 months 4=After 6 months 5=After 1 year
Best global response "PR"

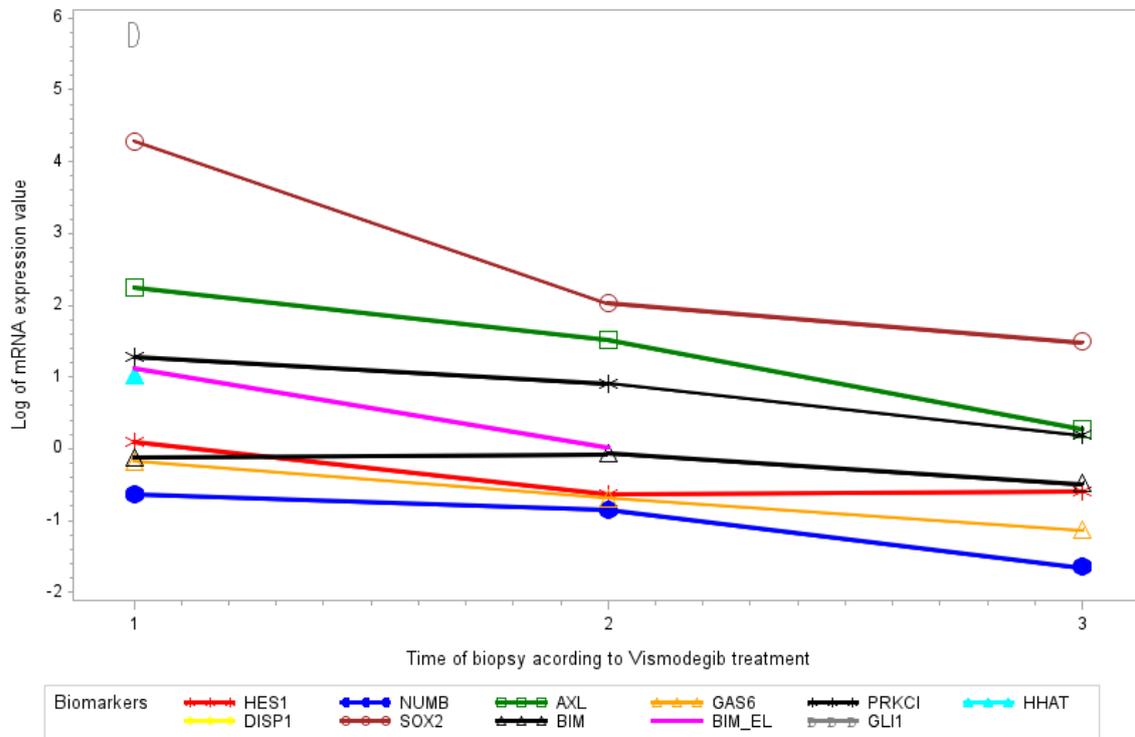


BS4 corresponde a la paciente nº 2, con historia de desarrollo de múltiples CBC y síndrome genético no filiado, y que experimentó una discreta RP en el curso del tratamiento con vismodegib. Esta paciente recibió tratamiento durante 11 meses y la finalización del mismo coincidió con una estabilidad en la respuesta clínica y EA intolerables. La paciente experimentó una disminución de los CBC de mayor tamaño y no se observó aparición de CBC de novo durante el tratamiento. De ésta paciente disponemos de 2 biopsias en los momentos evolutivos basal y 6 meses de tratamiento, en la que se observaba persistencia tumoral, con similar porcentaje de fibrosis respecto a la biopsia basal pero con mayor grado de IC, lo que podría ser indicativo de respuesta al fármaco.

Respecto a la respuesta evolutiva de los biomarcadores vemos que, de igual manera que en el paciente nº 6, los niveles basales más elevados corresponden a Gli1. Respecto a la biopsia basal, objetivamos que en la biopsia de los 6 meses hay una tendencia coherente al descenso discreto en aquellos biomarcadores relacionados directamente con Hh como son Gli, PRKCI y HHAT, además de otros como HES1, NUMB, GAS6 y de los marcadores de apoptosis BIM y BIM_EL; se observa aumento discreto de DISP1 y AXL. Únicamente disponemos de los niveles de SOX2 a los 6 meses por lo que no los podemos comparar con niveles basales. Principalmente, el descenso discreto de los biomarcadores de la vía Hh y la ausencia de elevación de los marcadores de apoptosis se correlacionarían con la discreta RP que ésta paciente experimentó durante el tratamiento con vismodegib.

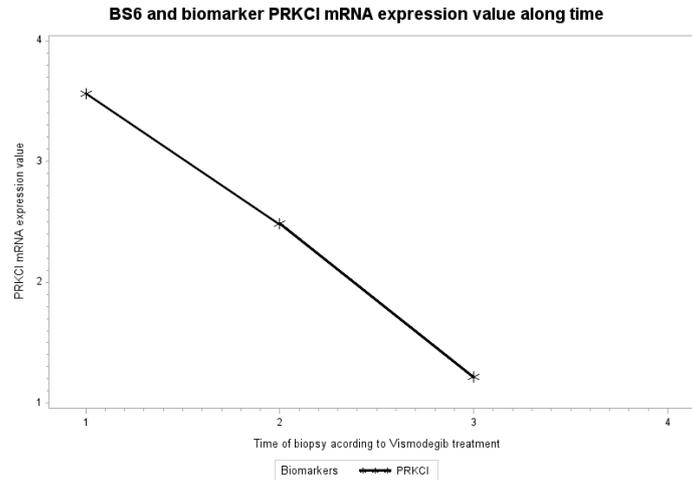
Gráfica 18.

BS6 and biomarker's mRNA expression value along time

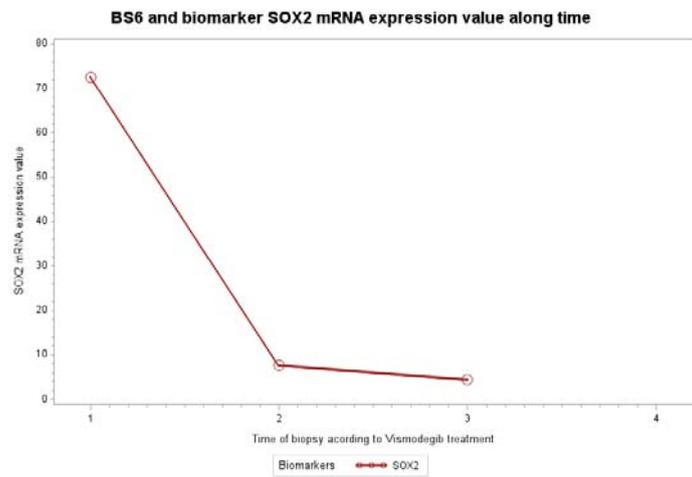


1=Baseline 2=After 1 month 3=After 3 months 4=After 6 months 5=After 1 year
 Best global response "PR"

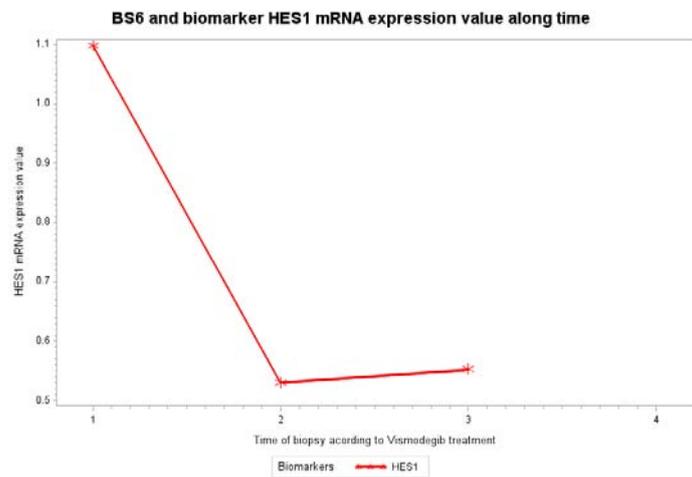
Grafica 19. Representa el conjunto de gráficas que expresan la evolución de la expresión de ARNm de cada biomarcador en los diferentes momentos evolutivos del tratamiento con vismodegib en éste paciente



1=Baseline 2=After 1 month 3=After 3 months 4=After 6 months 5=After 1 year
Best global response "PR"

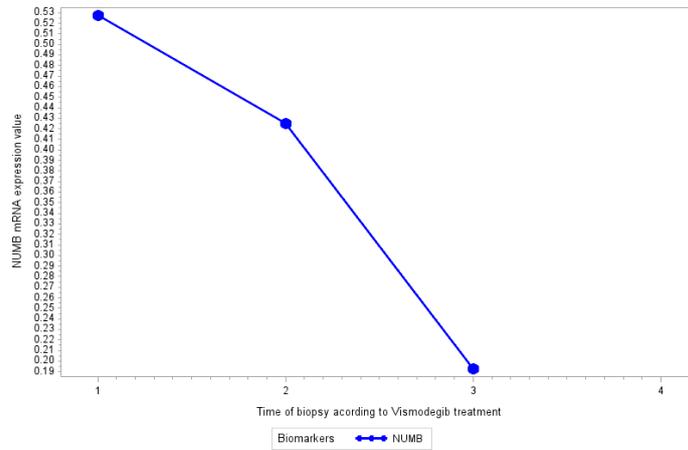


1=Baseline 2=After 1 month 3=After 3 months 4=After 6 months 5=After 1 year
Best global response "PR"



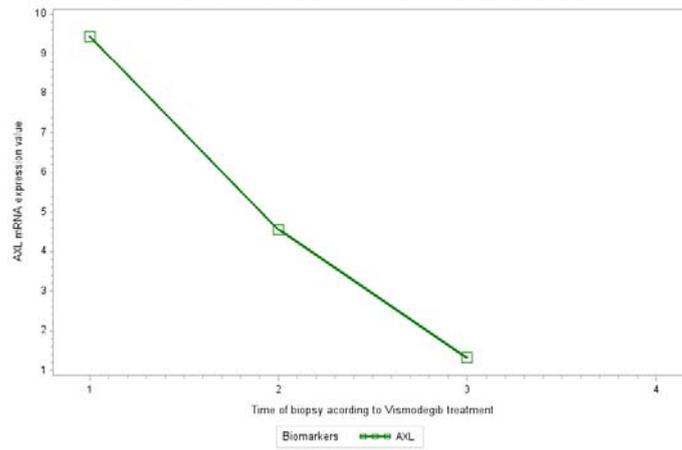
1=Baseline 2=After 1 month 3=After 3 months 4=After 6 months 5=After 1 year
Best global response "PR"

BS6 and biomarker NUMB mRNA expression value along time



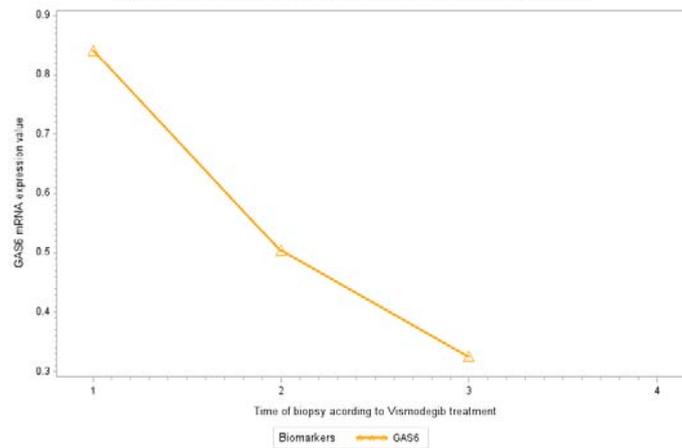
1=Baseline 2=After 1 month 3=After 3 months 4=After 6 months 5=After 1 year
Best global response "PR"

BS6 and biomarker AXL mRNA expression value along time

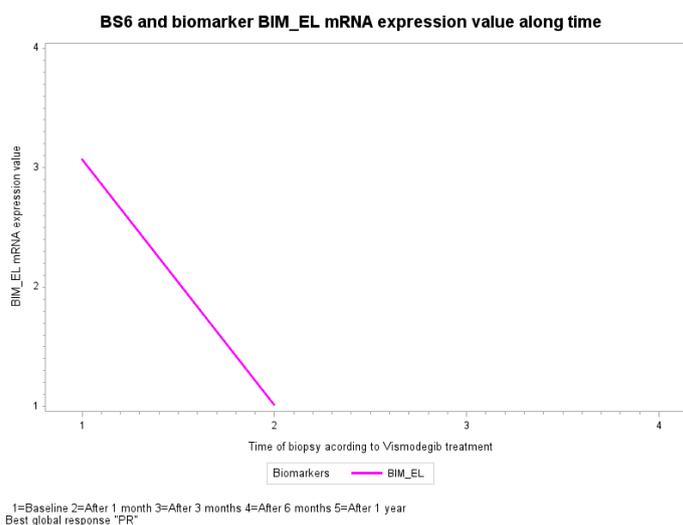
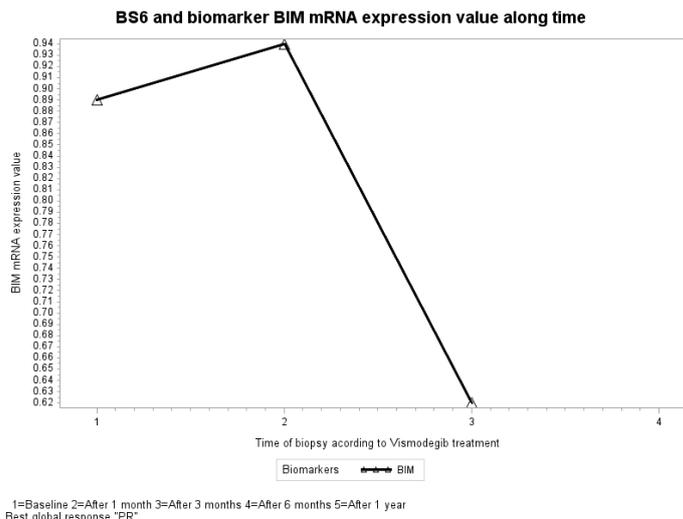


1=Baseline 2=After 1 month 3=After 3 months 4=After 6 months 5=After 1 year
Best global response "PR"

BS6 and biomarker GAS6 mRNA expression value along time



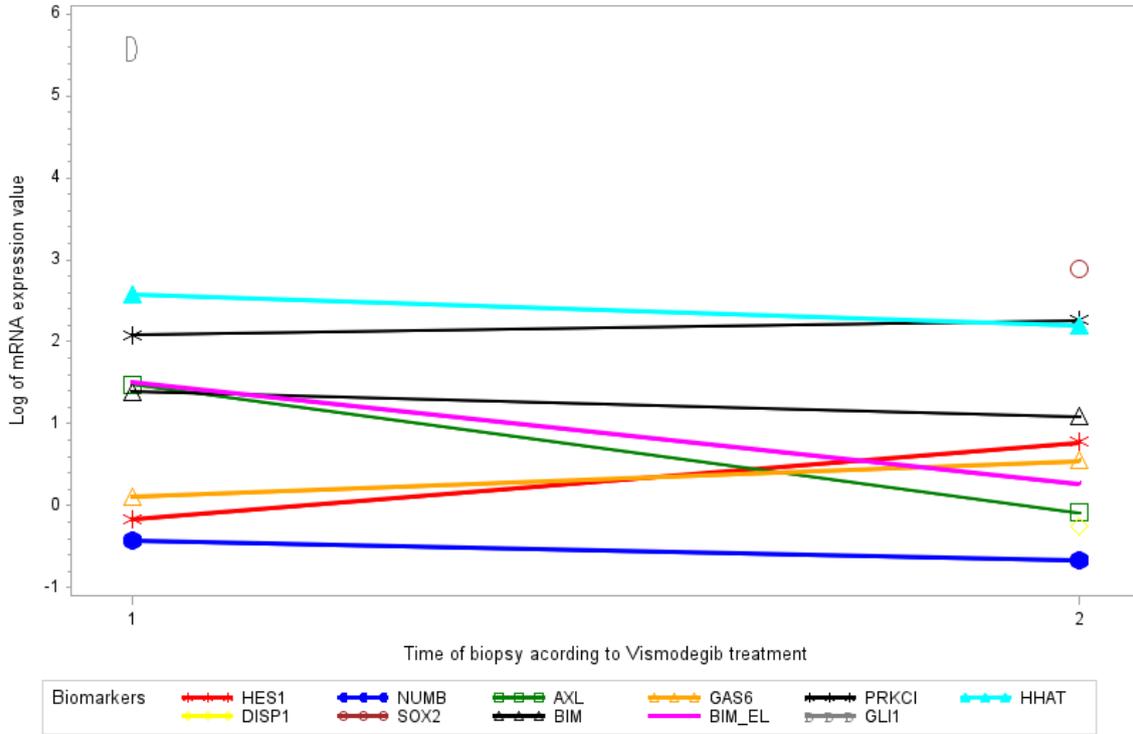
1=Baseline 2=After 1 month 3=After 3 months 4=After 6 months 5=After 1 year
Best global response "PR"



BS6 corresponde a la paciente nº 14, diagnosticada de CBCIa malar izquierdo y que experimentó una buena RP al fármaco, con reducción importante de la masa tumoral, permitiendo la resolución completa de la lesión mediante RT adyuvante. La paciente realizó el tratamiento durante 11 meses y la finalización del mismo se realizó en base a la estabilidad en la RP obtenida, sin efecto limitante por parte de los EA. En esta paciente, se pudieron analizar 3 de las 4 biopsias realizadas durante el tratamiento (basal, 1 y 3 meses). Respecto a la evolución histopatológica, se observaba disminución progresiva de la presencia tumoral en las biopsias de seguimiento, con incremento del porcentaje de fibrosis e IC, lo que se correlaciona con la buena respuesta clínica al fármaco. La diferenciación escamosa estaba presente en las biopsias al mes y 3 meses de tratamiento, sin observarse restos tumorales en la biopsia de los 6 meses. Respecto a la respuesta evolutiva de los biomarcadores, únicamente disponemos de los niveles basales de Gli1 y HHAT, por lo que no podemos efectuar el seguimiento de sus niveles; tampoco disponemos del análisis en ningún momento evolutivo de DISP1. Es importante destacar, lo que se correlaciona con la buena RP clínica, el descenso de los niveles del resto de biomarcadores PRKCI, SOX2, HES1, NUMB, AXL y GAS6, es decir, hubo disminución coherente y progresiva de los marcadores directa e indirectamente relacionados con Hh. Sin embargo, hubo descenso de los marcadores de apoptosis BIM y BIM_EL, hecho que no presentaría relación directa con la respuesta clínica obtenida.

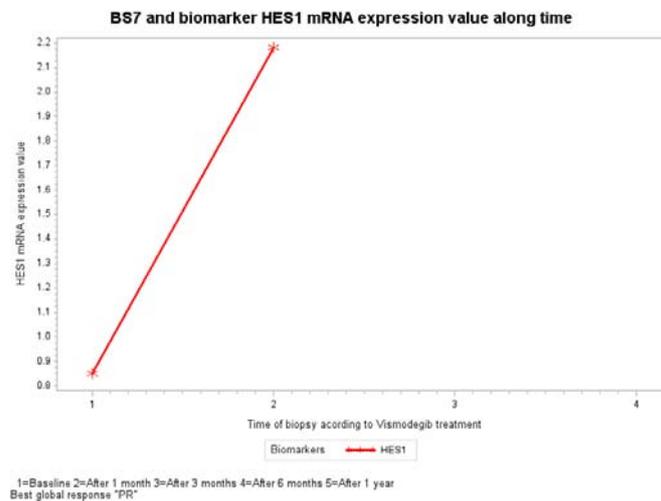
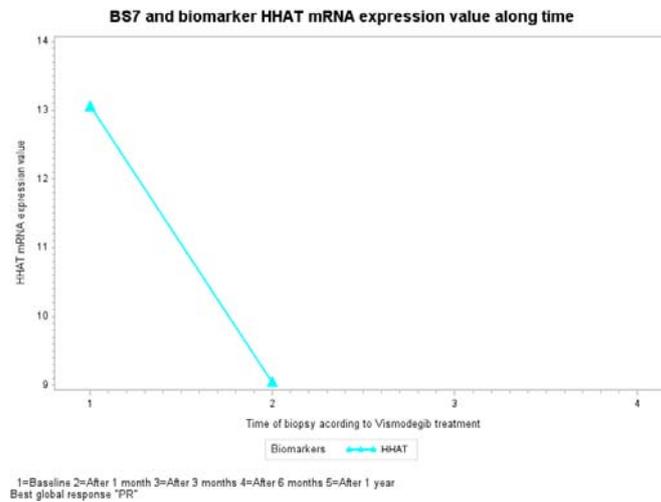
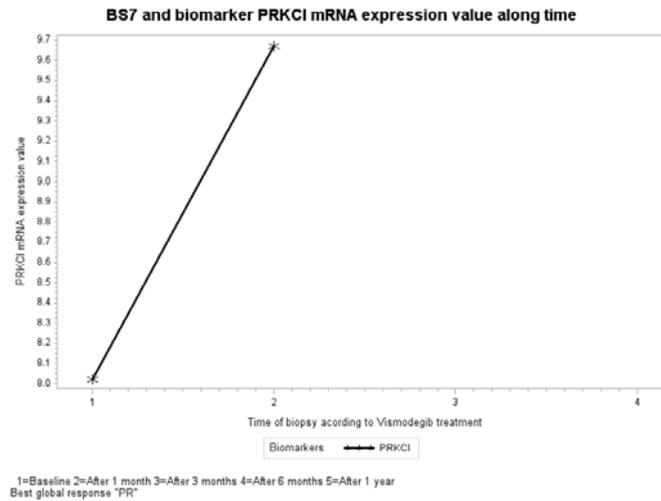
Gráfica 20.

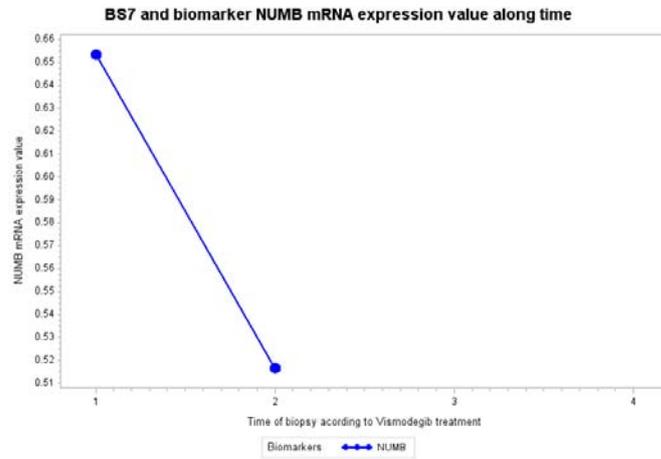
BS7 and biomarker's mRNA expression value along time



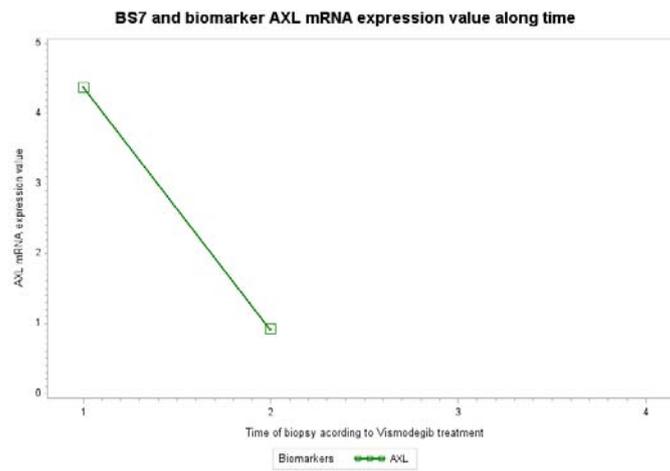
1=Baseline 2=After 1 month 3=After 3 months 4=After 6 months 5=After 1 year
 Best global response "PR"

Gráfica 21. Representa el conjunto de gráficas que expresan la evolución de la expresión de ARNm de cada biomarcador en los diferentes momentos evolutivos del tratamiento con vismodegib en éste paciente.

