



**FACULTAD DE FARMACIA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE**

TRABAJO FIN DE GRADO

**Estado actual de fármacos que actúan sobre
proteín-tirosina quinasas (PTKs) y sus aplicaciones
terapéuticas**

Autor: Isabel Lara Plaza

Tutor: Francisca Gómez Oliver

Convocatoria: Junio 2018

ÍNDICE

ÍNDICE.....	2
1. RESUMEN	3
2. INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES.....	3
3. OBJETIVOS	7
4. METODOLOGÍA	7
5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	8
5.1 CÁNCER.....	8
5.1.1 Leucemia mieloide crónica.....	9
5.1.2 Cáncer de mama.....	11
5.1.3 Cáncer colorrectal metastásico	13
5.1.4 Cáncer de estroma gastrointestinal.....	13
5.1.5 Cáncer de pulmón	13
5.2 INFLAMACIÓN Y AUTOINMUNES	14
5.3 DIABETES	15
5.4 OTROS USOS	16
5.5 TOXICIDAD	17
5.6 RESISTENCIAS	17
6. CONCLUSIONES	18
7. BIBLIOGRAFÍA.....	19

1. RESUMEN

Las protein-tirosina quinasas (PTKs) son enzimas que fosforilan tirosinas en proteínas implicadas en la regulación de vías de señalización intracelular esenciales en procesos biológicos como el crecimiento, la diferenciación, la apoptosis y el metabolismo. Son componentes convergentes de múltiples y variadas rutas, por lo que, su desregulación se relaciona con la etiología y progresión de numerosos procesos patológicos, principalmente oncogénesis, aunque también con enfermedades inflamatorias, autoinmunes y metabólicas. Por todo ello, se han convertido en dianas farmacológicas de gran interés y este trabajo se centra en revisar el estado actual de las terapias que implican el uso de fármacos inhibidores de la actividad de las PTKs en las enfermedades anteriormente citadas, en enfermedades infecciosas, como analgésicos o incluso como herramientas en técnicas de diagnóstico. Sin embargo, estos fármacos no están exentos de potencial tóxico, ni son inmunes a fenómenos de resistencia, aspectos que también se tratan en el trabajo, así como las estrategias para enfrentarse a estas limitaciones mediante el desarrollo de nuevas moléculas que actúen sobre las PTKs y/o terapias combinadas para conseguir un aumento de la supervivencia y una mejora de la calidad de vida de pacientes que sufren estas patologías.

Palabras clave: tirosina quinasas, inhibidores de tirosina quinasas, anticuerpos monoclonales, cáncer, aplicaciones terapéuticas.

ABSTRACT

The protein-tyrosine kinases (PTKs) are enzymes that phosphorylate tyrosines contained in proteins involved in the regulation of intracellular signalling pathways which are essential to biological processes such as growth, differentiation, apoptosis and metabolism. Tyrosines are convergent components of multiple and varied routes and, consequently, their dysregulation is related to the aetiology and progression of numerous pathological processes, mainly carcinogenesis, but also to inflammatory, autoimmune and metabolic disease, which has resulted in their becoming pharmacological targets of great interest. This work focuses on reviewing the current state of therapies involving the use of drugs inhibitors of PTK activity in both the aforementioned diseases and infectious diseases, such as analgesics, as well as tools in diagnostic techniques. Furthermore, since these drugs are neither exempt from toxic potential nor immune to resistance, these aspects are also analysed herein, as well as strategies that can be used to face their limitations through the development of new molecules that act on PTKs and/or the use of combined therapies to achieve an increase in survival and an improvement in the quality of life of patients suffering from these pathologies.

Key words: Tyrosine kinases, Tyrosine kinase inhibitors, monoclonal antibodies, cancer, therapeutic applications.

2. INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES

Las protein-quinasas son enzimas que transfieren un grupo fosfato proveniente de ATP a residuos aminoácidos de tirosina, serina o treonina en las proteínas. La reacción inversa (eliminación del grupo fosfato de la proteína) es catalizada por otras enzimas denominadas fosfatasas. Ambos procesos modulan numerosas actividades celulares, actuando especialmente en cascadas de señalización intracelular.

Se conocen aproximadamente 538 quinasas codificadas en el genoma humano, que actúan como mediadores en múltiples vías de señalización que son esenciales en procesos biológicos como crecimiento, diferenciación, metabolismo y apoptosis en respuesta a estímulos tanto internos como externos. (1)

Dentro del enorme grupo de protein-quinasas, nos centraremos en aquellas que fosforilan residuos de tirosina, denominadas protein-tirosina quinasas¹ (del inglés PTKs o *protein-tyrosine kinases*). Se conocen un total de 90 enzimas con estas características (2) y las podemos dividir en dos grandes grupos: las PTKs citosólicas o no receptoras (nRTKs: *non-receptor tyrosine kinases*) y las PTKs receptoras (RTKs: *receptor tyrosine kinases*).