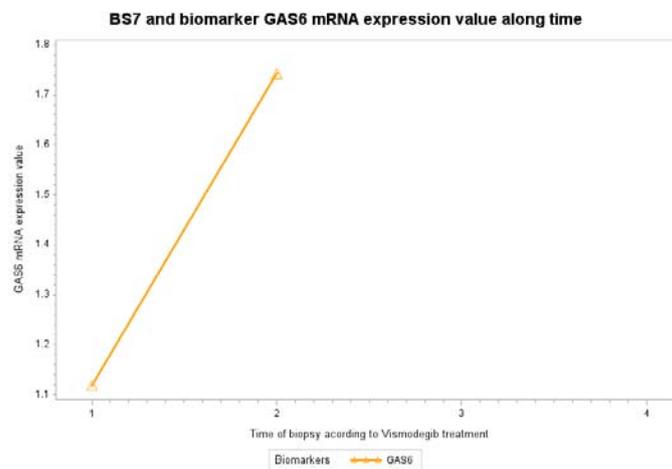




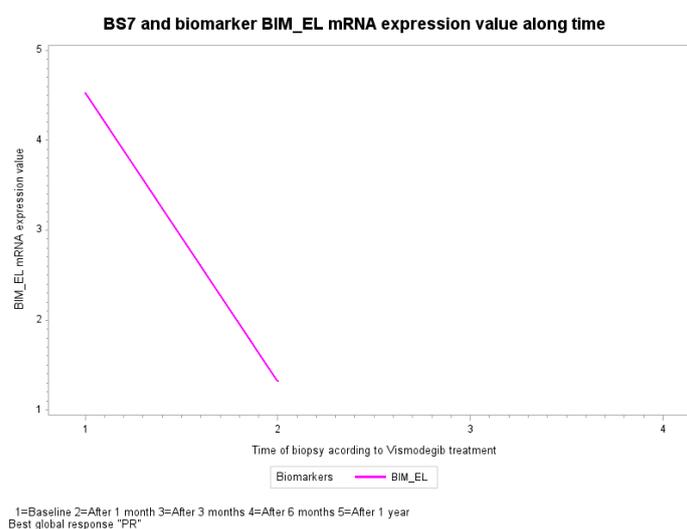
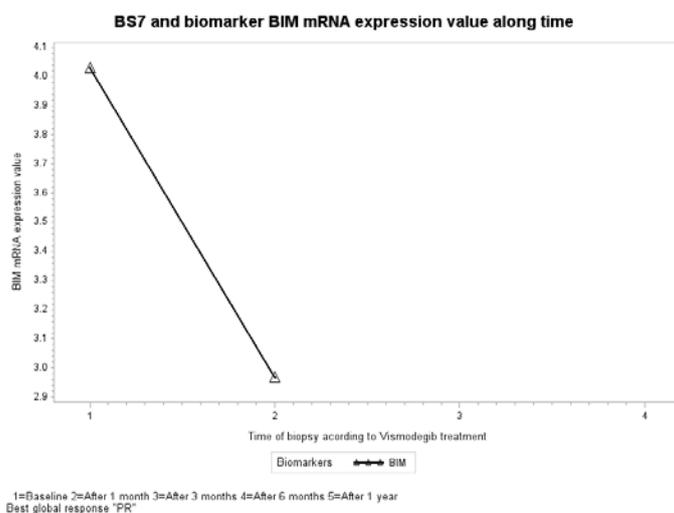
1=Baseline 2=After 1 month 3=After 3 months 4=After 6 months 5=After 1 year
Best global response "PR"



1=Baseline 2=After 1 month 3=After 3 months 4=After 6 months 5=After 1 year
Best global response "PR"

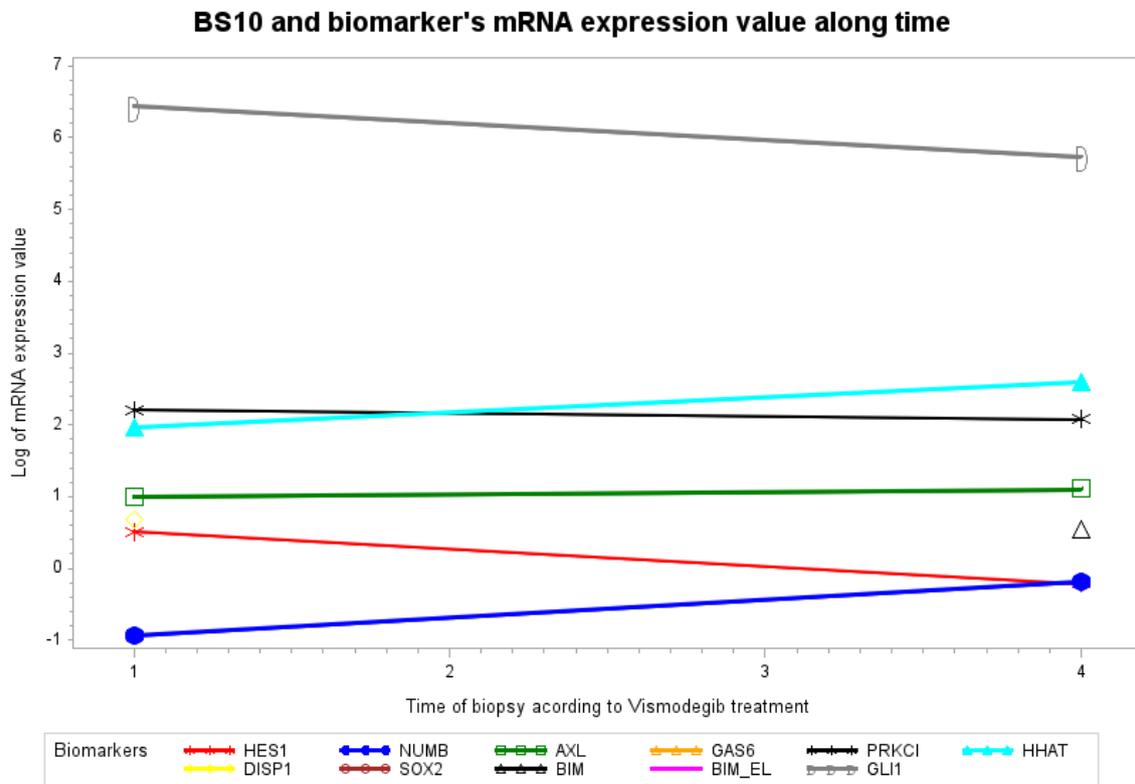


1=Baseline 2=After 1 month 3=After 3 months 4=After 6 months 5=After 1 year
Best global response "PR"



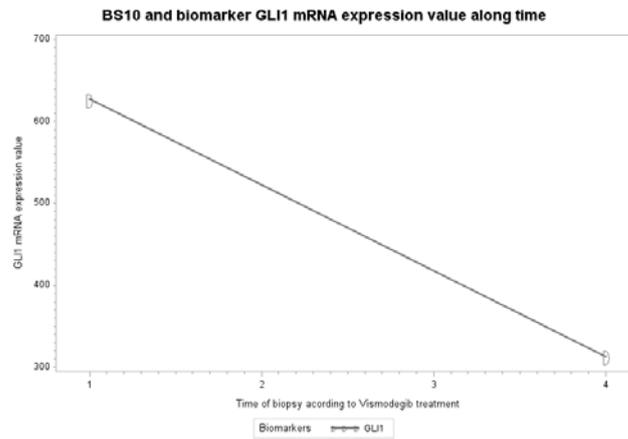
BS7 corresponde al paciente nº 13, diagnosticado de CBCIa en dorso nasal y que experimentó una discreta RP al mes de iniciar el tratamiento; pero se trata de uno de los pacientes que suspendió el fármaco a los 2 meses de iniciarlo reagudización de su patología cardiorespiratoria de base y falleció a los 5 meses. En este paciente se han podido analizar las 2 biopsias realizadas, a nivel basal y al mes de tratamiento, observándose a nivel histopatológico persistencia tumoral al mes de tratamiento pero con mayor grado de IC, y presencia de diferenciación escamosa. Respecto a la evolución de los biomarcadores analizados, disponemos únicamente de niveles basales de Gli1, SOX2 y DISP1 al mes de tratamiento, por lo que no podemos establecer una relación evolutiva de éstos. Observamos que al mes de tratamiento, existe disminución en los niveles de HHAT, NUMB, AXL y BIM; aumentan PRKCI, HES y GAS6. El hecho de que dispongamos únicamente de 2 biopsias analizadas y en momentos evolutivos tan próximos hace difícil valorar e interpretar el descenso coherente con la RP clínica de algunos biomarcadores relacionados directa e indirectamente con Hh junto con el aumento de otros. En este caso, sería necesario poder disponer del análisis de más biopsias para poder evaluar si se mantiene el descenso de los anteriores biomarcadores y/o se modifican aquellos que habían experimentado aumento en 1 mes de tratamiento.

Gráfica 22.

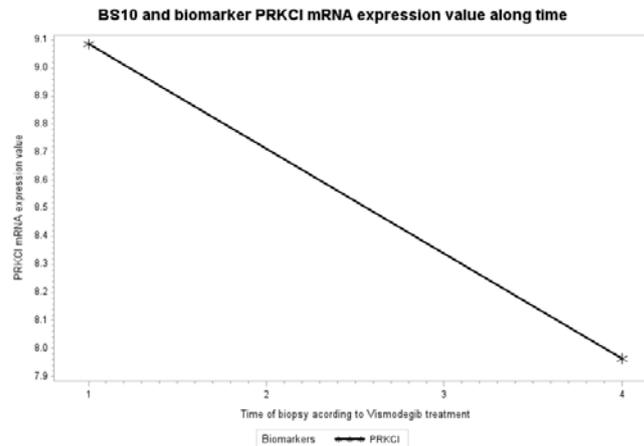


1=Baseline 2=After 1 month 3=After 3 months 4=After 6 months 5=After 1 year
 Best global response "PR"

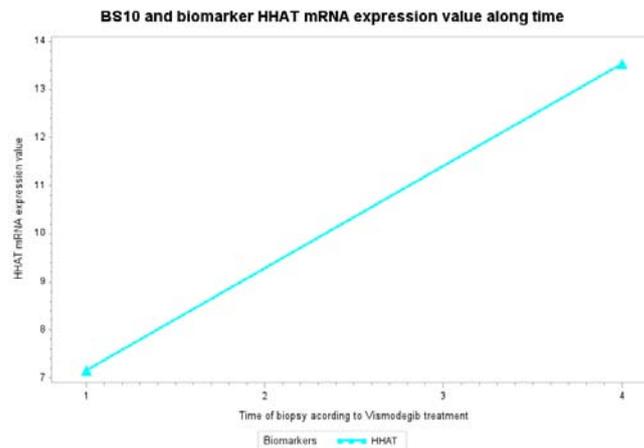
Gráfica 23. Representa el conjunto de gráficas que expresan la evolución de la expresión de ARNm de cada biomarcador en los diferentes momentos evolutivos del tratamiento con vismodegib en éste paciente.



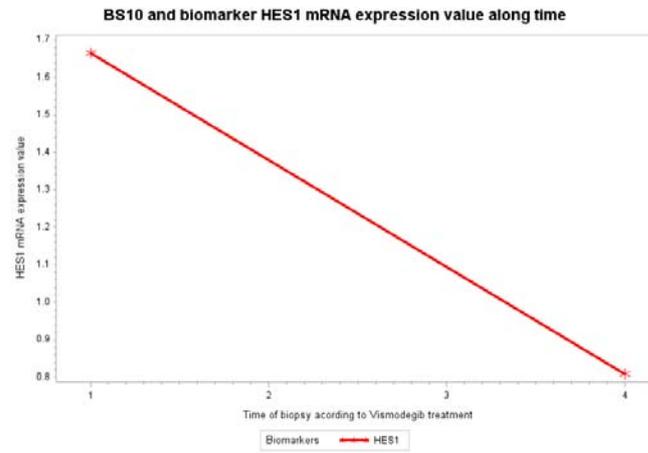
1=Baseline 2=After 1 month 3=After 3 months 4=After 6 months 5=After 1 year
Best global response "PR"



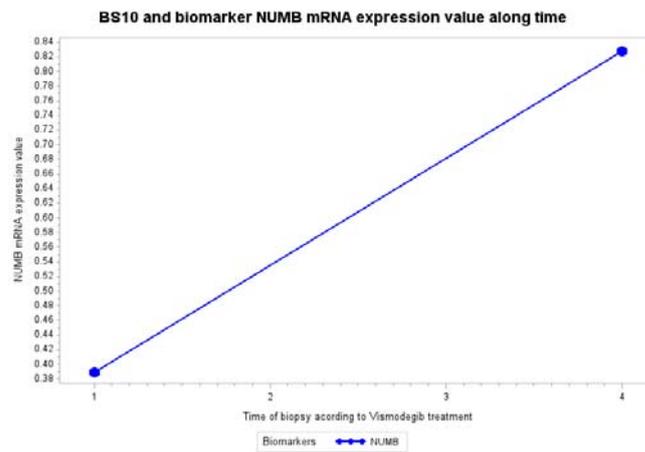
1=Baseline 2=After 1 month 3=After 3 months 4=After 6 months 5=After 1 year
Best global response "PR"



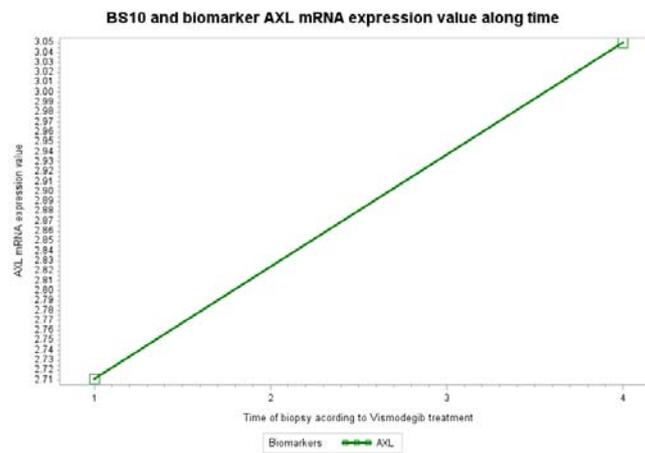
1=Baseline 2=After 1 month 3=After 3 months 4=After 6 months 5=After 1 year
Best global response "PR"



1=Baseline 2=After 1 month 3=After 3 months 4=After 6 months 5=After 1 year
Best global response "PR"



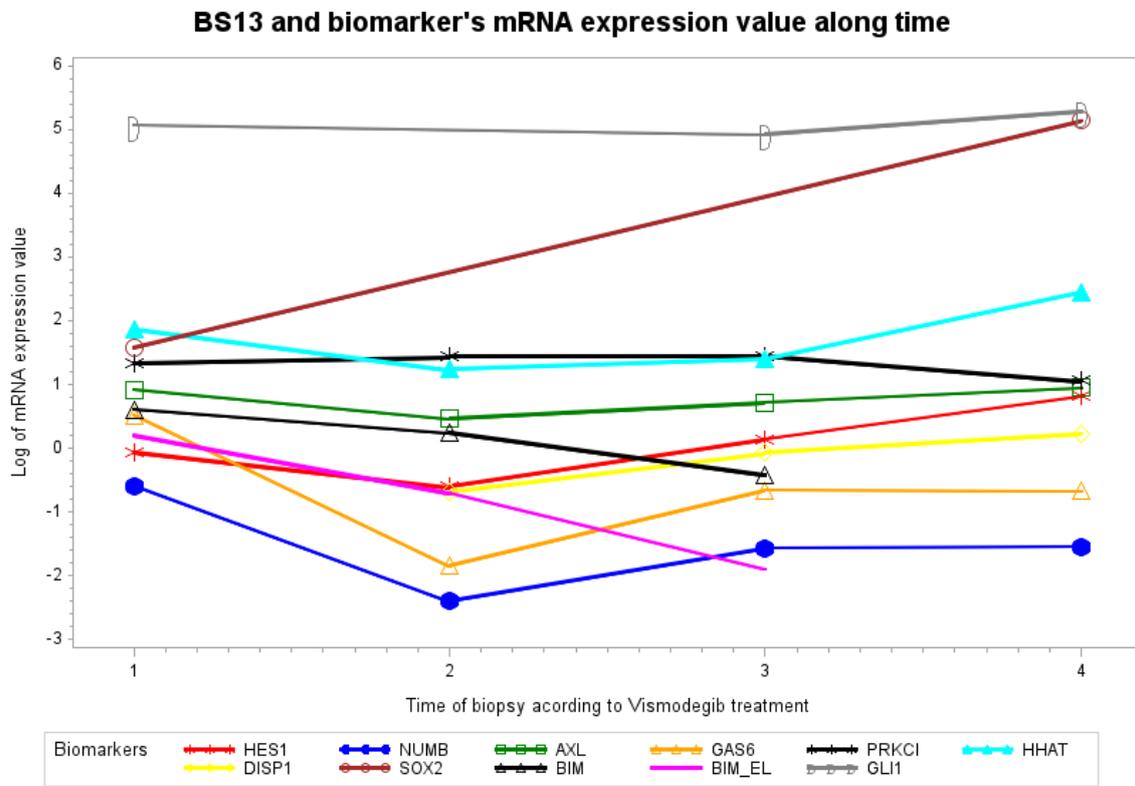
1=Baseline 2=After 1 month 3=After 3 months 4=After 6 months 5=After 1 year
Best global response "PR"



1=Baseline 2=After 1 month 3=After 3 months 4=After 6 months 5=After 1 year
Best global response "PR"

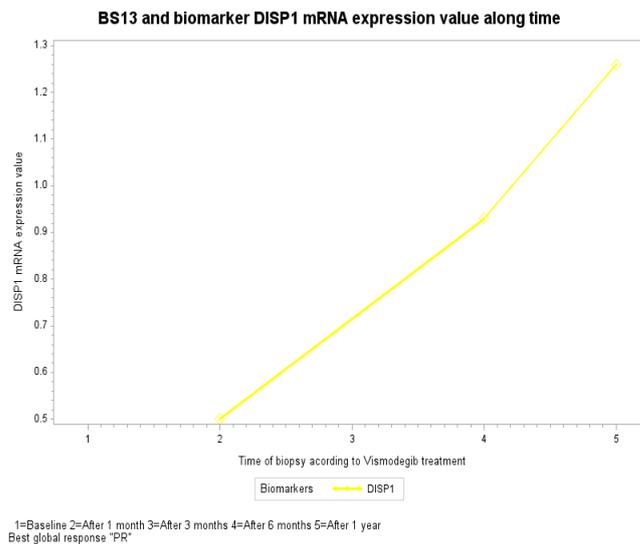
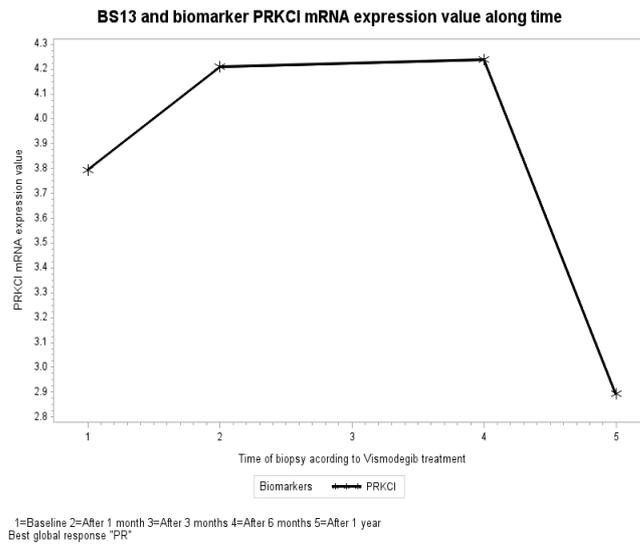
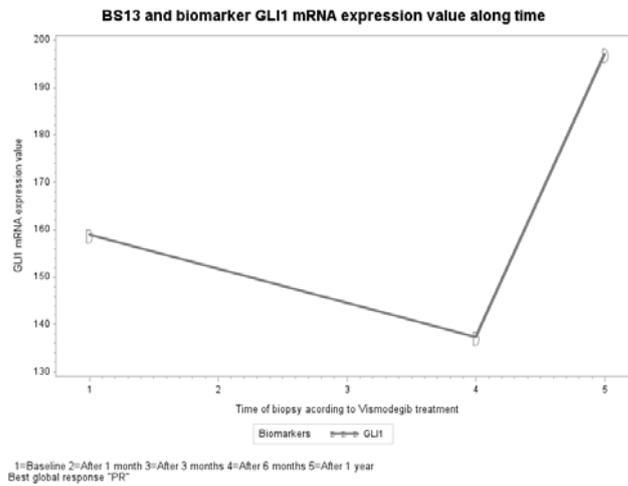
BS10 corresponde a la paciente nº 3, diagnosticada de CBCIa en canto interno ojo izquierdo y que experimentó una RP clínicamente importante y evidente durante el curso del tratamiento. De esta paciente disponemos de 2 biopsias analizadas, basal y a los 6 meses de tratamiento, objetivando persistencia tumoral en ésta última pero con un mayor grado de fibrosis e IC, lo que es indicativo de respuesta al fármaco. De los biomarcadores analizados, de DISP1 sólo disponemos de niveles a nivel basal y de BIM y BIM_EL sólo en la biopsia a los 6 meses, por lo que no podemos establecer una comparación evolutiva entre ellos. Tampoco disponemos de datos en ningún momento evolutivo de GAS6 ni SOX2. Observamos que los niveles basales más altos corresponden a Gli1 y objetivamos descenso con respecto a la biopsia basal en marcadores relacionados de forma directa con Hh como son Gli y PRKCI y de otros como HES1. Vemos un aumento discreto pero progresivo en otros marcadores directos e indirectos como HHAT, NUMB y AXL. Podríamos interpretar la combinación de estos datos explicando que, mientras hay marcadores que descienden de forma coherente indicando que hay respuesta al fármaco, otros aumentan pudiendo sugerir que en esta paciente la respuesta no llegaba a ser completa por una resistencia parcial al fármaco.

Gráfica 24

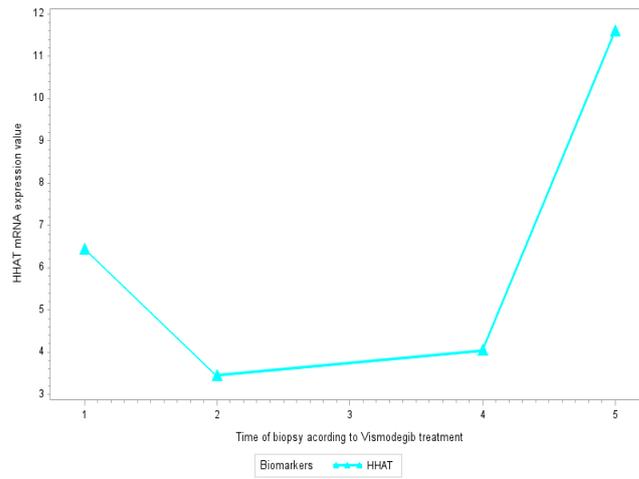


1=Baseline 2=After 1 month 3=After 3 months 4=After 6 months 5=After 1 year
 Best global response "PR"

Gráfica 25. Representa el conjunto de gráficas que expresan la evolución de la expresión de ARNm de cada biomarcador en los diferentes momentos evolutivos del tratamiento con vismodegib en éste paciente.

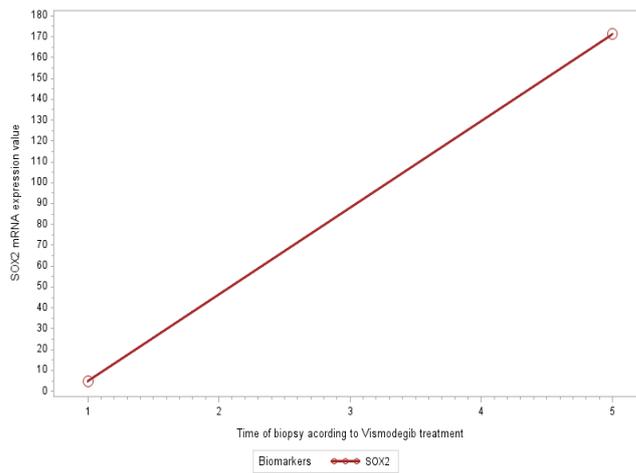


BS13 and biomarker HHAT mRNA expression value along time



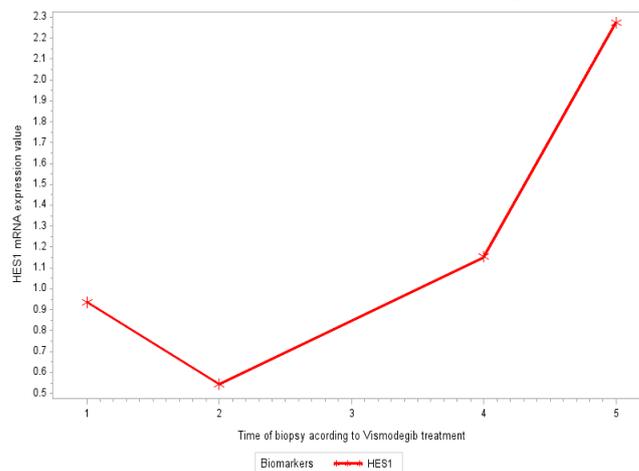
1=Baseline 2=After 1 month 3=After 3 months 4=After 6 months 5=After 1 year
Best global response "PR"

BS13 and biomarker SOX2 mRNA expression value along time

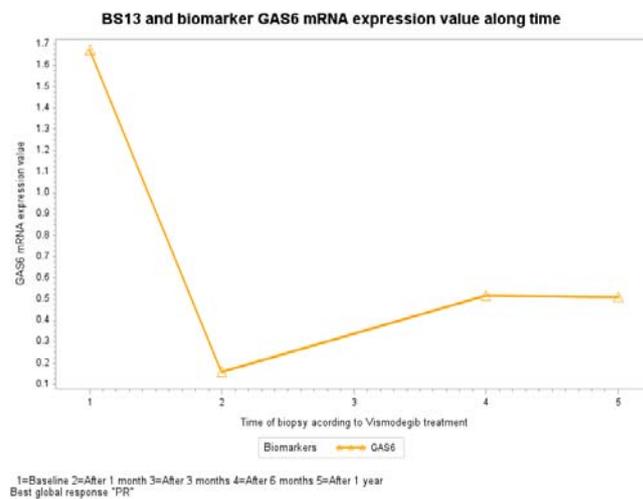
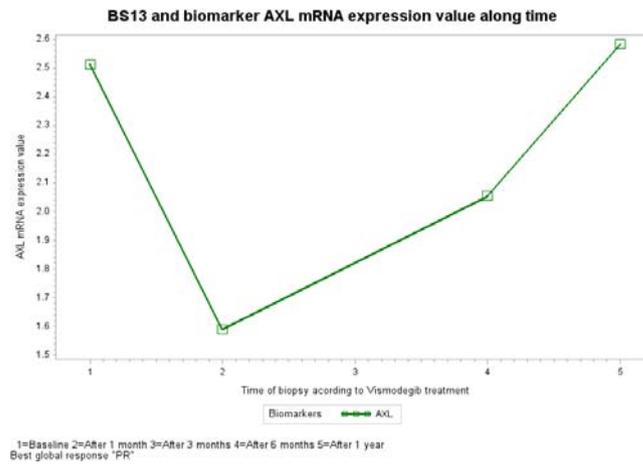
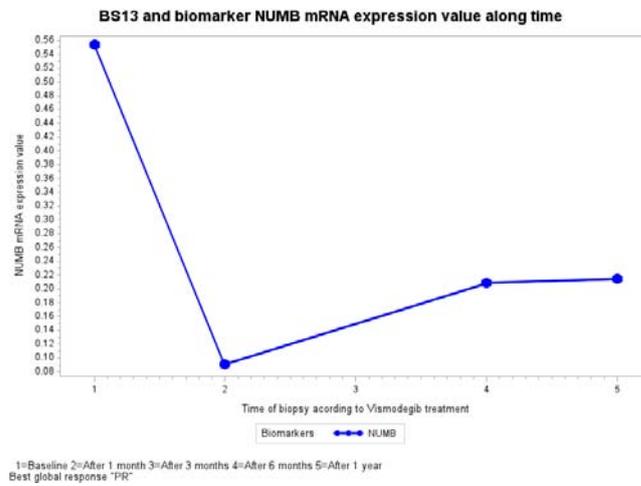


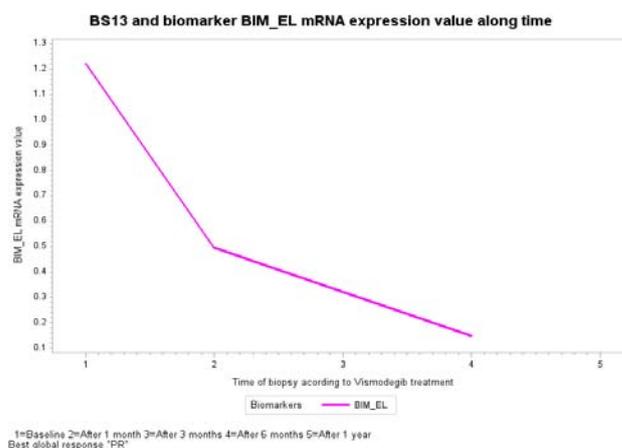
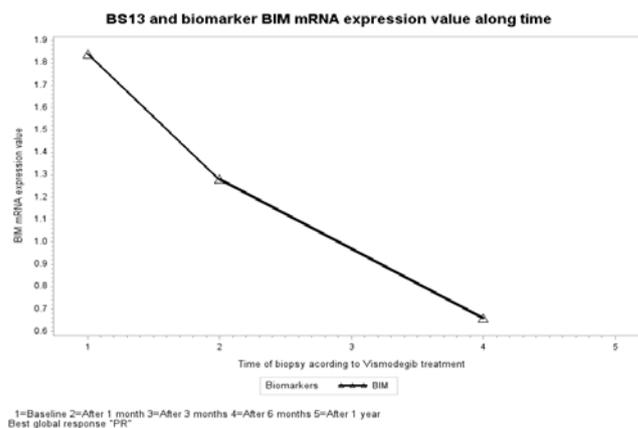
1=Baseline 2=After 1 month 3=After 3 months 4=After 6 months 5=After 1 year
Best global response "PR"

BS13 and biomarker HES1 mRNA expression value along time



1=Baseline 2=After 1 month 3=After 3 months 4=After 6 months 5=After 1 year
Best global response "PR"



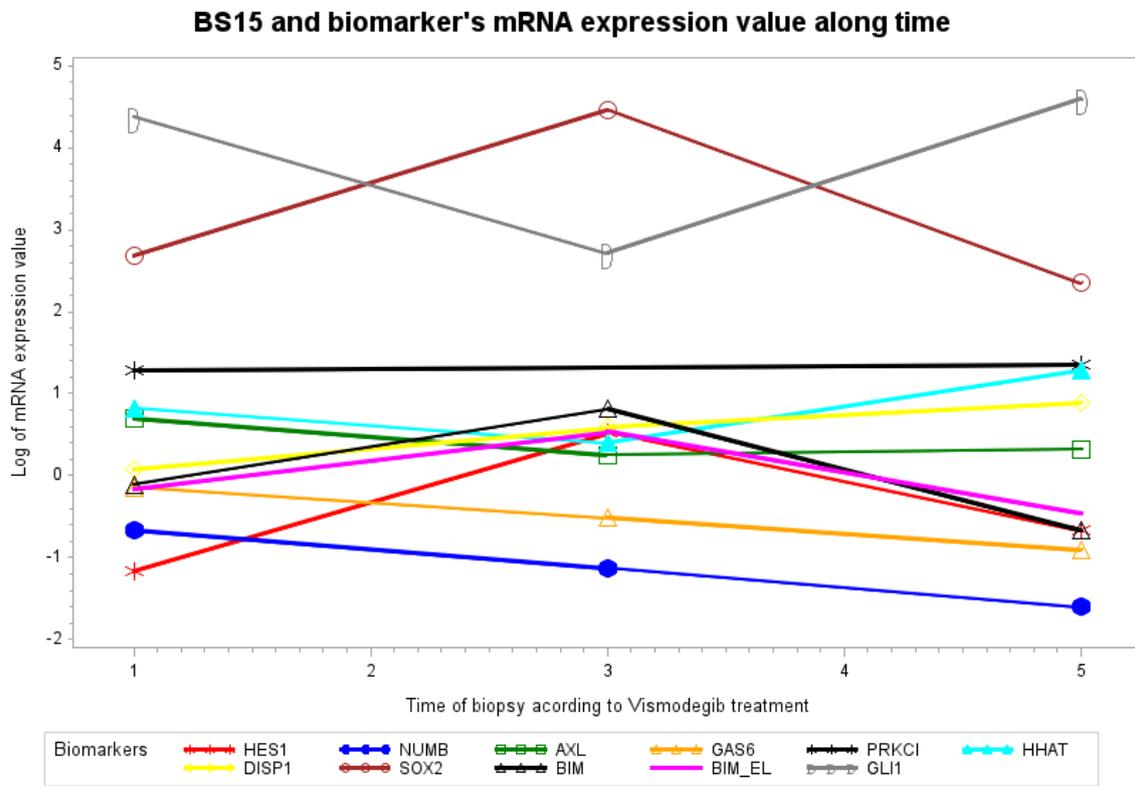


BS13 corresponde al paciente nº 11, diagnosticado de CBCIa torácico anterior derecho muy extenso, que presentó una muy buena y rápida RP al fármaco con una importante disminución clínica y radiológica de masa tumoral, logrando la completa resolución de la lesión mediante cirugía y RT adyuvantes. De éste paciente se han podido analizar 4 biopsias correspondientes a los momentos evolutivos basal, 1,6 meses y 1 año postratamiento, ésta última correspondiente a la pieza de exéresis quirúrgica. En todas ellas se objetivaba persistencia tumoral, aunque con mayor grado de fibrosis e IC que en la biopsia inicial, lo que es indicativo de respuesta al fármaco, y también diferenciación escamosa grado + sobre todo evidentes en la biopsia al mes de tratamiento y en la pieza de exéresis quirúrgica postvismodegib.

Respecto a los biomarcadores analizados, observamos un descenso importante de la expresión de Gli1 y HHAT hasta los 6 meses de tratamiento pero con aumento posterior de los niveles en la pieza quirúrgica. También observamos descenso de BIM hasta los 6 meses. GAS6, AXL y NUMB experimentan un descenso importante al mes de tratamiento para elevarse de forma gradual en biopsias sucesivas. Desde la biopsia inicial, se observa aumento progresivo de la expresión de DISP1, SOX2 y HES1. PRKCI se eleva discretamente hasta los 6 meses para descender rápidamente en la pieza de exéresis

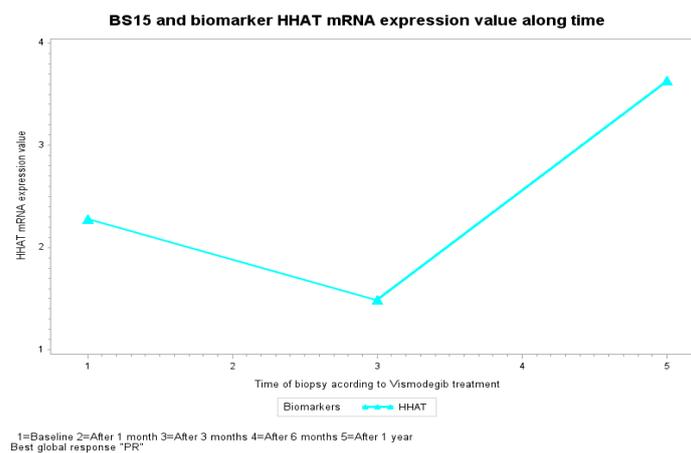
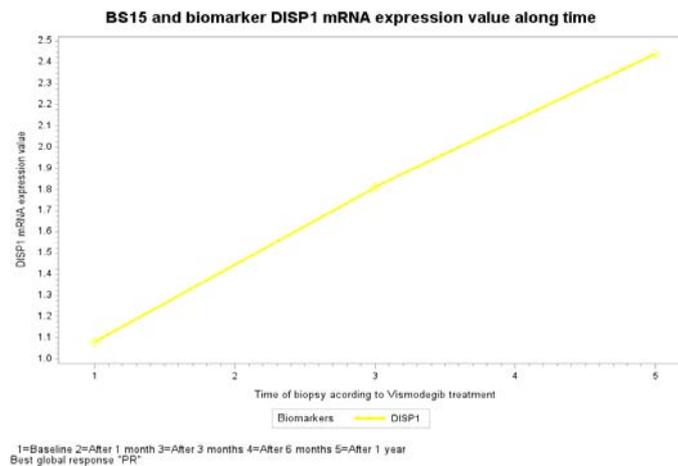
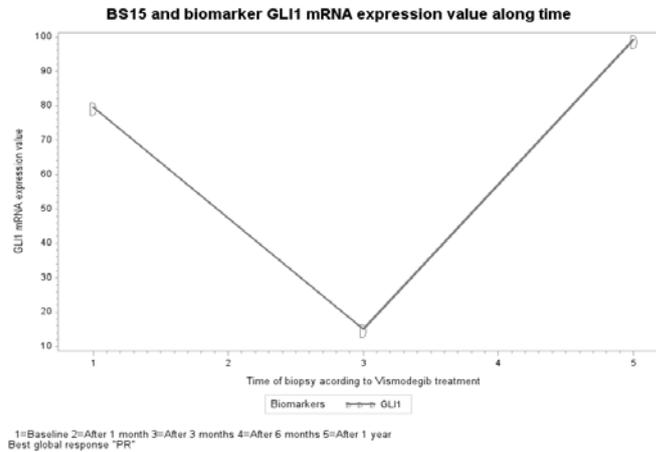
quirúrgica. Este descenso inicial e importante que observamos en la mayoría de los biomarcadores hasta al menos 1 mes de tratamiento se correlaciona con la rápida respuesta clínica inicial al fármaco que experimentó el paciente; a partir de aquí se objetiva elevación de algunos de ellos y a partir de los 6 meses, de biomarcadores directos Hh como Gli1 y HHAT, por lo que podemos interpretar que a partir de un determinado momento evolutivo, en éste caso 6 meses, ya no sería esperable una mayor respuesta de la ya existente, indicando posible resistencia al fármaco. La elevación progresiva de SOX2 se podría correlacionar con la diferenciación escamosa en la biopsia realizada al mes de tratamiento y en la pieza de exéresis quirúrgica.

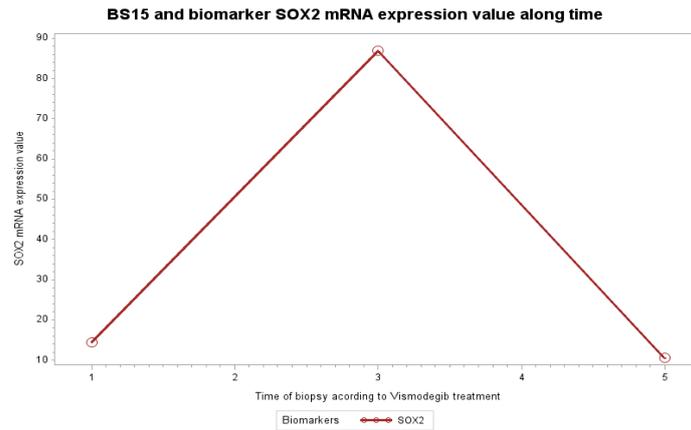
Gráfica 26.



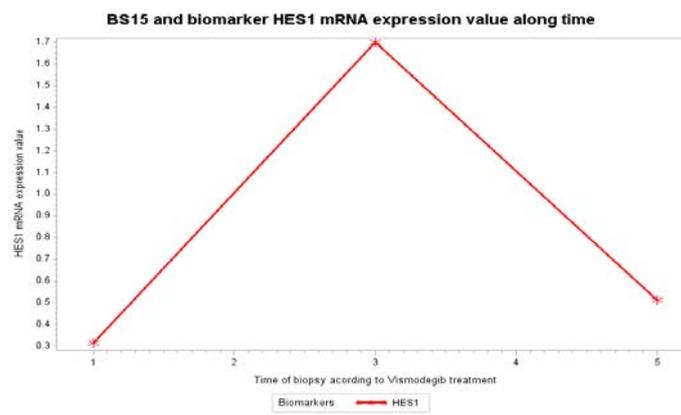
1=Baseline 2=After 1 month 3=After 3 months 4=After 6 months 5=After 1 year
 Best global response "PR"

Grafica 27. Representa el conjunto de gráficas que expresan la evolución de la expresión de ARNm de cada biomarcador en los diferentes momentos evolutivos del tratamiento con vismodegib en éste paciente.

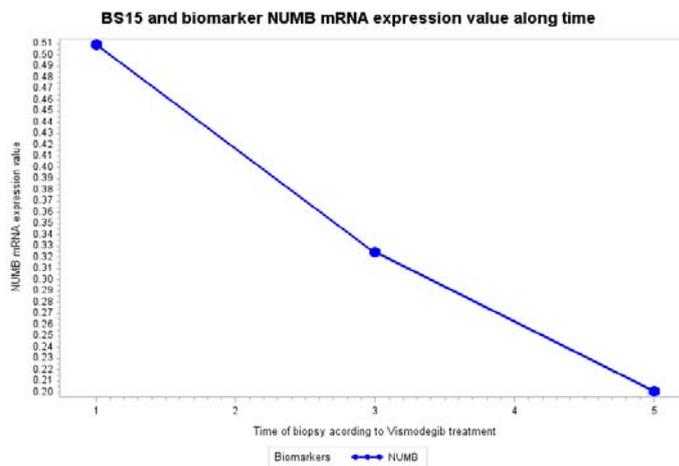




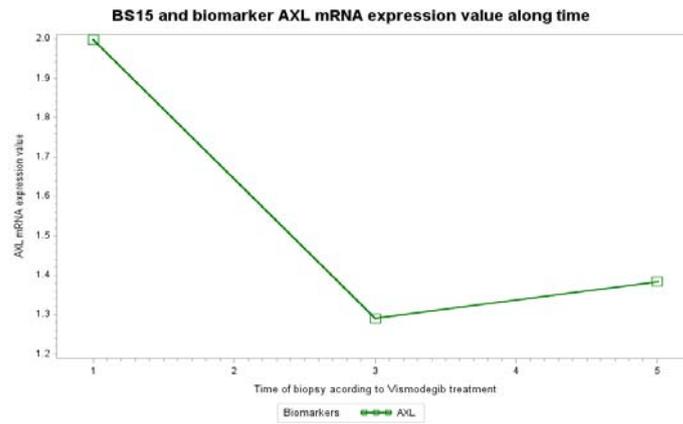
1=Baseline 2=After 1 month 3=After 3 months 4=After 6 months 5=After 1 year
Best global response "PR"



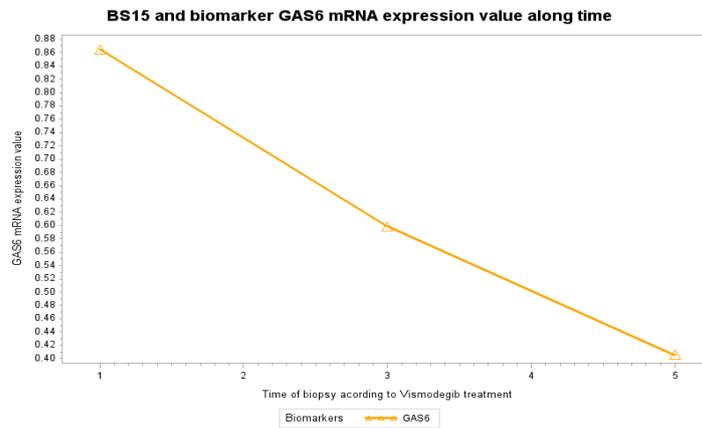
1=Baseline 2=After 1 month 3=After 3 months 4=After 6 months 5=After 1 year
Best global response "PR"



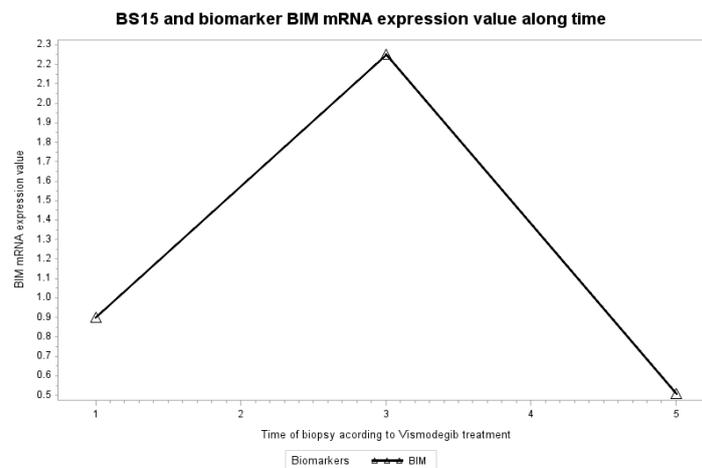
1=Baseline 2=After 1 month 3=After 3 months 4=After 6 months 5=After 1 year
Best global response "PR"



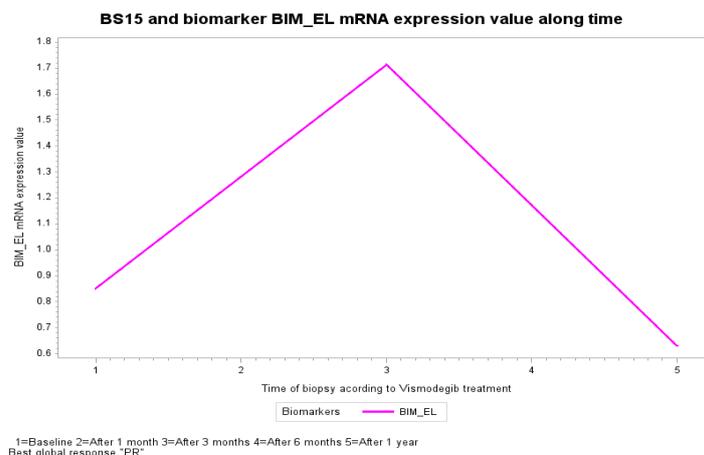
1=Baseline 2=After 1 month 3=After 3 months 4=After 6 months 5=After 1 year
Best global response "PR"



1=Baseline 2=After 1 month 3=After 3 months 4=After 6 months 5=After 1 year
Best global response "PR"



1=Baseline 2=After 1 month 3=After 3 months 4=After 6 months 5=After 1 year
Best global response "PR"



BS15 corresponde al paciente n° 1, diagnosticado de CBCIa auricular y retroauricular derecho extenso que presentó una RP moderada y gradual durante el tratamiento. De éste paciente disponemos de 3 biopsias, basal, 6 meses de tratamiento y 1 año tras el inicio del fármaco, que confirmaba la recidiva de la enfermedad tras haber suspendido el tratamiento hacía 4 meses. Desde el punto de vista histopatológico, se objetivaba persistencia tumoral en todas las biopsias practicadas y un grado moderado de diferenciación escamosa durante el tratamiento con vismodegib. Respecto a la evolución de los biomarcadores en respuesta al tratamiento, algunos de los biomarcadores directos de Hh como Gli1 y HHAT descienden de forma importante hasta los 3 meses para aumentar posteriormente; de igual manera, los marcadores de apoptosis tumoral BIM y BIM_EL aumentan sus niveles hasta los 3 meses con descenso progresivo a partir de éste momento. La expresión de SOX2 y HES1 aumenta hasta los 3 meses y luego descienden. DISP1 aumenta progresivamente desde la biopsia inicial y marcadores como NUMB, AXL y GAS6 experimentan un descenso progresivo desde niveles basales. En este paciente, vemos que hay un punto de inflexión importante respecto a los niveles de expresión de diferentes biomarcadores, sobre todo de los directamente relacionados con Hh como son Gli1 y HHAT, en la biopsia de los 3 meses, indicando una buena respuesta inicial al fármaco pero que a partir de un determinado momento, en este caso podría corresponder a los 3-4 meses de tratamiento, ya no sería esperable una mejor respuesta al fármaco, señalando probablemente un fenómeno de resistencia al fármaco, al igual que en el paciente anterior. Podríamos intentar relacionar este hecho de falta de respuesta mantenida/resistencia temprana al fármaco y la presencia de diferenciación escamosa discreta/moderada en prácticamente todas las biopsias efectuadas durante el tratamiento, con la también temprana reactivación de la enfermedad a los pocos meses de haber finalizado el tratamiento con vismodegib + RT adyuvante; sin embargo, esto debe considerarse como una observación aislada y no determinante.

8. DISCUSIÓN

8.1. PACIENTES

Los pacientes en estudio tenían una edad media de 73 años, con ligero predominio de mujeres (53,3%). La mayoría estaban diagnosticados de CBCIa (11 pacientes, 73,3%) y el 80% habían recibido algún tratamiento previo (cirugía, RT, cirugía + RT). El tiempo medio de evolución desde el diagnóstico del CBC hasta el inicio de tratamiento con vismodegib fue de 65 meses y la superficie tumoral media pre-vismodegib fue de 11,76 cm₂.

Estos datos descriptivos basales difieren en algunos puntos con los resultados preliminares recientemente obtenidos sobre 500 pacientes del ensayo STEVIE (dentro de los cuales están incluidos los 15 pacientes del presente estudio). En este último, si bien la edad media es similar (73 años), hay predominio de varones sobre mujeres (59,6% vs 40,4%) y la mayoría de los pacientes no había recibido tratamientos previos (en el 75,7% no habían recibido RT por ser inapropiada o estar contraindicada, el 43,2% se consideraron tumores inoperables y en el 56,6% la cirugía estaba contraindicada).

Es decir, la mayoría de los pacientes de nuestra cohorte presentaba tumores refractarios a otros tratamientos previos, en ocasiones múltiples cirugías ± RT, y vismodegib se indicó como tratamiento de segunda línea, lógicamente debido en parte a la reciente incorporación de vismodegib dentro del arsenal terapéutico para éste tipo de tumores y en la mayoría de los casos por tratarse de tumores de larga evolución.

8.2. EVALUACION SOBRE LA EFICACIA Y SEGURIDAD DE VISMODEGIB

Con un tiempo medio de tratamiento de 8 meses, los principales datos de eficacia corresponden a una mayoría de RP (11 pacientes, 73,3%) frente a un 20% de RC y 6,67% de EE, con una respuesta global al fármaco del 93,3%. Un dato objetivo importante en ésta respuesta ha sido el hallazgo de una diferencia estadísticamente significativa entre las superficies tumorales pre y post-tratamiento (11,76 vs 1,51 cm², con una media de disminución de superficie tumoral de 10.24, DE 16.76, P=0.033).

En 7 pacientes (46%) pertenecientes al grupo de RP se realizó tratamiento adyuvante mediante RT, cirugía o cirugía + RT para lograr la resolución completa tumoral.

4 pacientes (26%) presentaron recidiva tumoral, con un tiempo medio hasta la recidiva de 10 meses, 2 de ellos ya estaban diagnosticados de síndromes genéticos que predisponen a un mayor desarrollo de CBC y con la vía Hh de base genética permanentemente activada.

El tiempo medio hasta la respuesta de 2-3 meses y el tiempo medio de tratamiento de 8 meses en nuestro grupo de pacientes es bastante similar a los resultados obtenidos de otras series, por lo que esto es importante a la hora de determinar y definir de forma homogénea y global el tiempo de tratamiento durante el cual se espera una mayor efectividad de vismodegib y a partir del cual, la respuesta no se alteraría o podrían esperarse fenómenos de resistencia al fármaco con reactivación de la enfermedad. Más allá de la evaluación clínica de la respuesta, sería interesante la realización de biopsias cutáneas más allá de los 6 meses en aquellos pacientes que continúan vismodegib durante más de 6-7 meses y que presentan una estabilidad en la respuesta clínica a partir de éste momento evolutivo, con el objetivo de determinar la eficacia real a partir de éste momento del tratamiento y posibles fenómenos de resistencia tardía. El tiempo medio libre de progresión tras haber recibido vismodegib ± adyuvancia en los pacientes que han efectuado el seguimiento hasta la actualidad ha sido de 13,8 meses.

Con estos datos podemos inferir que, en nuestra cohorte de pacientes, ha habido una buena respuesta global al fármaco, particularmente en relación a la RP, que es superior a la de los principales estudios previamente realizados, sin embargo la tasa de RC ha sido inferior a éstos. La elevada tasa de RP en nuestro grupo de pacientes en detrimento de una baja tasa de RC podría explicarse porque la mayoría de tumores eran CBCla de largo tiempo de evolución y refractarios a otros tratamientos previos, en los que el tratamiento con vismodegib, al tratarse de un fármaco diana-específico, ha permitido un suficiente control local de la enfermedad para poder rescatar éstos tumores mediante cirugía/RT adyuvante y lograr la resolución completa del tumor. Por ello, observamos que, particularmente en nuestro estudio la principal utilidad y eficacia de vismodegib ha sido, de alguna manera, como tratamiento “reductor” de masa tumoral.

En relación a las recidivas tumorales observadas en 4 pacientes, podemos alegar los siguientes comentarios:

- 2 pacientes (nº 2 y 6) con síndromes genéticos en los que el tratamiento con vismodegib puede frenar parcial/totalmente el desarrollo de nuevos CBC y reducir parcial/totalmente el tamaño de los tumores ya existentes, pero en este tipo de pacientes sindrómicos, al suspender el fármaco la vía Hh vuelve a activarse a un estado similar previo a la administración del mismo, pudiendo administrar de nuevo el fármaco en función de las necesidades clínicas del paciente y la tolerabilidad del tratamiento.
- 1 paciente (nº 7) presentaba patrón histopatológico tumoral basal combinado de 2 subtipos agresivos como son el infiltrante y micronodular. Las biopsias rotatorias en el área tumoral efectuadas durante el curso del tratamiento mostraban ausencia progresiva de focos tumorales mostrando una buena respuesta al fármaco, sin embargo se consideró una RP al fármaco por persistencia de un foco indurado sugestivo de persistencia tumoral en el tercio superior lesional, por lo que posteriormente recibió tratamiento adyuvante con RT. Sin embargo, la recidiva que presentó posteriormente fue extensa, abarcando una extensión tumoral similar a la inicial aunque menos infiltrada en profundidad, por lo que requirió de una CMM amplia.
- 1 paciente presentaba un tumor extenso refractario a RT previa, con invasión de cartílago auricular, y patrón histopatológico basal de CBCi, pero con varias biopsias posteriores en el curso del tratamiento que mostraban diferenciación escamosa discreta-moderada. Este paciente también obtuvo RP por lo que precisó de tratamiento adyuvante mediante RT. La recidiva que presentó fue también de extensión similar al tumor inicial, pero en este caso debido a la comorbilidad asociada, pudo controlarse mediante varias sesiones de RT.
- Concretamente, en estos 2 últimos pacientes, la presencia de uno o varios subtipos histológicos agresivos en la biopsia basal, la obtención de RP, la necesidad de adyuvancia y el desarrollo de diferenciación escamosa en las biopsias realizadas durante el tratamiento son factores que podrían ayudar a explicar las recidivas tumorales a pesar de la RT adyuvante recibida. Así mismo, la recidiva ha sido extensa, incluyendo prácticamente todo el área tumoral inicial, lo que nos hace reflexionar sobre cual es la verdadera eficacia y de qué manera actúa vismodegib como “reductor tumoral” o “neoadyuvante”, ya que, si bien inmediatamente tras obtener una buena respuesta con el tratamiento podemos encontrarnos con una aparente reducción clínica de la infiltración y diámetro tumoral confirmada también mediante biopsia, puede haber una extensión subclínica en diferentes focos lesionales difícil de delimitar y que nos puede conducir erróneamente a la elección inadecuada del tratamiento adyuvante y la modalidad de aplicación. En este sentido, sabemos que el CE y aquellos tumores con diferenciación escamosa son más radiosensibles que el CBC. Ninguno de estos 2 pacientes presentaba diferenciación

escamosa en las biopsias basales, pero si en las biopsias practicadas al mes de tratamiento (nº 1 y 7) y a los 6 meses (nº 7) en grado 1, y ambos recibieron RT adyuvante postvismodegib, en el paciente nº 1 fue aplicada de forma más amplia y a mayor dosis intentando abarcar toda la superficie tumoral inicial, mientras que en el paciente nº 7 se aplicó una dosis única de baja energía y dirigida únicamente al área sugestiva de persistencia tumoral. Este hecho podría ayudar a explicar también la recidiva amplia que presentó este último paciente, en el que hubo que recurrir a una CMM amplia que prácticamente incluía toda la superficie tumoral inicial aunque con menor infiltración en profundidad. Los pacientes 11 y 14 que también recibieron RT como adyuvancia postvismodegib y en los que si se observaba diferenciación escamosa en algunas biopsias practicadas en el curso del tratamiento se encuentran libres de enfermedad sin objetivar recidiva tumoral por lo que quizá la RT como tratamiento adyuvante podría tener más utilidad en aquellos CBC que ya presentaban de inicio diferenciación escamosa o ésta se ha desarrollado en el curso del tratamiento, siendo recomendable, si es posible, realizar CMM como adyuvancia sólo o en combinación con RT en los casos que no se objetive transformación escamosa. Por ello, un aspecto que puede plantearse en el caso de RP tras vismodegib y antes de decidir cual sería el mejor tratamiento adyuvante, sería la realización de un mapeo mediante biopsias cutáneas de todo el área tumoral antes y después de la administración del fármaco, una vez alcanzada la máxima respuesta, ya que obtendremos información sobre si ha habido transformación escamosa y se delimitará de una manera más aproximada el área de persistencia tumoral.

Si comparamos nuestros datos con los 2 ensayos clínicos con un mayor reclutamiento de pacientes como son ERIVANCE y el estudio preliminar en 500 pacientes de STEVIE, observamos que la respuesta global al fármaco ha sido moderadamente superior en nuestra cohorte de pacientes, sobre todo a expensas de una elevada tasa de RP.

En ERIVANCE, con una media de seguimiento de 12 meses, se obtuvieron tasas de RO global del 60,3% y 48,5% para CBCIa y CBCm respectivamente, con un 31,7% de RC y 28,6% de RP y una supervivencia libre de progresión media de 12,9 meses. Con 30 meses de seguimiento, no hubo modificación substancial respecto a éstos parámetros ^(282, 283).

En STEVIE, con un seguimiento de >12 meses y un tiempo medio de tratamiento de 8 meses en 500 pacientes, se han obtenido tasas de respuesta global del 64,9% con tasas de RC, RP y EE de 33,8%, 32,9% y 26% para el CBCIa y de 6,9%, 31% y 34,5% para CBCm, respectivamente. La progresión de la enfermedad se ha objetivado solo en el 3,1% de los pacientes. La duración media de la respuesta ha sido de 13,9 meses y de 22,9 meses, con un tiempo medio hasta la respuesta de 2,8 meses y 2,6 meses para los casos de CBCm y CBCIa, respectivamente. La supervivencia libre de progresión ha sido de 13,1 meses y de 24,5 meses para CBCm y CBCIa, respectivamente ⁽²⁸⁶⁾.

Respecto a la seguridad de vismodegib, los EA observados han sido similares a los de otros estudios previos; los más frecuentemente registrados en nuestro grupo de pacientes fueron, por orden de frecuencia, alopecia, disgeusia, pérdida de peso, astenia, calambres musculares, sintomatología gastrointestinal (náuseas) y cefalea, todos ellos grado 1-2, sin evidenciarse EA graves (grado 5) que pusieran en peligro la vida del paciente o que se demostrara que condujeran al fallecimiento del mismo. Se produjeron 2 éxitus, 1 paciente por reagudización de su insuficiencia cardiorrespiratoria basal y otra paciente de 96 años por neumonía, no pudiendo establecer una clara causalidad con el tratamiento.

En el estudio pivotal ERIVANCE, los EA más frecuentemente registrados en grado 1 y 2 fueron calambres musculares (68,3%), alopecia (63,5%), disgeusia (51%) y pérdida de peso (46,2%), fatiga (35,6%), náuseas (28,8%), y diarrea (20%). Los EA de grado >3 fueron pérdida de peso (7,2%), fatiga (5,8%) y calambres musculares (3,6%). En el análisis primario se detectaron EA serios en 26 pacientes (25%), siendo los más frecuentes infecciones (4,8%), neoplasias (4,8%), trombosis venosas y pulmonares (4,8%), alteraciones cardíacas (3,8%) y alteraciones del sistema nervioso (3,8%). 16 pacientes fallecieron pero no se ha podido establecer una relación clara entre estos EA serios y las muertes con el fármaco ^(282, 283).

En el estudio STEVIE, los EA más frecuentemente reportados han sido calambres musculares (63,2%), alopecia (61%), disgeusia (53,8%), pérdida de peso (32,4%), astenia (28,2%) y pérdida de apetito (25,4%). Los eventos adversos graves se produjeron en 107 pacientes (21,4%) y han sido relacionados con vismodegib en aproximadamente 33 pacientes (6,6%). Los más frecuentes han sido neumonía (1,8%), deterioro físico (1,4%), y deshidratación (1%); 29 pacientes (5,8%) fallecieron: únicamente 2 pacientes por EA relacionados con el fármaco ⁽²⁸⁶⁾.

En nuestra experiencia, los EA de vismodegib son frecuentes pero relativamente bien tolerados por el paciente y que la finalización del tratamiento relacionada con la intolerabilidad al fármaco es relativamente frecuente pero coincide con la obtención de una buena respuesta al tratamiento. Por otra parte, la tasa de EA graves y/o éxitus es baja y únicamente en casos aislados se ha podido establecer una relación clara con el fármaco. Un punto importante es el desarrollo concomitante de 2 CE en 2 pacientes durante el tratamiento con vismodegib, y la evolución más rápida y/o agresiva que han presentado durante éste período y de forma posterior. Recordemos que la paciente nº 9 presentó un CE malar derecho con rápida progresión locorregional hacia la invasión ganglionar cervical ipsilateral, que pudo ser controlado mediante cirugía y RT. Respecto al paciente nº 1 desarrolló un CE en cuero cabelludo con respuesta clínica aparentemente completa tras RT pero que actualmente ha recidivado de forma extensa y agresiva hacia la progresión locorregional con invasión ósea. Estos 2 casos junto al hallazgo histopatológico de transformación escamosa en algunos pacientes durante el tratamiento con éste fármaco se suma a los datos recientemente publicados en la literatura que hacen referencia al desarrollo de ésta patología en el curso de tratamiento con vismodegib.

8.3. EVALUACIÓN HISTOPATOLÓGICA

Nueve pacientes completaron el registro completo protocolizado de 4 biopsias cutáneas, es decir, al inicio, al mes, 3 y 6 meses del inicio del tratamiento y durante el curso del mismo (nº 1, 2, 3, 6, 7, 11, 12, 14 y 15). De éstos, en 3 pacientes (20%) se objetivó una disminución coherente progresiva de focos tumorales en las biopsias consecutivas: en el paciente nº 7 ya no se objetivaban restos tumorales a los 3 meses, en el paciente nº 12 al mes de tratamiento y en el paciente nº 14 no se evidenciaba presencia tumoral en la biopsia de los 6 meses.

En las biopsias realizadas al mes de tratamiento, se observa una buena respuesta tumoral con ausencia de focos tumorales en aproximadamente un tercio de los pacientes, con incremento de la fibrosis y reacción inflamatoria respecto a las biopsias basales, pero con presencia de un componente de diferenciación escamosa en casi la mitad de las biopsias que mostraban persistencia tumoral. Esta respuesta se va incrementando de forma moderada en las biopsias realizadas a los 3 meses del inicio del fármaco, con ausencia de focos tumorales en aproximadamente la mitad de los pacientes; sin embargo en las biopsias obtenidas a los 6 meses, se observa una disminución de la respuesta completa (ausencia de tumor), que se objetiva en 3 pacientes (20%) con presencia de muy escasos focos tumorales en 6 pacientes (40%), aunque se puede inferir que la respuesta global al fármaco objetivada en las biopsias realizadas en este momento del seguimiento fue buena, con carga tumoral escasa o ausente en el 60% de los pacientes. Esta discorrelación entre las últimas biopsias practicadas con respecto a las previas puede explicarse por la realización de biopsias rotatorias dentro de una misma lesión, pero siempre practicadas en áreas clínicamente sugestivas de persistencia tumoral, aunque en ocasiones no se podía discernir clínicamente de forma precisa si se trataba de una zona de persistencia tumoral vs fibrosis en relación al tratamiento.

La evidencia de diferenciación escamosa en las biopsias al mes, 3 y 6 meses se ha observado en aproximadamente un tercio de los pacientes a lo largo del tratamiento y se ha presentado de forma mayoritaria entre los pacientes que han obtenido RP, sugiriendo que éste hecho podría ayudar a explicar un menor grado de respuesta y cierta resistencia al fármaco.

8. 4. ESTUDIO DE TRANSCRIPCIÓN GENÉTICA

Debido al pequeño tamaño de la muestra y el escaso número de biopsias analizadas, tanto basales como de seguimiento durante el tratamiento con vismodegib, no se han podido encontrar diferencias estadísticamente significativas en los diferentes análisis realizados, por lo que los resultados obtenidos no son determinantes ni concluyentes y deben interpretarse con precaución siempre mediante la correlación clínico-patológica-genética.

En relación a la evolución de los niveles de los diferentes biomarcadores durante el tratamiento con vismodegib, los biomarcadores que presentan una tendencia al descenso de sus niveles en respuesta al tratamiento son sobre todos aquellos directamente relacionados con la vía Hh como son Gli1, HES1, PRKCI, DISP1 y SOX2; otros biomarcadores pertenecientes a vías paralelas de Hh como Notch y AXL presentan una tendencia hacia la estabilidad de sus niveles e incluso observando un discreto aumento en las biopsias a los 6 meses y son NUMB, AXL, también de BIM y BIM_EL. Todo ello se relaciona de una forma bastante coherente con la respuesta global obtenida al fármaco, sobre todo en términos de RP: se observa un descenso de los principales biomarcadores Hh con aumento de los marcadores de apoptosis tumoral, pero con incremento o estabilidad de otros correspondientes a vías directamente relacionadas con Hh, lo que podría ayudar a diseñar estudios futuros para dilucidar si realmente estos marcadores de vías relacionadas con Hh pueden estar implicados en fenómenos de resistencia al fármaco, ya que la posibilidad de haber obtenido un descenso de estos niveles quizá podría haber ayudado a la obtención de un mayor grado de respuesta al fármaco.

Por lo que respecta a la evolución de los biomarcadores en aquellos pacientes con ≥ 2 biopsias analizadas, observamos que también existe una heterogeneidad entre biomarcadores, con descenso de algunos (sobre todo de los directamente relacionados con Hh) pero no todos, lo que podría ayudar a explicar la RP y una posible resistencia adquirida. La evaluación rigurosa por paciente y la correlación con los resultados globales citados es difícil porque en algunos pacientes únicamente disponemos de 2 biopsias muy próximas en el tiempo y en otros casos tampoco disponemos del análisis de todos los biomarcadores en todos los momentos evolutivos.

En relación al análisis de la correlación basal entre los diferentes biomarcadores, podríamos esperar una modificación evolutiva paralela y lineal en respuesta al tratamiento entre aquellos biomarcadores que presentan una fuerte correlación positiva, particularmente HES1 con SOX2 ($Rho=0,80$, $p=0,008$), PRKCI con SOX2 y BIM ($Rho=0,98$, $p<0,001$ y $Rho=0,80$, $p=0,0008$ respectivamente), y entre SOX y BIM ($Rho=0,89$, $p=0,001$).

Respecto a la relación entre la respuesta a vismodegib y la expresión basal de los diferentes biomarcadores nos encontramos que entre los pacientes respondedores (RC/RP) que han sido la mayoría, existe sobreexpresión basal (valores intermedio/alto) del ARNm de los biomarcadores más directamente

relacionados con la vía Hh como son Gli1, HHAT, PRKCI, DISP1 y SOX2, y que también corresponden, como se ha comentado al principio de este apartado, a los biomarcadores que experimentaban un descenso en respuesta al tratamiento; baja expresión basal del ARNm de HES1 pero sobreexpresión de NUMB (intermedio/alto) que son marcadores relacionados con la vía Notch, nivel bajo/intermedio de expresión del ARNm de los biomarcadores de la vía AXL (AXL y GAS6) y sobreexpresión (nivel intermedio/alto) del ARNm de los biomarcadores relacionados con la apoptosis tumoral.

No se ha encontrado ningún biomarcador cuyos niveles basales tenga implicación directa estadísticamente significativa en las tasas de SG y SLP; desde el punto de vista observacional, podríamos apuntar que, respecto a la SG, el hallazgo de determinados biomarcadores con $HR < 1$ (HES1, NUMB, GAS6) sugeriría que niveles basales de expresión altos se correlacionarían con una mayor SG, de forma similar que ocurriría con NUMB respecto a la SLP. Tampoco encontramos diferencias significativas entre la SLP y la distribución de los niveles basales de expresión de los biomarcadores en grupos comparativos bajo/intermedio vs alto y bajo vs intermedio/alto; de nuevo y sólo desde el punto de vista observacional, vemos que aquellos pacientes que presentan un nivel de expresión basal bajo/intermedio de determinados biomarcadores como NUMB, Gli1, HHAT y DISP1 presentan una mediana de SLP mayor. Si tenemos en cuenta la mediana de los niveles de expresión, sin poder establecer relaciones estadísticas directas ni concluyentes, vemos que aquellos pacientes que presentan niveles basales de expresión de determinados biomarcadores \geq mediana se relacionan con una mediana de SLP mayor como son BIM y HES1, mientras que aquellos pacientes que presentan niveles basales de expresión de BIM_EL, NUMB y DISP1 $<$ mediana tienen una mediana de SLP mayor.

En este estudio, no se ha podido determinar ningún biomarcador que se relacione con el fenómeno de transformación escamosa presente en algunas biopsias cutáneas durante el tratamiento.

9. CONCLUSIONES

- 1- Vismodegib ha demostrado ser un fármaco eficaz en el tratamiento del CBCIa, tanto como primera línea terapéutica como en casos refractarios a múltiples tratamientos previos, con una tasa de respuesta global del 93,3% en nuestra cohorte de pacientes.
- 2- En nuestra cohorte de pacientes, los principales datos de eficacia corresponden a una mayoría de RP (73,3%), existiendo diferencias estadísticamente significativa entre las superficies tumorales pre y post-tratamiento.
- 3- Aquellos pacientes diagnosticados de CBCIa extenso en tratamiento con vismodegib han experimentado una aparente reducción clínica y/o radiológica tumoral, completa en el 20% de los pacientes y parcial en el 73.3% pudiendo lograr la resolución completa del mismo mediante tratamiento adyuvante con cirugía y/o RT solos o en combinación, tratamientos que una gran mayoría de pacientes había recibido pero que no habían sido suficientes para obtener la curación tumoral. Por ello, observamos que, particularmente en nuestro estudio, la principal utilidad y eficacia de vismodegib ha sido de alguna manera como “reductor” o “neoadyuvante”, si bien la experiencia de recidiva extensa posterior observada en 2 pacientes nos hace reflexionar sobre cual es la verdadera eficacia y de qué manera actúa vismodegib disminuyendo masa tumoral ya que, si bien inicialmente podemos encontrarnos con una aparente reducción clínica de la infiltración y diámetro tumoral confirmada también mediante biopsia, puede haber una extensión subclínica en diferentes focos lesionales difícil de delimitar y que nos puede conducir erróneamente a la elección inadecuada del tratamiento adyuvante y de la forma de realizarlo.
- 4- Aquellos pacientes con CBC múltiples durante el tratamiento con vismodegib experimentan una reducción y/o resolución completa de algunas lesiones; en menor medida ocurre en pacientes con síndromes genéticos en los que el tratamiento puede servir para controlar de forma temporal aquellas lesiones más invasivas o reducir la aparición de nuevos tumores, con reaparición de nuevos CBC tras la suspensión del fármaco.
- 5- El tiempo medio de tratamiento con vismodegib ha sido de 8 meses, objetivándose en la mayoría de los pacientes una estabilidad en la respuesta clínica a partir de 6-8 meses de tratamiento.
- 6- La tasa de recidiva tras vismodegib ± adyuvancia ha sido relativamente baja (26%) con un tiempo medio hasta la recidiva de 10 meses. La presencia de uno o varios subtipos histológicos agresivos en la biopsia basal, la obtención de RP, la necesidad de adyuvancia tras vismodegib y el desarrollo de diferenciación escamosa en las biopsias realizadas durante el tratamiento son factores que podrían ayudar a explicar las recidivas tumorales a pesar de la RT adyuvante recibida. En aquellos casos de RP y con el objetivo de definir cual sería el mejor tratamiento adyuvante y la modalidad de aplicación, un aspecto interesante que se podría plantear sería la realización de un mapeo mediante biopsias cutáneas de todo el área tumoral

antes y después de la administración del fármaco y una vez alcanzada la máxima respuesta, ya que obtendremos información sobre si ha habido transformación escamosa y se delimitará de una manera más aproximada el área de persistencia tumoral. La RT como tratamiento ayudante podría tener más utilidad en aquellos CBC que ya presentaban de inicio diferenciación escamosa o ésta se ha desarrollado en el curso del tratamiento, siendo recomendable, si es posible, la realización de CMM como adyuvancia sólo o en combinación con RT en los casos que no se objetive transformación escamosa.

- 7- Los EA derivados del tratamiento con vismodegib son frecuentes pero relativamente bien tolerados por el paciente y la finalización del tratamiento relacionada con la intolerabilidad al fármaco es relativamente frecuente pero coincide con la obtención de una buena respuesta al tratamiento. En nuestra cohorte de pacientes no se han observado EA graves que pusieran en peligro la vida del paciente y la tasa de éxitus ha sido baja (13,33%).
- 8- El desarrollo concomitante de CE durante el tratamiento con vismodegib, presentando un crecimiento e invasión más rápidos es un hecho que se ha de tener en cuenta, requiriendo la suspensión inmediata del fármaco y la aplicación de un tratamiento intensivo para el control de este tumor.
- 9- A pesar de la eficacia demostrada con vismodegib en el CBCIa en nuestra cohorte de pacientes y en los diferentes ensayos clínicos realizados a nivel internacional, todavía existen algunos interrogantes relativos al fármaco, como son cual es duración óptima del tratamiento, si hay diferencias significativas en cuanto a respuesta tumoral entre pautas intermitentes vs continuas de tratamiento y el tipo de reducción tumoral real obtenida con el mismo.
- 10- Desde el punto de vista histopatológico, la respuesta global al fármaco objetivada en las biopsias realizadas a los 6 meses de inicio del tratamiento es buena, con ausencia o presencia de escasa carga tumoral en aproximadamente el 60% de los pacientes. La evidencia de diferenciación escamosa en las biopsias practicadas durante el tratamiento se ha observado en aproximadamente un tercio de los pacientes a lo largo del tratamiento y se ha presentado de forma mayoritaria entre los pacientes que han obtenido RP, sugiriendo que éste hecho podría ayudar a explicar un menor grado de respuesta y cierta resistencia al fármaco.
- 11- No se ha podido identificar ningún marcador genético cuya expresión basal o en diferentes momentos evolutivos del tratamiento, prediga una mejor respuesta clínica al fármaco y/o una mejor SLP.

- 12- Si que se ha observado una tendencia mayoritaria al descenso de los niveles en respuesta al tratamiento para los biomarcadores directamente relacionados con la vía Hh como son Gli1, HES1, PRKCI, DISP1 y SOX2 con aumento de los marcadores de apoptosis tumoral, coherente con el grado de respuesta al fármaco, pero con incremento o estabilidad de otros correspondientes a otras vías diferentes pero directamente relacionadas con Hh. Con los datos obtenidos en este estudio no se pueden hacer inferencias claras y concretas con respecto a cuales de estos últimos marcadores podrían estar implicados en una menor respuesta y/o fenómenos de resistencia al fármaco.
- 13- Algunos biomarcadores presentan una fuerte correlación positiva entre sí a nivel basal, en particular HES1 con SOX2 (Rho=0,80, p= 0,008), PRKCI con SOX2 y BIM (Rho=0,98, p<0,001y Rho=0,80, p=0,0008, respectivamente), y SOX con BIM (Rho=0,89, p=0,001).
- 14- Entre los pacientes respondedores existe sobreexpresión basal (valores intermedio/alto) del ARNm de los biomarcadores más directamente relacionados con la vía Hh como son Gli1, HHAT, PRKCI, DISP1 y SOX2, baja expresión basal del ARNm de HES1 pero sobreexpresión de NUMB (intermedio/alto) que son marcadores relacionados con la vía Notch, nivel bajo/intermedio de expresión del ARNm de los biomarcadores de la vía AXL (AXL y GAS6) y sobreexpresión (nivel intermedio/alto) del ARNm de los biomarcadores relacionados con la apoptosis tumoral, pero sin diferencias estadísticamente significativas.
- 15- En esta cohorte de pacientes no se ha podido determinar ningún biomarcador que esté relacionado con el fenómeno de diferenciación escamosa presente en algunas biopsias cutáneas durante el tratamiento.
- 16- En el presente trabajo, la ausencia de asociaciones estadísticamente significativas desde el punto de vista molecular se explica en parte por el pequeño tamaño muestral, tanto de pacientes como de biopsias cutáneas susceptibles de análisis, así como la escasa disponibilidad de seguimiento evolutivo molecular en las biopsias seriadas de cada paciente, lo que hace difícil valorar la dinámica real de uno o varios marcadores en un mismo paciente.

10. ANEXOS

ANEXO 1. Skindex-16

Skindex16
©MMChren, 1997

LAS SIGUIENTES PREGUNTAS SE REFIEREN AL PROBLEMA DE PIEL QUE LE HAYA PRODUCIDO MÁS MOLESTIAS DURANTE LOS ÚLTIMOS 7 DÍAS

Durante los últimos 7 días, ¿con qué frecuencia ha sentido molestias por culpa de las siguientes causas?	Ninguna molestia ↓						Molestias constantes ↓
1. El picor provocado por su problema de piel	<input type="checkbox"/>						
2. El ardor o escozor provocado por su problema de piel	<input type="checkbox"/>						
3. El dolor provocado por su problema de piel	<input type="checkbox"/>						
4. La irritación provocada por su problema de piel	<input type="checkbox"/>						
5. La persistencia/recurrencia de su problema de piel	<input type="checkbox"/>						
6. La preocupación con respecto a su problema de piel (<u>por ejemplo</u> , que se extienda, empeore, deje cicatrices o evolucione de forma inesperada, etc.)	<input type="checkbox"/>						
7. El aspecto externo de su problema de piel	<input type="checkbox"/>						
8. La frustración provocada por su problema de piel	<input type="checkbox"/>						
9. La sensación de vergüenza provocada por su problema de piel	<input type="checkbox"/>						
10. La sensación de fastidio provocada por su problema de piel	<input type="checkbox"/>						
11. La tristeza que le provoca su problema de piel	<input type="checkbox"/>						
12. La influencia de su problema de piel en sus relaciones sociales (<u>por ejemplo</u> , las relaciones con su familia, sus amigos o su entorno cercano, etc.)	<input type="checkbox"/>						
13. La influencia de su problema de piel en sus deseos de estar con otras personas	<input type="checkbox"/>						
14. Lo difícil que le resulta expresar su afecto por culpa de su problema de piel	<input type="checkbox"/>						
15. La influencia de su problema de piel en sus actividades cotidianas	<input type="checkbox"/>						
16. Lo difícil que le resulta trabajar o hacer las cosas que le gustan por culpa de su problema de piel	<input type="checkbox"/>						

¿Ha contestado todas las preguntas? Sí No

ANEXO 2. Hoja de información al paciente y Consentimiento informado.

HOJA DE INFORMACIÓN AL PACIENTE

TÍTULO DEL ESTUDIO: Definición de bases moleculares adicionales que ayuden a comprender la eficacia y niveles de respuesta así como fenómenos de resistencia a vismodegib en pacientes afectos de carcinoma basocelular localmente avanzado y/o metastásico tratados con éste fármaco, mediante la recogida y procesamiento sistemático de biopsias cutáneas.

CÓDIGO DEL ESTUDIO: IIBSP-VIS-2014-22

PROMOTOR: Institut de Recerca de l'Hospital de la Santa Creu i Sant Pau – IIB Sant Pau

INVESTIGADOR PRINCIPAL: *(Incluir Nombre, servicio, forma de localizarle):*
Verónica Ruiz Salas. Servicio de Dermatología. Tel 696197868. email:
vruizs@santpau.cat

CENTRO: Hospital de la Santa Creu i Sant Pau. Instituto Oncológico Dr Rosell.

**** Nota aclaratoria:** en este documento aparecen en letra normal los aspectos que quedan fijos para todos los estudios, en cursiva los aspectos variables dependiendo de las características del estudio, pero que deben obligatoriamente cumplimentarse, y en rojo aparecen instrucciones y aspectos que son variables dependiendo de las características del estudio pero que podrían no tener que aparecer en el consentimiento en determinados casos. **ADAPTAR SEGÚN EL TIPO DE ESTUDIO**

INTRODUCCION

Nos dirigimos a usted para informarle sobre un estudio de investigación en el que se le invita a participar. El estudio ha sido aprobado por el Comité Ético de Investigación Clínica correspondiente.

Nuestra intención es tan solo que usted reciba la información correcta y suficiente para que pueda evaluar y juzgar si quiere o no participar en este estudio. Para ello lea esta hoja informativa con atención y nosotros le aclararemos las dudas que le puedan surgir después de la explicación. Además, puede consultar con las personas que considere oportuno.

Debe saber que su participación en este estudio es voluntaria y que puede decidir no participar o cambiar su decisión y retirar el consentimiento en cualquier momento, sin que por ello se altere la relación con su médico ni se produzca perjuicio alguno en su tratamiento.

DESCRIPCIÓN GENERAL DEL ESTUDIO

Vismodegib (GDC-0449) es un medicamento que fue aprobado por la FDA para su uso en en EEUU en Enero 2012 y por la Agencia Europea del Medicamento en Julio 2013. Actualmente se encuentra pendiente de aprobación en España para su uso en la práctica clínica diaria. Usted ha formado parte de un ensayo clínico (STEVIE) fase II multicéntrico, que pretendía evaluar la seguridad del fármaco así como otras variables como la tasa de respuesta global al fármaco, tiempo hasta la respuesta, supervivencia libre de progresión y calidad de vida de los pacientes. Los investigadores han descubierto que Vismodegib (GDC-0449) bloquea una vía de información en las células cancerosas, conocida como vía de señalización Hedgehog, que interviene en el crecimiento de algunos tipos de células cancerosas. Vismodegib (GDC-0449) actúa impidiendo o reduciendo el crecimiento de diversos tipos de células cancerosas. Este ensayo clínico ha sido promocionado por Roche Farma S.A. y ha sido aprobado por el Comité Ético de Investigación Clínica del Hospital Santa Creu i Sant Pau, que es el comité responsable de garantizar la protección de los derechos de los pacientes en el Hospital Santa Creu i Sant Pau.

El número total de pacientes incluidos durante el ensayo clínico STEVIE en el Hospital de la Santa Creu i Sant Pau es de 15.

La recogida de biopsias cutáneas como parte del seguimiento y evaluación de la eficacia de éste fármaco resulta de una gran utilidad, ya que permitirá la consecución de un estudio molecular riguroso que ayude a determinar verdaderamente los mecanismos celulares de actuación del fármaco. Dichas pruebas serán recogidas por el servicio de Dermatología del Hospital de la Santa Creu i Sant Pau y pasará a formar parte de las colecciones de muestras biológicas del mismo hospital de acuerdo con los requisitos de la ley 14/2007 de investigación biomédica y Real Decreto 17/16/2011 de 18 de noviembre. La investigación molecular subsecuente se realizará en el Instituto Oncológico Dr Rosell. La utilización de éstas muestras disponen de la aprobación del Comité de Ética de investigación del Hospital de la Santa Creu i Sant Pau. Para poder llevar a cabo el estudio será necesaria la realización,

siempre que sea posible, y de forma sistemática y protocolizada bajo anestesia local infiltrada mediante punción, de al menos 3 biopsias cutáneas de 4 mm de diámetro de la lesión tumoral tratada, con un intervalo entre ellas de un máximo de 3 meses, por lo que el número mínimo necesario de visitas a nuestro centro será de 3. Solicitamos su consentimiento para guardar y disponer del material biológico excedente para realizar investigación biomédica sin que esto le cause molestias adicionales.

BENEFICIOS Y RIESGOS DERIVADOS DE SU PARTICIPACIÓN EN EL ESTUDIO

Si de la investigación con sus muestras se obtuviera información relevante para su salud el Comité de Ética de Investigación habilitará los medios oportunos para contactar con usted y ofrecerle la posibilidad de facilitarle dicha información. Es posible que del estudio de las muestras no se derive ningún beneficio para su salud por participar en el mismo.

La realización de una biopsia cutánea no supone riesgos graves para el paciente, excepto los de hemorragia leve en el momento de su realización que se controla fácilmente mediante métodos de oclusión y posible infección local a corto-medio plazo que puede tratarse con antibióticos tópicos.

CONFIDENCIALIDAD

El tratamiento, la comunicación y la cesión de los datos de carácter personal de todos los sujetos participantes se ajustará a lo dispuesto en la Ley Orgánica 15/1999, de 13 de diciembre de protección de datos de carácter personal.

Los datos recogidos para el estudio estarán identificados mediante un código y sólo su médico del estudio/colaboradores podrán relacionar dichos datos con usted y con su historia clínica. Por lo tanto, su identidad no será revelada a persona alguna salvo excepciones en caso de urgencia médica o requerimiento legal.

El acceso a su información personal quedará restringido al médico del estudio/colaboradores y personal autorizado por el promotor, cuando lo precisen para

comprobar los datos y procedimientos del estudio, pero siempre manteniendo la confidencialidad de los mismos de acuerdo a la legislación vigente.

COMPENSACIÓN ECONÓMICA

La cesión de muestras que usted realiza es altruista y gratuita, por ello no obtendrá retribución económica alguna ni tendrá derechos sobre posibles beneficios comerciales como resultado de las investigaciones realizadas.

El promotor del estudio es el responsable de gestionar la financiación del mismo. Para la realización del estudio el promotor del mismo ha firmado un contrato con el centro donde se va a realizar y con el médico del estudio.

Su participación en el estudio no le supondrá ningún gasto económico.

OTRA INFORMACIÓN RELEVANTE

Cualquier nueva información que pueda afectar a su disposición para participar en el estudio, que se descubra durante su participación, le será comunicada por su médico lo antes posible.

Si usted decide retirar el consentimiento para participar en este estudio, ningún dato nuevo será añadido a la base de datos y, puede exigir la destrucción de todas las muestras identificables previamente retenidas para evitar la realización de nuevos análisis.

También debe saber que puede ser excluido del estudio si el promotor los investigadores del estudio lo consideran oportuno. En cualquier caso, usted recibirá una explicación adecuada del motivo que ha ocasionado su retirada del estudio

Al firmar la hoja de consentimiento adjunta, se compromete a cumplir con los procedimientos del estudio que se le han expuesto.

Título del estudio: **Definición de bases moleculares adicionales que ayuden a comprender la eficacia y niveles de respuesta así como fenómenos de resistencia a vismodegib en pacientes afectos de carcinoma basocelular localmente avanzado y/o metastásico mediante la recogida y procesamiento sistemático de biopsias cutáneas**

Yo (nombre y apellidos).....

He leído la hoja de información que se me ha entregado.

He podido hacer preguntas sobre el estudio.

He recibido suficiente información sobre el estudio.

He hablado con:

.....

(nombre y apellidos del investigador)

Comprendo que mi participación es voluntaria.

Comprendo que puedo retirarme del estudio:

1º Cuando quiera

2º Sin tener que dar explicaciones.

3º Sin que esto repercuta en mis cuidados médicos.

- Presto libremente mi conformidad para participar en el estudio y doy mi consentimiento para el acceso y utilización de mis datos en las condiciones detalladas en la hoja de información.

.....

Firma del paciente

Fecha:

.....

Firma del investigador

Fecha:

De conformidad con lo dispuesto en el art. 5.1 LO 15/1999, de 13 de diciembre, la Fundació de Gestió Sanitaria de l'Hospital de la Santa Creu i Sant Pau en cotitularidad con el Institut de Recerca pone en su conocimiento que dispone de un fichero con datos de carácter personal denominado "Investigació i Recerca".

La finalidad de su creación es la realización de estudios de investigación y ensayos clínicos. Los destinatarios de la información son todos los profesionales intervinientes en los estudios de investigación y ensayos clínicos del hospital.

En cualquier caso, puede ejercer los derechos de acceso, rectificación, cancelación y oposición mediante comunicación escrita, adjuntando una fotocopia del DNI del participante, a la dirección del responsable del fichero: c/Sant Antoni Maria Claret, 167. 08025 Barcelona, indicando como referencia "ensayo clinico".

10. ICONOGRAFÍA

PACIENTE 1:

Respuesta parcial con Vismodegib. RT adyuvante. Recidiva tumoral tratada mediante RT. CE cuero cabelludo con infiltración ósea 1 año postVismodegib.



Inicio Vismodegib.



3 meses de tratamiento con Vismodegib.



5 meses de tratamiento con Vismodegib.



Recidiva tumoral postVismodegib.



CE cuero cabelludo 1 año después de haber finalizado Vismodegib.



Respuesta completa tras RT por recidiva tumoral postVismodegib.

PACIENTE 4:

Enfermedad estable con Vismodegib



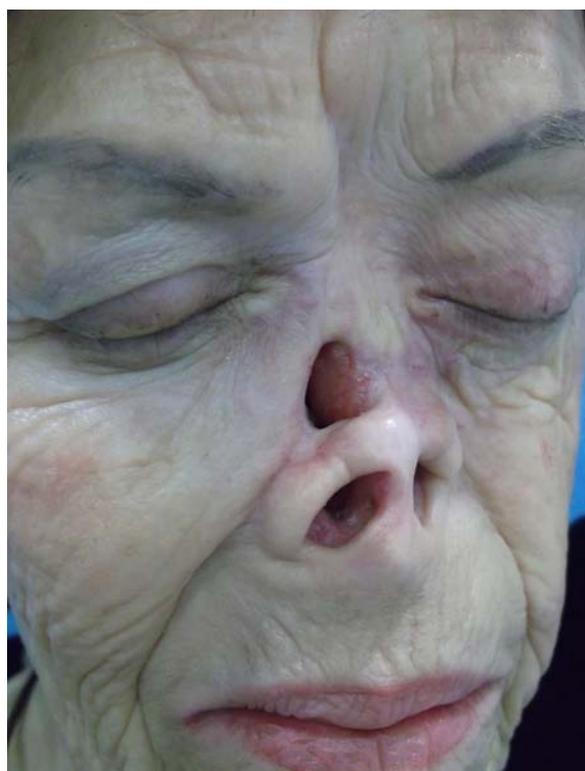
Inicio Vismodegib.



6 meses de tratamiento con Vismodegib.



11 meses de tratamiento con Vismodegib.



19 meses de tratamiento con Vismodegib.

PACIENTE 7:

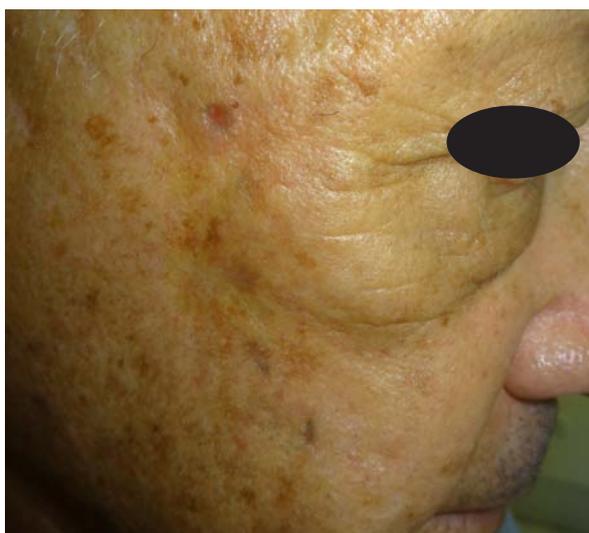
Respuesta parcial con Vismodegib. RT adyuvante. Recidiva tumoral tratada mediante CMM



Inicio Vismodegib.



3 meses de tratamiento con Vismodegib.



7 meses de tratamiento con Vismodegib.



Aparente respuesta completa postVismodegib + RT adyuvante.



Recidiva tumoral extensa
1 año después del tratamiento
con Vismodegib + RT adyuvante,
que ha sido tratada mediante CMM.

PACIENTE 9:

Respuesta completa con Vismodegib. Desarrollo de CE concomitante.



Inicio Vismodegib.



2 meses de tratamiento con Vismodegib



Respuesta completa tras 5 meses de tratamiento con Vismodegib.



CE malar derecho desarrollado en el curso de tratamiento con Vismodegib.



1 año postVismodegib.

PACIENTE 11:

Respuesta parcial con Vismodegib. Cirugía + RT adyuvantes.



Inicio Vismodegib.



3 meses de tratamiento con Vismodegib.



9 meses de tratamiento con Vismodegib.



Respuesta completa tras Vismodegib + cirugía y RT adyuvante.

PACIENTE 14:

Respuesta parcial con Vismodegib. RT adyuvante.



Inicio Vismodegib.



4 meses de tratamiento con Vismodegib.



9 meses de tratamiento con Vismodegib.



4-Respuesta completa tras Vismodegib + RT adyuvante.

11. BIBLIOGRAFÍA

- 1- Leiter U, Eigentler T, Garbe C. Epidemiology of skin cancer. Capítulo 7 del libro Sunlight, vitamin D and skin cancer, Second Edition.
- 2- Roewert-Huber J, Lange-Asschenfeldt B, Stockfleth E, Kerl H. Epidemiology and aetiology of basal cell carcinoma. *Br J Dermatol*. 2007;157(Suppl 2):47-51.
- 3- Gloster HM Jr, Brodland DG. The epidemiology of skin cancer. *Dermatol Surg*. 1996;22:217-26.
- 4- Youssef KK, Van Keymeulen A, Lapouge G, Beck B, Michaux C, Achouri Y, et al. Identification of the cell lineage at the origin of basal cell carcinoma. *Nat Cell Biol*. 2010;12:299-305.
- 5- Boyd AS, Shyr Y, King LE Jr. Basal cell carcinoma in young women: an evaluation of the association of tanning bed use and smoking. *J Am Acad Dermatol*. 2002;46:706-9.
- 6- Ramos J, Villa J, Ruiz A, Armstrong R, Matta J. UV dose determines key characteristics of nonmelanoma skin cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2004;13:2006-11.
- 7- Skellett AM, Hafiji J, Greenberg DC, Wright KA, Levell NJ. The incidence of basal cell carcinoma in the under-30s in the UK. *Clin Experim Dermatol*. 2011;37:227-29.
- 8- Bernat García J, Morales Suárez-Varela M, Vilata JJ, Marquina A, Pallardó L, Crespo J. Risk factors for nonmelanoma skin cancer in kidney transplant patients in a Spanish population in the Mediterranean región. *Acta Derm Venereol*. 2013;93:422-427.
- 9- Ruiz-Salas V, Garcés JR, Miñano Medrano R, Alonso-Alonso T, Rodríguez-Prieto MÁ, López-Estebanz JL, et al. Description of Patients Undergoing Mohs Surgery in Spain: Initial Report on Data From the Spanish Registry of Mohs Surgery (REGESMOHS). *Actas Dermosifiliogr*. 2015;106:562-568.
- 10- Gallagher RP, Rivers JK, Lee TK, Bajdik CD, McLean DI, Coldman AJ. Broad-spectrum sunscreen use and the development of new nevi in white children: a randomized controlled trial. *JAMA*. 2000;283:2955-60.
- 11- Kelly JW, Rivers JK, MacLennan R, Harrison S, Lewis AE, Tate BJ. Sunlight: a major factor associated with the development of melanocytic nevi in Australian children. *J Am Acad Dermatol*. 1994;30:40-8.
- 12- Ruenger TM, Moller K, Jung T, Dekant B. DNA damage formation. DNA repair and survival after exposure of DNA-repair-proficient and nucleotide excision repair-deficient human lymphoblasts to UVA1 and UVB. *Int J Radiat Biol*. 2000;76: 789-797.
- 13- De Gruijl FR, Sterenborg HJCM, Forbes PD, Davies RE, Cole C, Kelfkens G. Wavelength dependence of skin cancer induction by ultraviolet irradiation of albino hairless mice. *Cancer Res* 1993;52:53-60.
- 14- Saladi RN, Persaud AN. The causes of skin cancer: a comprehensive review. *Drugs Today* 2005;41:37-53.
- 15- Scotto J, Fears TR, Fraumeni JF. Incidence of nonmelanoma skin cancer in the United States. Washington (DC): US Department of Health and Human Services; 1983.
- 16- Serivener Y, Grosshans E, Cribier B. Variations of basal cell carcinomas according to gender, age, location and histopathological subtypes. *Br J Dermatol* 2002;147:41-47.
- 17- Rüniger TM. How different wavelengths of the ultraviolet spectrum contribute to skin carcinogenesis: the role of cellular damage responses. *J Invest dermatol* 2007;127:2103-5.
- 18- Wikonkal NM, Brash DE. Ultraviolet radiation induced signature mutations in photocarcinogenesis. *J Invest Dermatol Symp Proc*. 1999;4:6-10.
- 19- Ouhtit A, Nakazawa H, Armstrong BK, Krickler A, Tan E, Yamasaki H, et al. UV-radiation-specific p53 mutation frequency in normal skin as a predictor of risk of basal cell carcinoma. *J Natl Cancer Inst*. 1998;90:523-31.
- 20- Lear JT, Smith AG, Strange RC, Fryer AA. Detoxifyin enzyme genotypes and susceptibility to cutaneous malignancy. *Br J Dermatol* 2000;142:8-15.
- 21- Schmitt J, Seidler A, Diepgen TL, Bauer A. Occupational UV light exposure increases the risk for the development of cutaneous squamous cell carcinoma: a systematic review and meta-analysis. *Br J Dermatol* 2011;164:291-307.
- 22- Bauer A, Diepgen TL, Schmitt J. Is occupational solar UV-irradiation a relevant risk factor for basal cell carcinoma? A systematic review and meta-analysis of the epidemiologic literature. *Br J Dermatol* 2011;165:612-25
- 23- Gambichler T, Laperre J, Hoffmann K. The European standard for sun-protective clothing: EN 13758. *JEAD* 2006;20:125-30.
- 24- de Vries E, Arnold M, Altsitsiadis E, Trakatelli M, Hinrichs B, Stockfleth E, Coebergh J on behalf of the EPIDERM Group. Potential impact of interventions resulting in reduced exposure to ultraviolet (UV) radiation (UVA and UVB) on skin cancer incidence in four European countries, 2010-2050. *Br J Dermatol* 2012;167:53-62.

- 25- MckenzieR, Shive ML, Chren MM, Han J, Qureshi AA, Linos E. Indoor tanning and non-melanoma skin cancer: systematic review and meta-analysis. *BMJ* 2012;345:e5909.
- 26- Sherry HY, Jeremy S, Bordeaux SB, Baron E. The immune system and skin cancer. Capítulo 10 del libro Sunlight, Vitamin D and Skin cancer, second edition.
- 27- Welsh1 M, Karagas MR, Applebaum KM, Spencer SK, Perry A, Nelson H. A role for ultraviolet radiation immunosuppression in non-melanoma skin cancer as evidenced by gene-environment interactions. *Carcinogenesis* 2008;29:1950-54.
- 28- Bostwick J 3rd, Pendergrast WJ Jr, Vasconez LO. Marjolin's ulcer: an immunologically privileged tumor? *Plast Reconstr Surg*. 1976;57:66-9.
- 29- Steding-Jessen M, Birch-Johansen F, Jensen A, Schüz J, Kjær SK, Dalton SO. Socioeconomic status and non-melanoma skin cancer: a nationwide cohort study of incidence and survival in Denmark. *Cancer Epidemiol*. 2010;34:689-95.
- 30- Webb AR, Kline L, Holick MF. Influence of season and latitude on the cutaneous synthesis of vitamin D3: exposure to winter sunlight in Boston and Edmonton will not promote vitamin D3 synthesis in human skin. *J Clin Endocrinol Metab*. 1988; 67:373-378.
- 31- Corder EH, Guess HA, Hulka BS, Friedman GD, Sadler M, Vollmer RT, et al. Vitamin D and prostate cancer: a prediagnostic study with stored sera. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 1993;2:467-472.
- 32- Zittermann A, Schleithoff SS, Frisch S, Gotting C, Kuhn J, Koertke H, et al. Circulating calcitriol concentrations and total mortality. *Clin Chem*. 2009; 55:1163-1170.
- 33- Holick MF. Vitamin D deficiency. *N Engl J Med*. 2007; 357:266-281.
- 34- Vantieghem K, Kissmeyer AM, De Haes P, Bouillon R, Segaert S. UVB-induced production of 1,25-dihydroxyvitamin D3 and vitamin D activity in human keratinocytes pretreated with a sterol delta7-reductase inhibitor. *J Cellular Biochem*. 2006; 98:81-92.
- 35- Cole CA, Forbes PD, Davies RE. An action spectrum for UV photocarcinogenesis. *Photochem Photobiol*. 1986; 43:275-284.
- 36- Matsuoka LY, Wortsman J, Haddad JG, Hollis BW. In vivo threshold for cutaneous synthesis of vitamin D3. *J Lab Clin Med*. 1989; 114:301-305.
- 37- Wolpowitz D, Gilchrist BA. The vitamin D questions: how much do you need and how should you get it? *J Am Acad Dermatol*. 2006;54:301-317.
- 38- Tang Y, Fu T, Lau C, Dennis H BA, Oh D, Bikle D, Asgari M. Vitamin D in cutaneous carcinogenesis: Part I. *J Am Acad Dermatol*. 2012;67:803.e1-816.
- 39- Tang Y, Fu T, Lau C, Dennis H BA, Oh D, Bikle D, Asgari M. Vitamin D in cutaneous carcinogenesis: Part II. *J Am Acad Dermatol*. 2012;67:817.e1-828.
- 40- Ross AC, Manson JE, Abrams SA, Aloia JF, Brannon PM, Clinton SK, et al. The 2011 report on dietary reference intakes for calcium and vitamin D from the Institute of Medicine: what clinicians need to know. *J Clin Endocrinol Metab*. 2011; 96:53-58.
- 41- Asgari M, Tang J, Warton M, Chren M, Quesenberry Ch, Bikle D, et al. Association of Prediagnostic Serum Vitamin D levels with the Development of Basal Cell Carcinoma. *J Invest Dermatol*. 2010;130:1438-1443.
- 42- Watt TC, Inskip PD, Stratton K, Smith SA, Kry SF, Sigurdson AJ, et al. Radiation-related risk of basal cell carcinoma: a report from the Childhood Cancer Survivor Study. *J Natl Cancer Inst*. 2012;104:1240-50.
- 43- Tchounwou PB, Patlolla AK, Centeno JA. Invited reviews: carcinogenic and systemic health effects associated with arsenic exposure-a critical review. *Toxicol Pathol* 2003;31:575-88.
- 44- Agusa T, Kunito T, Minh Tue N, Thi Mai Lan V, Binh Minh T, Thi Kim Trang P, et al. Relationship between Arsenic (+3 Oxidation State) Methyltransferase Genetic Polymorphisms and Methylation Capacity of Inorganic Arsenic. *Nihon Eiseigaku Zasshi*. 2015;70:186-96.
- 45- Byrd DM, Roegner ML, Griffiths JC, et al. Carcinogenic risks of inorganic arsenic in perspective. *Int Arch Occup Environ Health* 1996;68:484-94.
- 46- IARC. A review of human carcinogens: arsenic, metals, fibres, and dusts, vol. 100C. Lyon, France: IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, International Agency for Research on Cancer, World Health Organization, 2012.
- 47- EPA. Arsenic, inorganic (CASRN 7440-38-2): Carcinogenicity assessment for lifetime exposure. Washington, DC: Integrated Risk Information System (IRIS), U.S. Environmental Protection Agency, 1998.
- 48- ATSDR. Toxicological profile for arsenic. Atlanta, GA: Agency for Toxic Substances and Disease Registry, U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service, 2007.

- 49- WHO. Arsenic and arsenic compounds, 2nd edn. Geneva, Switzerland: Environmental Health Criteria 224, International Programme on Chemical Safety, World Health Organization, 2001.
- 50- Surdu S, Fitzgerald E, Bloom MS, Boscoe FP, Carpenter D, Haase R, et al. Occupational exposure to arsenic and risk of non-melanoma skin cancer in a multinational European study. *Int J Cancer* 2013; 133: 2182–2191
- 51- Vries E, Trakatelli M, Kalabalikis D, Ferrandiz L, Ruiz-de-Casas A, Moreno-Ramirez D, et al. Known and potential new risk factors for skin cancer in European populations: a multicentre case-control study. *Br J Dermatol* 2012; 167 (Suppl 2):1-13
- 52- Brewer JD, Colegio OR, Phillips PK, Roenigk RK, Jacobs MA, Van de Beek D, et al. Incidence of and risk factors for skin cancer after heart transplant. *Arch Dermatol* 2009;145:1391-1396
- 53- Lanoy E, Costagliola D, Engels EA. Skin cancers associated with HIV infection and solid-organ transplantation among elderly adults. *Int J Cancer* 2010; 126: 1724-1731
- 54- Manusow D, Weinerman BH. Subsequent neoplasia in chronic lymphocytic leukemia. *JAMA* 1975; 232: 267–269
- 55- Levine PH, Hoover R. The emerging epidemic of nonHodgkins lymphoma: current knowledge regarding etiological factors. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1992;1:515-517
- 56- Aslakson CJ, Lee G, Boomer JS, Gilman-Sachs A, Kucuk O, Beaman KD. Expression of regeneration and tolerance factor on B cell chronic lymphocytic leukemias: a possible mechanism for escaping immune surveillance. *Am J Hematol* 1999;61:46-52.
- 57- Ramsay AG, Johnson AJ, Lee AM, et al. Chronic lymphocytic leukemia T cells show impaired immunological synapse formation that can be reversed with an immunomodulating drug. *J Clin Invest* 2008;118:2427–2437.
- 58- Kipps TJ. Genetics of chronic lymphocytic leukaemia. *Hematol Cell Ther* 2000; 42: 5-14.
- 59- McKenna DB, Doherty VR, McLaren KM, Hunter JA. Malignant melanoma and lymphoproliferative malignancy: is there a shared aetiology? *Br J Dermatol* 2000;143:171-173.
- 60- Mehrary K, Weenig RH, Pittelkow MR, Roenigk RK, Otley CC. High recurrence rates of basal cell carcinoma after Mohs surgery in patients with chronic lymphocytic leukemia. *Arch Dermatol* 2004;140:985-988.
- 61- Mehrary K, Weenig RH, Pittelkow MR, Roenigk RK, Otley CC. High recurrence rates of squamous cell carcinoma after Mohs surgery in patients with chronic lymphocytic leukemia. *Dermatol Surg* 2005;31:38-42.
- 62- Kasiske BL, Snyder JJ, Gilbertson DT, Wang C. Cancer after kidney transplantation in the United States. *Am J Transplant* 2004;4:905-913.
- 63- Ulrich C, Schmook T, Sachse MM, Sterry W, Stockfleth E. Comparative epidemiology and pathogenic factors for non-melanoma skin cancer in organ transplant patients. *Dermatol Surg* 2004;30:622-627.
- 64- Zwald FO, Brown M. Skin cancer in solid organ transplant recipients: advances in therapy and management part I. Epidemiology of skin cancer in solid organ transplant recipients. *J Am Acad Dermatol* 2011;65:253-61.
- 65- Bouwes Bavinck JN, Hardie DR, Green A. The risk of skin cancer in renal transplant recipients in Queensland, Australia: a follow up study. *Transplantation* 1996;65:715-21.
- 66- Ramsay HM, Reece SM, Fryer AA. Seven-year prospective study of non-melanoma skin cancer incidence in UK renal transplant recipients. *Transplantation* 2007;84:437-439.
- 67- Bordea C, Wojnarowska F, Millard PR, Doll H, Welsh K, Morris PJ. Skin cancers in renal transplant recipients occur more frequently than previously recognized in a temperate climate. *Transplantation* 2004;77:574–579.
- 68- Krynitz B, Edgren G, Lindelof B, Baecklund E, Brattstrom C, Wilczed H, et al. Risk of skin cancer and other malignancies in kidney, liver, heart and lung transplant recipients 1970-2008- A Swedish population-based study. *Int J Cancer* 2013;132:1429-38.
- 69- Tessari G, Girolomoni G. Nonmelanoma skin cancer in solid organ transplant recipients: update on epidemiology, risk factors and management. *Dermatol Surg* 2012;38:1622-30.
- 70- Zavos G, Bocos J, Papaconstantinou J, Boletis J, Gazouli M, Pappas P, et al. Study of “de novo” malignancies among Greek renal transplant recipients. *Transplant Proc* 2003;35:1399-1403.
- 71- Ulrich C, Jurgensen JS, degen A, Hackethal M, Ulrich M, Patel MJ, et al. Prevention of nonmelanoma skin cancer in organ transplant patients by regular use of a sunscreen: a 24 months, prospective, case control study. *Br J Dermatol* 2009; 161 (Suppl 3):78-84.
- 72- Engels EA, Pfeiffer RM, Fraumeni JF, Kasiske BL, Israni AK, Snyder JJ, et al. Spectrum of cancer risk among US solid organ transplant recipients. *JAMA* 2011; 306:1891-901.
- 73- Berg D, Otley CC. Skin cancer in organ transplant recipients: Epidemiology, pathogenesis, and management. *J Am Acad Dermatol*. 2002;47:1-20.

- 74- Jensen P, Hansen S, Moller B, Leivestad T, Pfeffer P, geiran O, et al. Skin cancer in kidney and heart transplant recipients and different long-term immunosuppressive therapy regimens. *J Am Acad Dermatol* 1999;40:177-86.
- 75- Kahan BD, Yakupoglu YK, Schoenberg L, Knight RJ, Katz SM, Lai D, et al. Low incidence of malignancy among sirolimus/cyclosporinetreated renal transplant recipients. *Transplantation* 2005; 80: 749-758.
- 76- Jensen P, Hansen S, Moller B, Leivestad T, Pfeffer P, Fauchald P. Are renal transplant recipients on CsA-based immunosuppressive regimens more likely to develop skin cancer than those on azathioprine and prednisolone? *Transplant Proc* 1999;31:1120.
- 77- Euvrard S, Ulrich C, Lefrancois N. Immunosuppressants and skin cancer in transplant patients: focus on rapamycin. *Dermatol Surg* 2004;30:628-633.
- 78- Otley CC, Coldiron BM, Stasko T, Goldman GD. Decreased skin cancer after cessation of therapy with transplant-associated immunosuppressants. *Arch Dermatol* 2001;137:459-463.
- 79- Dantal J, Hourmant M, Cantarovich D, et al. Effect of longterm immunosuppression in kidney graft recipients on cancer incidence: randomized comparison of two cyclosporine regimens. *Lancet* 1998; 351: 623-628.
- 80- Otley CC, maragh SL. Reduction of immunosuppression for transplant-associated skin cancer: a rationale and evidence of efficacy. *Dermatol Surg* 2005;31:163-8.
- 81- Castori M, Morrone A, Kanitakis J, Grammatico P. Genetic skin diseases predisposing to basal cell carcinoma. *Eur J Dermatol* 2012;22:299-309.
- 82- Jones EA, Sajid MI, Shenton A, Evans DG. Basal cell carcinomas in Gorlin syndrome: a review of 202 patients. *J Skin Cancer* 2011;2011:217378.
- 83- Gorlin RJ. Nevoid basal cell carcinoma (Gorlin) syndrome. *Genet Med* 2004; 6: 530-9.
- 84- O'Malley S, Weitman D, Olding M, Sekhar L. Multiple neoplasms following craniospinal irradiation for medulloblastoma in a patient with nevoid basal cell carcinoma syndrome. Case report. *J Neurosurg* 1997;86:286-8.
- 85- Muller E, Hudgins L. 9q22.3 Microdeletion. In: Pagon RA, Bird TD, Dolan CR, Stephens K, editors. GeneReviews [Internet]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993-2011 Aug 18.
- 86- Bazex A, Dupre A, Christol B. Genodermatose complexe de type indetermine associant une hypotrichose, un etat atrophodermique generalise et des degenerescences cutanees multiples (epitheliomasbasocellulaires). *Bull Soc Fr Dermatol Syphiligr* 1964;71:206.
- 87- Plosila M, Kiistala R, Niemi KM. The Bazex syndrome: follicular atrophoderma with multiple basal cell carcinomas, hypotrichosis and hypohidrosis. *Clin Exp Dermatol* 1981;6:31-41.
- 88- Parren LJ, Abuzahra F, Wagenvoort T, et al. Linkage refinement of Bazex-Dupre-Christol syndrome to an 11.4 Mb interval on chromosome Xq25-27.1. *Br J Dermatol* 2011;165:201-3.
- 89- Oley CA, Sharpe H, Chenevix-Trench G. Basal cell carcinomas, coarse sparse hair, and milia. *Am J Med Genet* 1992; 43:799-804.
- 90- Daya-Grosjean L. Xeroderma pigmentosum and skin cancer. *Adv Exp Med Biol* 2008;637:19-27.
- 91- Webb S. Xeroderma pigmentosum. *Br Med J* 2008; 336: 444-6.
- 92- Goyal JL, Rao VA, Srinivasan R, Agrawal K. Oculocutaneous manifestations in xeroderma pigmentosa. *Br J Ophthalmol* 1994; 78: 295-7.
- 93- Michaelsson G, Olsson E, Westermark P. The Rombo syndrome: a familial disorder with vermiculate atrophoderma, milia, hypotrichosis, trichoepitheliomas, basal cell carcinomas and peripheral vasodilation with cyanosis. *Acta Derm Venereol* 1981;61:497-503.
- 94- van Steensel MA, Jaspers NG, Steijlen PM. A case of Rombo syndrome. *Br J Dermatol* 2001;144:1215-8.
- 95- Ashinoff R, Jacobson M, Belsito DV. Rombo syndrome: a second case report and review. *J Am Acad Dermatol* 1993;28:1011-4.
- 96- Mills O, Thomas LB. Basaloid follicular hamartoma. *Arch Pathol Lab Med* 2010; 134:1215-9.
- 97- Wheeler CE, Carroll MA, Groben PA, Briggaman RA, Prose NS, Davis DA. Autosomal dominantly inherited generalized basaloid follicular hamartoma syndrome: report of a new disease in a North Carolina family. *J Am Acad Dermatol* 2000; 43: 189-206.
- 98- Lee MW, Choi JH, Moon KC, Koh JK. Linear basaloid follicular hamartoma on the Blaschko's line of the face. *Clin Exp Dermatol* 2005; 30: 30-4.

- 99- Ricks M, Elston DM, Sartori CR. Multiple basaloid follicular hamartomas associated with acrochordons, seborrheic keratoses and chondrosarcoma. *Br J Dermatol* 2002;146:1068-70.
- 100- German J, Passarge E. Bloom's syndrome. XII Report from the Registry for 1987. *Clin Genet* 1989;35:57-69.
- 101- German J, Sanz MM, Ciocci S, Ye TZ, Ellis NA. Syndrome-causing mutations of the BLM gene in persons in the Bloom's Syndrome Registry. *Hum Mutat* 2007;28:743-53.
- 102- Draznin M, Robles DT, Nguyen V, Berg D. An unusual case of Bloom syndrome presenting with basal cell carcinoma. *Dermatol Surg* 2009;35:131-4.
- 103- Thomas ER, Shanley S, Walker L, Eeles R. Surveillance and treatment of malignancy in Bloom syndrome. *Clin Oncol (R Coll Radiol)* 2008;20:375-9.
- 104- Nakura J, Wijsman EM, Miki T, et al. Homozygosity mapping of the Werner syndrome locus (WRN). *Genomics* 1994; 23:600-8.
- 105- Leistriz DF, Hanson N, Martin GM, Oshima J. Werner Syndrome. In: Pagon RA, Bird TD, Dolan CR, Stephens K, editors. GeneReviews [Internet]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993-2002.
- 106- Hrabko RP, Milgrom H, Schwartz RA. Werner's syndrome with associated malignant neoplasms. *Arch Dermatol* 1982; 118: 106-8.
- 107- Larizza L, Roversi G, Volpi L. Rothmund-Thomson syndrome. *Orphanet J Rare Dis* 2010; 5: 2.
- 108- Wang LL, Levy ML, Lewis RA, Chintagumpala MM, Lev D, Rogers M, et al. Clinical manifestations in a cohort of 41 Rothmund-Thomson syndrome patients. *Am J Med Genet* 2001;102:11-7.
- 109- Howell SM, Bray DW. Amelanotic melanoma in a patient with Rothmund-Thomson syndrome. *Arch Dermatol* 2008;3:416-7.
- 110- Wang LL, Gannavarapu A, Kozinetz CA, Levy ML, Lewis RA, Chintagumpala MM, et al. Association between osteosarcoma and deleterious mutations in the RECQL4 gene in Rothmund-Thomson syndrome. *J Natl Cancer Inst* 2003;95:669-74.
- 111- Ponti G, Losi L, Di Gregorio C, Roncucci L, Pedroni M, Scarselli A, et al. Identification of Muir-Torre syndrome among patients with sebaceous tumors and keratoacanthomas: role of clinical features, microsatellite instability, and immunohistochemistry. *Cancer* 2005;103:1018-25.
- 112- Blake PW, Toro JR. Update of cylindromatosis gene (CYLD) mutations in Brooke-Spiegler syndrome: novel insights into the role of deubiquitination in cell signaling. *Hum Mutat* 2009;30:1025-36.
- 113- Lee KH, Kim JE, Cho BK, Kim YC, Park CJ. Malignant transformation of multiple familial trichoepithelioma: case report and literature review. *Acta Derm Venereol* 2008;88:43-6.
- 114- Monk BE, Pieris S, Soni V. Schopf-Schulz-Passarge syndrome. *Br J Dermatol* 1992;127:33-5.
- 115- Hobert JA, Eng C. PTEN hamartoma tumor syndrome: an overview. *Genet Med* 2009; 11: 687-94.
- 116- Cowen P, Connors T. Multiple hamartoma syndrome with trichoepitheliomas and basal cell carcinomas. *Australas J Dermatol* 1985;26: 118-20.
- 117- Ridanpaa M, van Eenennaam H, Pelin K, Chadwick R, Johnson C, Yuan B, et al. Mutations in the RNA component of RNase MRP cause a pleiotropic human disease, cartilage-hair hypoplasia. *Cell* 2001;104:195-203.
- 118- Makitie O, Pukkala E, Teppo L, Kaitila I. Increased incidence of cancer in patients with cartilage-hair hypoplasia. *J Pediatr* 1999;134:315-8.
- 119- Eisner JM, Russell M. Cartilage hair hypoplasia and multiple basal cell carcinomas. *J Am Acad Dermatol* 2006;54:S8-10.
- 120- de Oliveira WR, Festa Neto C, Rady PL, Tying SK. Clinical aspects of epidermodysplasia verruciformis. *JEAD* 2003; 17: 394-8.
- 121- Boxman IL, Russell A, Mulder LH, Bavinck JN, ter Schegget J, Green A. Case-control study in a subtropical Australian population to assess the relation between non-melanoma skin cancer and epidermodysplasia verruciformis human papillomavirus DNA in plucked eyebrow hairs. The Nambour Skin Cancer Prevention Study Group. *Int J Cancer* 2000;86:118-21.
- 122- Grønskov K, Ek J, Brøndum-Nielsen K. Oculocutaneous albinism. *Orphanet J Rare Dis* 2007;2:43.
- 123- Ademiluyi SA, Ijaduola GT. Occurrence and recurrence of basal cell carcinoma of the head and neck in Negroid and albinoid Africans. *J Laryngol Otol* 1987;101:1324-8.
- 124- Gahl WA. Hermansky-Pudlak Syndrome. In: Pagon RA, Bird TD, Dolan CR, Stephens K, editors. GeneReviews [Internet]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993-2000.

- 125- Happle R. The group of epidermal nevus syndromes Part I. Well defined phenotypes. *J Am Acad Dermatol* 2010;63:1-22.
- 126- Langenbach N, Hohenleutner U, Landthaler M. Phacomatosis pigmentokeratolica: speckled-lentiginous nevus in association with nevus sebaceus. *Dermatology* 1998;197:377-80.
- 127- Bouthors J, Vantyghem MC, Manouvrier-Hanu S, et al. Phacomatosis pigmentokeratolica associated with hypophosphataemic rickets, pheochromocytoma and multiple basal cell carcinomas. *Br J Dermatol* 2006; 155:225-6.
- 128- Dockx L. Sturge-Weber syndrome with basocellular epithelioma. *Arch Belg Dermatol Syphiligr* 1956;12:314-5.
- 129- Salman SM, Phillips T, Rogers GS. Klippel-Trenaunay syndrome and cutaneous carcinomas. *J Dermatol Surg Oncol* 1993;19:582-4.
- 130- Gulick AW, Taylor WB. A case of basal-cell carcinoma in a patient with the Wyburn-Mason syndrome. *J Dermatol Surg Oncol* 1978;4:85-6.
- 131- Zemtsov A. Association between basal, squamous cell carcinomas, dysplastic nevi and myotonic muscular dystrophy indicates an important role of RNA-binding proteins in development of human skin cancer. *Arch Dermatol Res* 2010;302:169-70.
- 132- Sand M, Bechara FG, Sand D, Moussa G, Stücker M, Altmeyer P, et al. Polyglandular autoimmune syndrome associated with pigmented basal cell carcinoma. *J Dermatol* 2005;32:1044-7.
- 133- Espinoza I, Miele L. Deadly crosstalk: Notch signaling at the interseccion of EMT and cancer stem cells. *Cancer Letters* 2013;341:41-5.
- 134- Nusslein-Volhard C, Wieschaus E. Mutations affecting segment number and polarity in *Drosophila*. *Nature*. 1980;287:795:801
- 135- Wang Y, McMahon AP, Allen BL. Shifting paradigms in Hedgehog signaling. *Curr Opin Cell Biol* 2007;19:159-65.
- 136- Wang LC, Liu ZY, Gambardella L, Delacour A, Shapiro R, Yang J, et al. Regular articles: conditional disruption of hedgehog signaling pathway defines its critical role in hair development and regeneration. *J Invest Dermatol* 2000;114:901-8.
- 137- Maeda Y, Nakamura E, Nguyen MT, et al. Indian Hedgehog produced by postnatal chondrocytes is essential for maintaining a growth plate and trabecular bone. *Proc Natl Acad Sci USA* 2007;104:6382-7.
- 138- Mar BG, Amakye D, Aifantis I, Buonamici S. The controversial role of the Hedgehog pathway in normal and malignant hematopoiesis. *Leukemia* 2011;25:1665-73
- 139- Binns W, James LF, Shupe JL, Thacker EJ. Cyclopien-type malformation in lambs. *Arch Environ Health*. 1962;5:106-8
- 140- Binns W, James LF, Shupe JL, Everett G. A congenital cyclopien-type malformation in lambs induced by maternal ingestion of a range plant, *Veratrum californicum*. *Am J Vet Res*. 1963;24:1164-1175.
- 141- Chen JK, Taipale J, Cooper MK, Beachy PA. Inhibition of Hedgehog signaling by direct binding of cyclopamine to Smoothened. *Genes Dev*. 2002;16:2743-2748.
- 142- Lin T, Matsui W. Hedgehog pathway as a drug target: Smoothened inhibitors in development. *Onco Targets Ther*. 2012;5:47-58
- 143- Kar S, Deb M, Sengupta D, Shilpi A, Bhutia S, Patra S. Intrincacies of hedgehog signaling pathways: a perspective in tumorigenesis. *Experim Cell Res* 2012;318:1959-72
- 144- Merchant AA, Matsui W. Targeting Hedgehog- A cancer stem cell pathway. *Clin Cancer Res* 2010;16:3130-40.
- 145- Barnfield PC, Zhang X, Thanabalasingham V. Negative regulation of Gli1 and Gli2 activator function by suppressor of fused through multiple mechanisms. *Differentiation* 2005;73:197-405.
- 146- Cheung HO, Zhang X, Ribeiro A. The kinesin protein Kif7 is a critical regulator of Gli transcription factors in mammalian Hedgehog signaling. *Sci Signal* 2009;2:ra29.
- 147- Katoh Y, Katoh M. Hedgehog signaling, epithelial-to-mesenchymal transition and miRNA. *Int J Mol Med* 2008;271-75.
- 148- Aszterbaum M, Rothman A, Johnson RL, Fisher M, Xie J, Bonifas JM, et al. Identification of mutations in the human PATCHED gene in sporadic basal cell carcinomas and in patients with the basal cell nevus syndrome. *J Invest Dermatol*. 1998;110:885-8.
- 149- Sahebjam S, Siu L, Razak A. The utility of Hedgehog signaling pathway inhibition for cancer. *The Oncologist* 2012;17:1090-9.
- 150- Lin T, Matsui W. Hedgehog pathway as a drug target. Smoothened inhibitors in development. *Oncotargets and Therapy* 2012;5:47-58
- 151- Yauch R, Gould S, Scales S. A paracrine requirement for hedgehog signaling in cancer. *Nature* 2008;455:406-10

- 152- Athar M, Li Ch, Kim A, Spiegelman V, Bickers D. Sonic Hedgehog Signaling in Basal Cell Nevus Syndrome. *Cancer Res* 2014;29:4967-75
- 153- Zhao C, Chen A, Jamieson CH et al. Hedgehog signaling is essential for maintenance of cancer stem cells in myeloid leukaemia. *Nature* 2009;458:776-779
- 154- Krahn G, Leiter U, Kaskel P, Udart M, Utikal J, Bezold G, et al. Coexpression patterns of EGFR, HER2, HER3 and HER4 in non-melanoma skin cancer. *Eur J Cancer* 2001;37:251-9
- 155- Muller H, Eisendle K, Gastl G, Hopfl R, Zelger B. Palliative therapy of giant basal cell carcinoma with the monoclonal anti-epidermal growth factor receptor. *Br J Dermatol*. 2008;158:1386-8
- 156- Caron J, Dereure O, Kerob D, Lebbe C, Guillot B. Metastatic basal cell carcinoma: report of two cases treated with cetuximab. *Br J Dermatol*. 2009;161:702-3
- 157- Kalapurakal SJ1, Malone J, Robbins KT, Buescher L, Godwin J, Rao K. cetuximab in refractory skin cancer treatment. *J Cancer*. 2012;3:257-61
- 158- Ling G, Ahmadian A, Persson A, Undén AB, Afink G, Williams C, et al. PATCHED and p53 gene alterations in sporadic and hereditary basal cell cancer. *Oncogene*. 2001 22;20:7770-8
- 159- Pandolfi S, Stecca B. Cooperative integration between hedgehog-Gli signaling and other oncogenic pathways: implications for cancer therapy. *Exp Rev Mol Med* 2015;15:1-36.
- 160- Brechbiel J, Karen Miller-Moslin K, Adjei A. Crosstalk between hedgehog and other signaling pathways as a basis for combination therapies in cancer. *Cancer Treat Rev* 2014;40:750-9.
- 161- Berwick M, Vineis P. Markers of DNA repair and susceptibility to cancer in humans: an epidemiologic review. *J Natl Cancer Inst* 2000;92:874-897.
- 162- Goode EL, Ulrich CM, Potter JD. Polymorphisms in DNA repair genes and associations with cancer risk. *Cancer Epidemiol Biomark Prev* 2002;11:1513-1530.
- 163- Dong LM, Potter JD, White E, Ulrich CM, Cardon LR, Peters U. Genetic susceptibility to cancer: the role of polymorphisms in candidate genes. *JAMA* 2008;299:2423-2436.
- 164- Jacobsen NR, Nexø BA, Olsen A, Overvad K, Wallin H, Tjønneland A, et al. No association between the DNA repair gene XRCC3T241M polymorphism and risk of skin cancer and breast cancer. *Cancer Epidemiol Biomark Prev*. 2003;12:584-585.
- 165- Nelson HH, Kelsey KT, Mott LA, Karagas MR, et al. The XRCC1Arg399Gln polymorphism, sunburn, and non-melanoma skin cancer: evidence of gene-environment interaction. *Cancer Res*. 2002;62:152-155.
- 166- Kang SY, Lee KG, Lee W, Shim JY, Ji SI, Chung KW, et al. Polymorphisms in the DNA repair gene XRCC1 associated with basal cell carcinoma and squamous cell carcinoma of the skin in a Korean population. *Cancer Sci*. 2007;98:716-720.
- 167- Farzan S, Karagas M, Christensen B, Li Z, Kuriger J, Nelson H. RNASEL and MIR146A SNP-SNP interaction as a susceptibility factor for non-melanoma skin cancer. *PLoS One* 2014;9:1-8
- 168- Marcil I, Stern RS. Risk of developing a subsequent non-melanoma skin cancer in patients with a history of nonmelanoma skin cancer: a critical review of the literature and meta-analysis. *Arch Dermatol*. 2000;136:1524-30
- 169- Rees JR, Zens MS, Gui J, Celaya MO, Riddle BL, Karagas MR. Non-melanoma skin cancer and subsequent cancer risk. *PLoS One*. 2014 Jun 17;9:e99674
- 170- Strutton G. Pathological variants of basal cell carcinoma. *Aus J Dermatol* 1997;38:S31-S35
- 171- Borel DM. Cutaneous basosquamous carcinoma: review of the literature and report of 35 cases. *Arch Pathol* 1973;95:293-7
- 172- Foot NC. Adnexal carcinoma of the skin. *Am J Pathol* 1947;23:1-
- 173- Kato N, Ueno H. Infundibulocystic basal cell carcinoma. *Am J Dermatopathol* 1993;15:265-7
- 174- Hamilton DG, Zeitlin AP. Hamartomatous basal-cell carcinoma. *J Dermatol Surg Oncol* 1978;4:526-7.
- 175- Misago n, Mihara I, Ansai S-I. Sebaceoma and related neoplasms with sebaceous differentiation. *Am J Dermatopathol* 2002;24:294-304.
- 176- Pinkus H. Epithelial and fibroepithelial tumors. *Arch dermatol* 1965;91:24-37.
- 177- Berk DR1, Ball Arefiev KL, Gladstone HB. Adamantinoid basal cell carcinoma: a predictor of more-aggressive clinical behavior. *Dermatol Surg*. 2012;38:1346-50.
- 178- Claassen SL, Royer MC, Rush WL. Granular cell basal cell carcinoma: report of a case and review of the literature. *Am J Dermatopathol*. 2014;36:e121-4.

- 179- Farmer ER, Helwing EB. Metastatic basal cell carcinoma: a clinicopathologic study of seventeen cases. *Cancer* 1980;46:748-57.
- 180- Alessi E, Venegoni L, Fanoni D, Berti E. Cytokeratin profile in basal cell carcinoma. *Am J Dermatopathol*. 2008;30:249-55.
- 181- Crowson AN. Basal cell carcinoma: biology, morphology and clinical implications. *Mod Pathol* 2006;19:S127-47.
- 182- Aoyagi S, Nouri K. Difference between pigmented and non-pigmented basal cell carcinoma treated with Mohs micrographic surgery. *Dermatol Surg* 2006;32:1375-9.
- 183- Yu M, Zloty D, Cowan B, Shapiro J, Haegert A, Bell RH, et al. Superficial, nodular, and morpheiform basal-cell carcinomas exhibit distinct gene expression profiles. *J Invest Dermatol*. 2008;128:1797-805.
- 184- Allen KJ, Cappel MA, Killian JM, Brewer JD. Basosquamous carcinoma and metatypical basal cell carcinoma: a review of treatment with Mohs micrographic surgery. *Int J Dermatol*. 2014;53:1395-403.
- 185- Hendrix J, Parlette H. Micronodular Basal Cell Carcinoma. A Deceptive Histologic Subtype with Frequent Clinically Undetected Tumor Extension. *Arch Dermatol* 1996;132:295-298.
- 186- Haws AL1, Rojano R, Tahan SR, Phung TL. Accuracy of biopsy sampling for subtyping basal cell carcinoma. *J Am Acad Dermatol*. 2012;66:106-11.
- 187- Bleehen S. Pigmented basal cell epithelioma. *Br J Dermatol* 1975;93:361-70.
- 188- Menzies SW, Westerhoff K, Rabinovitz H, Kopf AW, McCarthy WH, Katz B. Surface microscopy of pigmented basal cell carcinoma. *Arch Dermatol* 2000;136:1012-6.
- 189- Demirtafloglu M, Ilknur T, Lebe B, Kufuku E, Akarsu S, Ozkan S. Evaluation of dermoscopic and histopathologic features and their correlations in pigmented basal cell carcinomas. *JEAD* 2006;20:916-20
- 190- Castro RP, Stephens A, Fraga-Braghiroli NA, Oliviero MC, Rezze GG, Rabinovitz H, et al. Accuracy of in vivo confocal microscopy for diagnosis of basal cell carcinoma: a comparative study between handheld and wide-probe confocal imaging. *JEAD* 2015;29:1164-9.
- 191- Fitzpatrick. Libro de Dermatología en Medicina General. 7ª edición
- 192- Sterry W. European Dermatology Forum Guideline Committee. Guidelines: the management of basal cell carcinoma. *Eur J Dermatol* 2006; 16: 467-75.
- 193- Kyrgidis A, Vahtsevanos K, Tzellos TG, Xirou P, Kitikidou K, Antoniadis K, et al. Clinical, histological and demographic predictors for recurrence and second primary tumours of head and neck basal cell carcinoma. A 1062 patient-cohort study from a tertiary cancer referral hospital. *Eur J Dermatol*. 2010;20:276-82.
- 194- Sakura CY, Calamel PM. Comparison of treatment modalities for recurrent basal cell carcinoma. *Plast Reconstr Surg*. 1979;63:492-6.
- 195- Kwan W, Wilson D, Moravan V. Radiotherapy for locally advanced basal cell and squamous cell carcinomas of the skin.. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 2004;60:406-11
- 196- Edge SE, Byrd DR, Carducci MA. American Joint Committee on Cancer. Cutaneous squamous cell carcinoma and other cutaneous carcinomas. *AJCC Cancer Staging Manual* (7th Edition). NY, USA, 301-314 (2010).
- 197- Maly TJ, Sligh JE. Defining locally advanced Basal cell carcinoma. *J Drugs Dermatol*. 2014;13:528-9
- 198- Lear JT, Corner C, Dziewulski P, Fife K, Ross GL, Varma S, et al. Challenges and new horizons in the management of advanced basal cell carcinoma: a UK perspective. *Br J Cancer*. 2014;111:1476-81
- 199- Edge SE, Byrd DR, Carducci MA. American Joint Committee on Cancer. Carcinoma of the eyelid. *AJCC Cancer Staging Manual* (7th Edition). NY, USA,523-526 (2010).
- 200- Ting PT, Kasper R, Arlette JP. Metastatic basal cell carcinoma: report of two cases and literature review. *J Cutan Med Surg* 2005;9:10-15.
- 201- Lattes R, Kessler RW. Metastasizing basal cell epithelioma of the skin; report of 2 cases. *Cancer* 1951;4:866-878.
- 202- McCusker M, Basset-Seguin N, Dummer R, Lewis K, Schadendorf D, Sekulic A, et al. A Metastatic basal cell carcinoma: prognosis dependent on anatomic site and spread of disease. *Eur J Cancer*. 2014;50:774-83.
- 203- Trakatelli M, Morton C, Nagore E, Ulrich C, Del Marmol V, Peris K, et al. Update of the European guidelines for basal cell carcinoma management. *Eur J Dermatol*. 2014;24:312-29.
- 204- NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology. Basal Cell and Squamous Cell Skin Cancers. Versión 2.2013.
- 205- Dandurand M, Petit T, Martel P, Guillot B. Management of basal cell carcinoma in adults: Clinical practice guidelines. *Eur J Dermatol* 2006;16:394-401.

- 206- Schon MP, Schon M. Imiquimod: mode of action. *Br J Dermatol* 2007; 157 (suppl 2): 8-13.
- 207- Wuest M, Dummer R, Urošević M. Induction of the members of Notch pathway in superficial basal cell carcinomas treated with imiquimod. *Arch Dermatol Res* 2007;299:493-8.
- 208- Gollnick H, Barona CG, Frank RG, et al. Recurrence rate of superficial basal cell carcinoma following successful treatment with imiquimod 5% cream: conclusion of a 5 year long term follow up study in Europe. *Eur J Dermatol* 2008;18:677-82.
- 209- Geisse J, Caro I, Lindholm J, Golitz I, Stampone P, Owens M. Imiquimod 5% cream for the treatment of superficial basal cell carcinoma: results from two phase III randomized vehicle controlled studies. *J Am Acad Dermatol* 2004; 50:722-33.
- 210- Love E, Bernhard J, Bordeaux J. Topical imiquimod or fluorouracil therapy for basal and squamous cell carcinoma-systematic review. *Arch Dermatol* 2009; 145:1431-8.
- 211- Schulze HJ, Cribier B, Requena L. Imiquimod 5% cream for the treatment of superficial basal cell carcinoma: results from a randomized vehicle-controlled phase III study in Europe. *Br J Dermatol* 2005;152:939-47
- 212- Quirk C, Gebauer K, DeAmbrosio B, Slade HB, Meng TC. Sustained clearance of superficial basal cell carcinomas treated with imiquimod cream 5%: results of a prospective 5-year study. *Cutis* 2010;85:318-24.
- 213- Roozeboom MH, Arits AH, Nelemans PJ, Kelleners-Smeets NW. Overall treatment success after treatment of primary superficial basal cell carcinoma: a systematic review and meta-analysis of randomized and nonrandomized trials. *Br J Dermatol* 2012;167:733-56
- 214- Schon MP, Schon M. Imiquimod: mode of action. *Br J Dermatol* 2007; 157 (suppl 2): 8-13.
- 215- Quirk C, Gebauer K, De Ambrosio B, Slacke H, Meng T. Sustained clearance of superficial basal cell carcinomas treated with imiquimod cream 5%: results of a prospective 5-year study. *Cutis* 2010;85:318-24.
- 216- Vidal D, Matias-Gulu X, Alomar A. An open study of the efficacy and mechanism of action of topical imiquimod in basal carcinoma. *Clin Exp Dermatol* 2004;29:518-25.
- 217- Vidal D, Matias-Gulu X, Alomar A. Forty basal cell carcinoma treated with topical imiquimod: outcome 5 years follow up. *Arch Dermatol* 2007; 143: 266-8.
- 218- Vanaclocha F, Daudén E, Badía X, Guillén C, Conejo-Mir JS, Sainz de Los Terreros M et al. Cost-effectiveness of treatment of superficial basal cell carcinoma: surgical excision vs. imiquimod 5% cream. *Br J Dermatol* 2007;156:769-71.
- 219- Gross K, Kircik L, Kricorian G. 5% fluorouracil cream for the treatment of small superficial basal cell carcinoma: efficacy, cosmetic outcome, and patient satisfaction. *Dermatol Surg* 2007;33:433-40.
- 220- Arits AH, Mosterd K, Essers BA, Spoorenberg E, Sommer A, De Rooij MJ, et al. Photodynamic therapy versus topical imiquimod versus topical fluorouracil for treatment of superficial basal-cell carcinoma: a single blind, non-inferiority, randomized controlled trial. *Lancet Oncol* 2013;7:647-54.
- 221- Ramsay JR, Suhrbier A, Aylward JH, Ogbourne S, Cozzi SJ, Poulsen MG, et al. The sap from *Euphorbia peplus* is effective against human nonmelanoma skin cancers. *Br J Dermatol* 2011;164:633-6.
- 222- Anderson L, Schmieder GJ, Werschler WP, Tschen EH, Ling MR, Stough DB, et al. Randomized, double-blind, double-dummy, vehicle-controlled study of ingenol mebutate gel 0.025% and 0.05% for actinic keratosis. *J Am Acad Dermatol* 2009; 60: 934-43.
- 223- Siller G, Rosen R, Freeman M, Welburn P, Katsamas J, Ogbourne SM. PEP005 (ingenol mebutate) gel for the topical treatment of superficial basal cell carcinoma: results of a randomized phase IIa trial. *Australas J Dermatol* 2010; 51: 99-105.
- 224- Gilaberte Y, Serra-Guillén C, de las Heras ME, Ruiz-Rodríguez R, Fernández-Lorente M, Benvenuto-Andrade C, et al. Photodynamic therapy in dermatology. *Actas Dermosifiliogr*. 2006;97:83-102.
- 225- Peng Q, Warloe T, Berg K, Moan J, Kongshaug M, Giercksky KE, et al. 5-Aminolevulinic acid-based photodynamic therapy. Clinical research and future challenges. *Cancer*. 1997;79:2282-308.
- 226- Hsieh YJ, Yu JS, Lyu PC. Characterization of photodynamic therapy responses elicited in A431 cells containing intracellular organelle-localized photofrin. *J Cell Biochem*. 2010;111:821-33.
- 227- Stapleton M, Rhodes LE. Photosensitizers for photodynamic therapy of cutaneous disease. *J Dermatolog Treat*. 2003;14:107-12.
- 228- Gardner LC, Cox TM. Biosynthesis of heme in immature erythroid cells. The regulatory step for heme formation in the human erythron. *J Biol Chem*. 1988;263:6676-82.
- 229- Morton CA, Brown SB, Collins S, Ibbotson S, Jenkinson H, Kurwa H, et al. Guidelines for topical photodynamic therapy: report of a workshop of the British Photodermatology Group. *Br J Dermatol*. 2002 ;146:552-67.

- 230- Kalka K, Merk H, Mukhtar H Photodynamic therapy in dermatology. *J Am Acad Dermatol*. 2000;42:389-413.
- 231- Pass HI. Photodynamic therapy in oncology: mechanisms and clinical use. *J Natl Cancer Inst*. 1993;85:443-56.
- 232- C. Serra-Guillén, E. Nagore y C. Guillén. Terapia fotodinámica versus imiquimod. *Actas Dermosifiliogr*. 2012;103:488-501.
- 233- Basset-Seguín N, Ibbotson SH, Emtestam L, Tarstedt M, Morton C, Maroti M, et al. Topical methyl aminolaevulinate photodynamic therapy versus cryotherapy for superficial basal cell carcinoma: a 5 year randomized trial. *Eur J Dermatol* 2008; 18: 547-553.
- 234- Vinciullo C, Elliott T, Francis D, Gebauer K, Spelman L, Nguyen R, et al. Photodynamic therapy with topical methyl aminolaevulinate for 'difficult-to-treat' basal cell carcinoma. *Br J Dermatol*. 2005;152:765-72.
- 235- Horn M, Wolf P, Wulf HC, Warloe T, Fritsch C, Rhodes LE, et al. Topical methyl aminolaevulinate photodynamic therapy in patients with basal cell carcinoma prone to complications and poor cosmetic outcome with conventional treatment. *Br J Dermatol*. 2003;149:1242-9.
- 236- Christensen E, Skogvoll E, Viset T, Warloe T, Sundstrom S. Photodynamic therapy with 5-aminolaevulinic acid, dimethylsulfoxide and curettage in basal cell carcinoma: a 6-year clinical and histological follow-up. *JEAD* 2009;23:58-66.
- 237- Wang I, Bendsoe N, Klinteberg CA, Enejder AM, Andersson-Engels S, Svanberg S, et al. Photodynamic therapy vs cryosurgery of basal cell carcinomas: results of a phase III clinical trial. *Br J Dermatol*. 2001;144:832-40.
- 238- Szeimies RM, Ibbotson S, Murrell DF, Rubel D, Frambach Y, de Berker D et al. A clinical study comparing methyl aminolevulinate photodynamic therapy and surgery in small superficial basal cell carcinoma (8-20 mm), with a 12-month follow-up; Excilight Study Group. *JEAD* 2008;22:1302-11.
- 239- Morton CA, Szeimies RM, Sidoroff A, Braathen LR. European guidelines for topical photodynamic therapy part 1: treatment delivery and current indications actinic keratoses, Bowen's disease, basal cell carcinoma. *JEAD* 2013;27:536-44
- 240- Kuflik EG. Cryosurgery for skin cancer: 30-year experience and cure rates. *Dermatol Surg* 2004; 30 (2 Pt 2): 297-300.
- 241- Hall VL, Leppard BJ, McGill J, Kessler ME, White JE, Goodwin P. Treatment of basal-cell carcinoma: comparison of radiotherapy and cryotherapy. *Clin Radiol* 1986; 37: 33-4.
- 242- Jaramillo-Ayerbe F. Cryosurgery in difficult to treat basal cell carcinoma. *Int J Dermatol* 2000; 39: 223-9.
- 243- Tuppurainen K. Graefes. Cryotherapy for eyelid and periocular basal cell carcinomas: outcome in 166 cases over an 8-year period. *Arch Clin Exp Ophthalmol* 1995; 233: 205-8.
- 244- Nouri K, Chang A, Trent JT, Jiménez GP. Ultrapulse CO2 used for the successful treatment of basal cell carcinomas found in patients with basal cell nevus syndrome. *Dermatol Surg* 2002; 28: 287-90.
- 245- Suhge d'Aubermont PC, Bennett RG. Failure of curettage and electrodesiccation for removal of basal cell carcinoma. *Arch Dermatol* 1984; 120:1456-60.
- 246- Chren M-M, Torres JS, Stuart SE, Bertenthal D, Labrador RJ, Boscardin WJ. Recurrence after treatment of nonmelanoma skin cancer: a prospective cohort study. *Arch Dermatol* 2011;147:540-6.
- 247- Gulleth Y, Goldberg N, Silverman RP, Gastman BR. What is the best surgical margin for a Basal cell carcinoma: a meta-analysis of the literature. *Plast Reconstr Surg* 2010;126:1222-31.
- 248- Abide JM, Nahai F, Bennett RG. The meaning of surgical margins. *Plast Reconstr Surg* 1984;73:492-7.
- 249- Silverman MK, Kopf AW, Bart RS, Grin CM, Levenstein MS. Recurrence rates of treated basal cell carcinomas. Part 3: Surgical excision. *J Dermatol Surg Oncol* 1992; 18: 471-6.
- 250- Mosterd K, Krekels GAM, Nieman FH. Surgical excision versus Mohs' micrographic surgery for primary and recurrent basal cell carcinoma of the face: a prospective randomised controlled trial with 5-years' follow-up. *Lancet Oncol* 2008;9:1149-56.
- 251- Swanson NA. Mohs' surgery. Technique, indications, applications, and the future. *Arch Dermatol* 1983;119:761-73.
- 252- Suzanne M. Connolly, MD (Chair), Diane R. Baker, MD, Brett M. Coldiron, MD, Michael J. Fazio, MD, Paul A. Storrs, MD, Allison T. Vidimos, RPh, MD. AAD/ACMS/ASDSA/ASMS 2012 appropriate use criteria for Mohs micrographic surgery: A report of the American Academy of Dermatology, American College of Mohs Surgery, American Society for Dermatologic Surgery Association, and the American Society for Mohs Surgery. *JAAD* 2012;67:531-50
- 253- Leibovitch I, Huilgol SC, Selva D, Richards S, Paver R. Basal cell carcinoma treated with Mohs surgery in Australia I. Experience over 10 years. *JAAD* 2005;53:445-51.
- 254- Smeets NWJ, Kuijpers DIM, Nelemans P. Mohs' micrographic surgery for treatment of basal cell carcinoma of the face—results of a retrospective study and review of the literature. *Br J Dermatol* 2004;151:141-7.

- 255- Paoli J, Daryoni S, Wennberg AM. 5-year recurrence rates of Mohs micrographic surgery for aggressive and recurrent facial basal cell carcinoma. *Acta Derm Venereol* 2011; 91: 689-93.
- 256- Mohs F, Larson P, Iriondo M. Micrographic surgery for the microscopically controlled excision of carcinoma of the external ear. *J Am Acad Dermatol* 1988;19:729-37.
- 257- Mohs FE. Micrographic surgery for the microscopically controlled excision of eyelid cancers. *Arch Ophthalmol* 1986; 104: 901-9.
- 258- Malhotra R, Huilgol SC, Huynh NT, Selva D. The Australian Mohs database, part II: periocular basal cell carcinoma outcome at 5-year follow-up. *Ophthalmology* 2004; 111: 631-6.
- 259- Blázquez-Sánchez N, de Troya-Martín M, Frieyro-EliceGUI M, Fúnez-LiéBana R, Martín-Márquez L, Rivas-Ruiz F. [Cost analysis of Mohs micrographic surgery in high-risk facial basal cell carcinoma]. *Actas Dermosifiliogr* 2010;101: 622-8.
- 260- Català A, Garces JR, Alegre M, Gich IJ, Puig L. Mohs micrographic surgery for basal cell carcinomas: results of a Spanish retrospective study and Kaplan-Meier survival analysis of tumour recurrence. *JEAD* 2014;28:1363-9.
- 261- Nagore E, Grau C, Molinero J, Fortea JM. Positive margins in basal cell carcinoma: relationship to clinical features and recurrence risk. A retrospective study of 248 patients. *JEAD* 2003;17:167-70.
- 262- Bieleley HC, Kirsner RS, Reyes BA, Garland LD. The use of Mohs micrographic surgery for determination of residual tumor in incompletely excised basal cell carcinoma *J Am Acad Dermatol* 1992; 26 (5 Pt 1): 754-6.
- 263- A. Marín, E. Vargas-Díez y L. Cerezo. Radioterapia en Dermatología. *Actas Dermosifiliogr*. 2009;100:166-81
- 264- Cooper JS. Radiation therapy for cancers of the skin. *Dermatol Clin* 1991; 9: 683-7.
- 265- Zagrodnik B, Kempf W, Seifert B. Superficial radiotherapy for patients with basal cell carcinoma: recurrence rates, histologic subtypes, and expression of p53 and Bcl-2. *Cancer* 2003; 98: 2708-14.
- 266- Avril MF, Auperin A, Margulis A. Basal cell carcinoma of the face: surgery or radiotherapy? Results of a randomized study. *Br J Cancer* 1997;76:100-6.
- 267- Peris K, Licitra L, Ascierio PA, Corvò R, Simonacci M, Picciotto F, et al. Identifying locally advanced basal cell carcinoma eligible for treatment with vismodegib: an expert panel consensus. *Future Oncol*. 2015;11:703-12.
- 268- Woods RL, Stewart JF. Metastatic basal cell carcinoma: report of a case responding to chemotherapy. *Postgrad Med J* 1980;56:272-3.
- 269- Salem P, Hall SW, Benjamin RS, Murphy WK, Wharton JT, Bodey GP. Clinical phase I-II study of cis-dichloro-diammineplatinum (II) given by continuous iv infusion. *Cancer Treat Rep* 1978;62:1553-5.
- 270- Wieman TJ, Shively EH, Woodcock TM. Responsiveness of metastatic basal-cell carcinoma to chemotherapy. A case report. *Cancer* 1983;52:1583-5.
- 271- Guthrie Jr TH, McElveen LJ, Porubsky ES, Harmon JD. Cisplatin and doxorubicin. An effective chemotherapy combination in the treatment of advanced basal cell and squamous carcinoma of the skin. *Cancer* 1985;55:1629-32.
- 272- Guthrie Jr TH, Porubsky ES, Luxenberg MN, Shah KJ, Wurtz KL, Watson PR. Cisplatin-based chemotherapy in advanced basal and squamous cell carcinomas of the skin: results in 28 patients including 13 patients receiving multimodality therapy. *J Clin Oncol* 1990;8:342-6.
- 273- Moeholt K, Aagaard H, Pfeiffer P, Hansen O. Platinum-based cytotoxic therapy in basal cell carcinoma—a review of the literature. *Acta Oncol* 1996;35:677-82.
- 274- Gaitanis G, Bassukas I. Intralesional bevacizumab as in-add adjuvant to immunocryosurgery for locally advanced basal cell carcinoma. *JEAD* 2014;28:1117-21.
- 275- Cirrone F, Harris C. vismodegib and the Hedgehog pathway: a new treatment for basal cell carcinoma. *Clin Ther*. 2012;34:2039-50.
- 276- Gould SE, Low JA, Marsters JC Jr, Robarge K, Rubin LL, de Sauvage FJ et al. Discovery and preclinical development of vismodegib. *Expert Opin Drug Discov*. 2014;9:969-84.
- 277- Meiss F, Zeiser R. vismodegib. *Recent Results Cancer Res*. 2014;201:405-17.
- 278- LoRusso PM, Rudin CM, Reddy JC. Phase I trial of Hedgehog pathway inhibitor vismodegib (GDC-0449) in patients with refractory, locally advanced or metastatic solid tumors. *Clin Cancer Res* 2011;17:2502-11.
- 279- Von Hoff D, LoRusso P, Rudin Ch, Reddy J, Yauch R, Tibes R, et al. Inhibition of the Hedgehog pathway in advanced basal cell carcinoma. *N Engl J Med* 2009;361:1164-72.
- 280- E.A. Eisenhauera , P. Therasseb , J. Bogaertsc , L.H. Schwartzd , D. Sargente , R. Fordf , et al. New response evaluation criteria in solid tumours: Revised RECIST guidelines. *Eur J Cancer*. 2009 ;45:228-47

- 281- Sekulic A, Migden MR, Dirix AE, Lewis KD, Hainsworth JD, Hauschild A. Efficacy and safety of vismodegib in advanced basal cell carcinoma. *N Engl J Med* 2012;366:2171-9.
- 282- Sekulic A, Migden MR, Lewis K, Hainsworth JD, Solomon JA, Yoo S. Pivotal ERIVANCE basal cell carcinoma (BCC) study: 12-month update of efficacy and safety of vismodegib in advanced BCC. *J Am Acad Dermatol*. 2015 ;72:1021-6.
- 283- Sekulic A, Migden MR, Basset-Seguín N, Garbe C, Gesierich A, Lao C et al. Long-term safety and efficacy of vismodegib in patients with advanced basal cell carcinoma: Final update (30-month) of the pivotal ERIVANCE BCC study. Abstract. 2014 ASCO Annual Meeting.
- 284- Tang JY, Mackay-Wiggan J, Aszterbaum M, Yauch RL, Lindgren J, Chang K et al. Inhibiting the hedgehog pathway in patients with the basal cell nevus syndrome. *N Engl J Med* 2012;366:2180-8.
- 285- Chang ALS, Solomon JA, Hainsworth JD, Goldberg L, McKenna E, Day B-m, et al. Expanded access study of patients with advanced basal cell carcinoma treated with the Hedgehog pathway inhibitor, vismodegib. *Journal of the American Academy of Dermatology* 2014;70:60-69.
- 286- Basset-Seguín N, Hauschild A, Grob JJ, Kunstfeld R, Dréno B, Mortier L, et al. vismodegib in patients with advanced basal cell carcinoma (STEVIE): a pre-planned interim analysis of an international, open-label trial. *Lancet Oncol*. 2015;16:729-36
- 287- Lewis KD, Sekulic A, Hauschild A, Migden MR, Oro AE, LoRusso P, et al. vismodegib in the treatment of patients with metastatic basal cell carcinoma (mBCC) and distant metastases: Survival in the pivotal phase II and phase I studies. *J Clin Oncol* 32:5s,2014 (suppl; abstr 9012).
- 288- <http://www.ema.europa.eu>. Erivedge.
- 289- Grob JJ, Kunstfeld R, Dreno B, Jouary T, Mortier L, Basset-Seguín N, et al. vismodegib, a Hedgehog pathway inhibitor (HPI), in advanced basal cell carcinoma (aBCC): STEVIE study interim analysis in 300 patients. *J Clin Oncol* 31, 2013 (suppl; abstr 9036).
- 290- Mortier L, Saiag P, Leccia MT, Mahmoudi A, Mirakovska L, Meddour D, et al. A phase II study to assess vismodegib in the neoadjuvant treatment of locally advanced basal cell carcinoma (laBCC): The vismodegib Neoadjuvant (VISMONEO) study. *J Clin Oncol*. 2014; 34:5s (suppl): abstr TPS9104.
- 291- Ally MS, Aasi S, Wysong A, Teng C, Anderson E, Bailey-Healy I, et al. An investigator-initiated open-label clinical trial of vismodegib as a neoadjuvant to surgery for high-risk basal cell carcinoma. *J Am Acad Dermatol*. 2014;71:904-911.
- 292- Alcalay J, Tauber G, Fenig E, Hodak E. vismodegib as a neoadjuvant treatment to Mohs surgery for aggressive basal cell carcinoma. *J Drugs Dermatol*. 2015;14:219-23.
- 293- Kunstfeld R, Hauschild A, Zloty D. MIKIE: A randomized, double-blind, regimen-controlled, phase II, multicenter study to assess the efficacy and safety of two different vismodegib regimens in patients with multiple basal cell carcinomas. *J Clin Oncol*. 2014; 32:5s (suppl): abstr TPS9121.
- 294- Leiter U, Hillen U, Gutzmer R, Haenssle H, Haefner HM, Mohr P, et al. A phase II, single-armed, multicenter trial of neoadjuvant vismodegib in patients with large and/or recurrent basal cell carcinoma: NICCI. *J Clin Oncol*. 2014; 32:5s(-suppl): abstr TPS9116.
- 295- Barakat MT, Humke EW, Scott MP. Learning from Jekyll to control Hyde: hedgehog signaling in development and cancer. *Trends Mol Med*. 2010;16:337-348
- 296- Teglund S, Toftgard R. Hedgehog beyond medulloblastoma and basal cell carcinoma. *Biochim et Biophys Acta*. 2010;1805:181-208.
- 297- Kaye SB, Fehrenbacher L, Holloway R, Amit A, Karlan B, Slomovitz B, et al. A phase II, randomized, placebo-controlled study of vismodegib as maintenance therapy in patients with ovarian cancer in second or third complete remission. *Clin Cancer Res* 2012;18:6509-18.
- 298- Catenacci DVT, Bahary N, Nattam SR. Final analysis of a phase IB/randomized phase II study of gemcitabine (G) plus placebo (P) or vismodegib (V), a hedgehog (Hh) pathway inhibitor, in patients (pts) with metastatic pancreatic cancer (PC): a University of Chicago phase II consortium study. *J Clin Oncol*. 2013;31(suppl): abstr4012.
- 299- Cohen JD, Christos PJ, Kindler HL. vismodegib (V), a hedgehog (Hh) pathway inhibitor, combined with FOLFOX for first-line therapy of patients (pts) with advanced gastric and gastroesophageal junction (GEJ) carcinoma: a New York Cancer Consortium led phase II randomized study. *J Clin Oncol*. 2013;31 (suppl): abstr4011
- 300- LoRusso PM, Piha-Paul SA, Mita M, Colevas AD, Malhi V, Colburn D, et al. Coadministration of vismodegib with rosiglitazone or combined oral contraceptive in patients with locally advanced or metastatic solid tumors: a pharmacokinetic assessment of drug-drug interaction potential. *Cancer chemotherapy and pharmacology* 2013;71:193-202.
- 301- Rudin CM, Hann CL, Lattera J, Yauch RL, Callahan CA, Fu L, et al. Treatment of medulloblastoma with hedgehog pathway inhibitor GDC-0449. *N Engl J Med*. 2009;361:1173-8
- 302- Gajjar AJ, Gururangan S, Qaddoumi IA. A prospective phase II study to determine the efficacy of GDC 0449 (vismodegib) in adults with recurrent medulloblastoma (MB): a Pediatric Brain Tumor Consortium study (PBTC 25B). *J Clin Oncol*. 2013;31(suppl):abstr 2035.

- 303- Robinson GW, Orr BA, Wu G, Gururangan S, Lin T, Qaddoumi I. vismodegib Exerts Targeted Efficacy Against Recurrent Sonic Hedgehog-Subgroup Medulloblastoma: Results From Phase II Pediatric Brain Tumor Consortium Studies PBTC-025B and PBTC-032. *J Clin Oncol*. 2015 20;33:2646-54.
- 304- Berlin J, Bendell JC, Hart LL, Firdaus I, Gore I, Hermann RC, et al. A randomized phase II trial of vismodegib versus placebo with FOLFOX or FOLFIRI and bevacizumab in patients with previously untreated metastatic colorectal cancer. *Clin Cancer Res* 2013;19:258-67.
- 305- Katagiri S, Tauchi T, Okabe S, Minami Y, Kimura S, Maekawa T, et al. Combination of ponatinib with Hedgehog antagonist vismodegib for therapy-resistant BCR-ABL1-positive leukemia. *Clin Cancer Res*. 2013 15;19:1422-32.
- 306- Lian J, Jang D, Valdevit L, Schaedler TA, Jacobsen AJ, W BC, et al. Catastrophic vs gradual collapse of thin-walled nanocrystalline Ni hollow cylinders as building blocks of microlattice structures. *Nano letters* 2011 12;11:4118-25.
- 307- Yauch RL, Dijkgraaf GL, Alicke B. Smoothed mutation confers resistance to a hedgehog pathway inhibitor in medulloblastoma. *Science* 2009;326:572-4.
- 308- Dijkgraaf GJ, Alicke B, Weinmann L. Small molecule inhibition of GDC-0449 refractory smoothed mutants and downstream mechanisms of drug resistance. *Cancer Res* 2011;71:435-44.
- 309- Chang AL, Oro AE. Initial assessment of tumor regrowth after vismodegib in advanced Basal cell carcinoma. *Arch Dermatol*. 2012;148:1324-5.
- 310- Brinkhuizen T, Reinders MG, van Geel M, Hendriksen AJ, Paulussen AD, Winnepenninckx VJ, et al. Acquired resistance to the Hedgehog pathway inhibitor vismodegib due to smoothed mutations in treatment of locally advanced basal cell carcinoma. *J Am Acad Dermatol*. 2014;71:1005-8.
- 311- Meani RE, Lim SW, Chang AL, Kelly JW. Emergence of chemoresistance in a metastatic basal cell carcinoma patient after complete response to hedgehog pathway inhibitor vismodegib (GDC-0449). *Australas J Dermatol*. 2014;55:218-21.
- 312- Atwood SX, Sarin KY, Whitson RJ, Li JR, Kim G, Rezaee M et al. Smoothed variants explain the majority of drug resistance in basal cell carcinoma. *Cancer Cell* 2015;27:342-53.
- 313- Sharpe HJ, Pau G, Dijkgraaf GJ, Basset-Seguín N, Modrusan Z, Januario T et al. Genomic analysis of smoothed inhibitor resistance in basal cell carcinoma. *Cancer Cell* 2015;27:327-41.
- 314- Göppner D1, Leverkus M. Basal cell carcinoma: from the molecular understanding of the pathogenesis to targeted therapy of progressive disease. *J Skin Cancer*. 2011;2011:650258. doi: 10.1155/2011/650258. Epub 2010 Dec 29.
- 315- Strasswimmer J1, Latimer B2, Ory S3. Amenorrhea secondary to a vismodegib-induced blockade of follicle-stimulating hormone-receptor activation. *Fertil Steril*. 2014 ;102:555-7.
- 316- Aasi S, Silkiss R, Tang JY, Wysong A, Liu A, Epstein E et al. New onset of keratoacanthomas after vismodegib treatment for locally advanced basal cell carcinomas: a report of 2 cases. *JAMA Dermatol*. 2013;149:242-3.
- 317- Richey JD, Graham TA, Katona T, Travers JB. Development of trichodysplasia spinulosa: case report of a patient with Gorlin syndrome treated with vismodegib. *JAMA Dermatol*. 2014;150:1016-8.
- 318- Paladini RD, Saleh J, Qian C, Xu GX, Rubin LL. Modulation of hair growth with small molecule agonists of the hedgehog signaling pathway. *J Invest Dermatol* 2005;125:638-46.
- 319- Schneider FT, Schanzer A, Czupalla CJ, Thom S, Engels K, Schmidt MH, et al. Sonic hedgehog acts as a negative regulator of {beta}-catenin signaling in the adult tongue epithelium. *Am J Pathol* 2010;177:404-14.
- 320- Teperino R, Amann S, Bayer M, McGee SL, Loipetzberger A, Connor T, et al. Hedgehog partial agonism drives Warburg-like metabolism in muscle and brown fat. *Cell* 2012;151:414-26.
- 321- Orouji A1, Goerdts S, Utikal J, Leverkus M. Multiple highly and moderately differentiated squamous cell carcinomas of the skin during vismodegib treatment of inoperable basal cell carcinoma. *Br J Dermatol*. 2014;171:431-3.
- 322- Poulalhon N, Dalle S, Balme B, Thomas L. Fast-growing cutaneous squamous cell carcinoma in a patient treated with vismodegib. *Dermatology*. 2015;230:101-4.
- 323- Wakabayashi Y1, Mao JH, Brown K, Girardi M, Balmain A. Promotion of Hras-induced squamous carcinomas by a polymorphic variant of the Patched gene in FVB mice. *Nature*. 200715;445:761-5.
- 324- Im S, Choi HJ, Yoo C, Jung JH, Jeon YW, Suh YJ, et al. Hedgehog related protein expression in breast cancer: Gli-2 is associated with poor overall survival. *Korean J Pathol*. 2013;47:116-23.
- 325- Ransohoff KJ, Tang J, Sarin K. Squamous change in basal cell carcinoma with drug resistance. *N Engl J Med* 2015;373:1079-1081
- 326- Maier T, Kulichova D, Ruzicka T, Berking C. Noninvasive monitoring of basal cell carcinomas treated with systemic hedgehog inhibitors: pseudocysts as a sign of tumor regression. *J Am Acad Dermatol*. 2014;71:725-30.

- 327- Migden MR, Guminski A, Gutzmer R, Dirix L, Lewis KD, Combemale P, et al. Treatment with two different doses of sonidegib in patients with locally advanced or metastatic basal cell carcinoma (BOLT): a multicentre, randomised, double-blind phase 2 trial. *Lancet Oncol.* 2015;16:716-28.
- 328- Burness CB. sonidegib: First Global Approval. *Drugs.* 2015;75:1559-66.
- 329- Lauth M. Inhibition of BLI-mediated transcription and tumor cell growth by small-molecule antagonists. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2007, 104, 8455-8460.
- 330- Beauchamp EM, Ringer L, Bulut G, Sajwan KP, Hall MD, Lee YC, et al. Arsenic trioxide inhibits human cancer cell growth and tumor development in mice by blocking Hedgehog/Gli pathway. *J Clin Invest.* 2011;121:148-60.
- 331- Li B, Fei DL, Flaveny CA, Dahmane N, Baubet V, Wang Z, et al. pyrvinium attenuates Hedgehog signaling downstream of smoothened. *Cancer Res.* 2014 1;74:4811-21.
- 332- Infante P, Mori M, Alfonsi R, Ghirga F, Aiello F, Toscano S, et al. Gli1/DNA interaction is a druggable target for Hedgehog-dependent tumors. *EMBO J.* 2015;34:200-17.
- 333- Maier M, Gessler M. Comparative analysis of the human and mouse Hey1 promoter: Hey genes are new Notch target genes. *Biochem Biophys Res Commun.* 2000 28;275:652-60.
- 334- Andersson ER, Sandberg R, Lendaahl U. Notch signaling: simplicity in design, versatility in function. *Development* 2011;138:3593-612.
- 335- Wang Z, Li Y, Kong D, Sarkar FH. The role of Notch signaling pathway in epithelial-mesenchymal transition (EMT) during development and tumor aggressiveness. *Curr Drug Targets.* 2010;11:745-51.
- 336- Bertrand F, Angus W, Partis W, Sigounas G. Developmental pathways in colon cancer. Crosstalk between WNT, BMP, Hedgehog and Notch. *Cell Cycle* 2012, 11;23:4344-4351.
- 337- Gulino A, Di Marcotullio L, Screpanti I. The multiple functions of Numb. *Exp Cell Res.* 2010;316:900-6.
- 338- Wu X, Liu X, Koul S, Lee CY, Zhang Z, Halmos B. AXL kinase as a novel target for cancer therapy. *Oncotarget.* 2014;5:9546-63.
- 339- Schwend T, Ahlgren SC. Zebrafish con/displ1 reveals multiple spatiotemporal requirements for Hedgehog-signaling in craniofacial development. *BMC Dev Biol.* 2009;30;9:59.
- 340- Matthews GM, Newbold A, Johnstone RW. Intrinsic and extrinsic apoptotic pathway signaling as determinants of histone deacetylase inhibitor antitumor activity. *Adv Cancer Res.* 2012;116:165-97.
- 341- Justilien V, Walsh MP, Ali SA, Thompson EA, Murray NR, Fields AP. The PRKCI and SOX2 oncogenes are coamplified and cooperate to activate Hedgehog signaling in lung squamous cell carcinoma. *Cancer Cell* 2014;25:139-151.
- 342- Rosell R1, Bivona TG, Karachaliou N. Genetics and biomarkers in personalisation of lung cancer treatment. *Lancet.* 2013 24;382:720-31