Los **nRTKs** son proteínas citoplasmáticas intracelulares que transmiten señales y a menudo interactúan con los RTKs. Los nRTKs realizan la transducción de señales principalmente a través de receptores de citoquinas, de receptores de linfocitos T y B o receptores de inmunoglobulinas, entre otros. (3)

Los nRTKs poseen un amplio rol en la señalización celular regulando funciones fundamentales tales como la diferenciación celular, la apoptosis, la supervivencia y la proliferación. Su actividad catalítica está estrictamente regulada (4), y cualquier desregulación y/o sobreexpresión estará vinculada con procesos carcinogénicos y transformaciones malignas(3). La investigación sobre los nRTKs ha arrojado luz sobre una gran parte de los mecanismos implicados en el cáncer, y no sorprende que una cuarta parte de todos los esfuerzos actuales de investigación y descubrimiento de fármacos vayan dirigidos a estas dianas moleculares. (1)

Los nRTKs están categorizados en 9 subfamilias: Abl, FES, JAK, ACK, SYK, TEC, FAK, Src, y CSK. (2). Estas subfamilias comparten secuencias similares. El dominio SH2 N-terminal

¹ En castellano, se pueden encontrar múltiples términos similares a protein-tirosina quinasas que solo varían en la ortografía, tales como proteína tirosincinasas, protein-tirosin cinasas, proteína tirosín- kinasas...entre muchos otros. En esta revisión bibliográfica siempre se usará la denominación de "protein-tirosina quinasas" con las siglas del inglés "PTKs".

seguido del dominio quinasa está muy conservado en la mayoría de los miembros de esta familia. (5)

Por otro lado, encontramos los **RTKs**, proteínas transmembrana que poseen un dominio extracelular (N-terminal) de unión al ligando y un dominio quinasa intracelular que selectivamente se une y fosforila el sustrato, por lo que es el responsable de la actividad catalítica. Estos receptores son activados por la unión al ligando, que produce la dimerización del receptor. Como consecuencia de esta dimerización, el dominio catalítico intracelular del receptor activado se autofosforila en residuos de tirosina (Figura 1) (6). Estos residuos de tirosina forman sitios de unión para proteínas que contienen dominios SH2 (nRTKs), y las proteínas implicadas, transmiten la señal hacia el interior celular. La cascada de sucesos de fosforilación resulta en amplificación y transmisión intracelular de la señal (7).

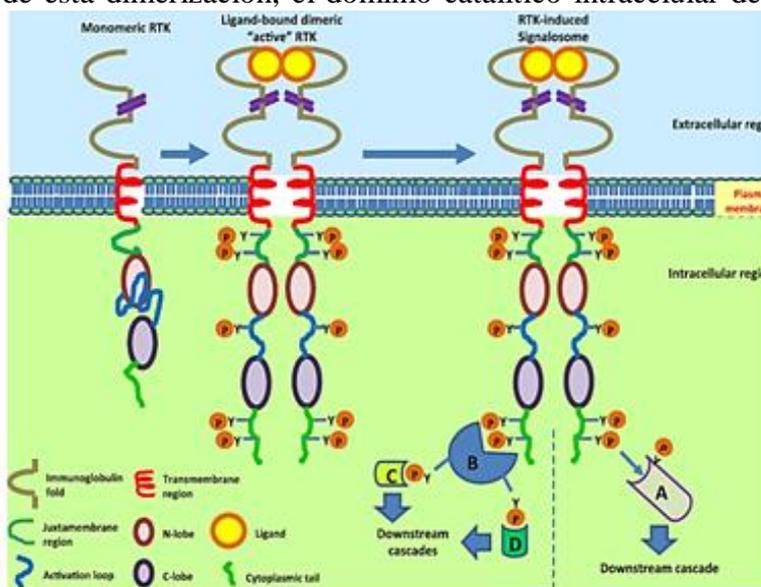


Figura 1. Estructura del prototipo de RTK y mecanismo de activación (Butti et al. 2018)

La información se transmite a través de algunas vías, entre las que destacan PI3K/AKT/mTOR; RAS/RAF/MEK/ERK; y PLC γ /PKC, entre otras. (8)

Los RTKs poseen una amplia variedad de sustratos, como factores de crecimiento, hormonas, citoquinas, factores neurotróficos, etc. Por ello, las rutas de transducción de señales juegan un papel crucial en la regulación de procesos fundamentales de proliferación, diferenciación, supervivencia, migración celular y angiogénesis. La perturbación de la actividad de estos receptores resulta en una transmisión de señal anormal.

La familia de los RTKs incluye 20 subfamilias, denominadas **PDGFR** o receptor del factor de crecimiento de plaquetas (*platelet-derived growth factor receptors*); **VEGFR** o receptor del crecimiento vascular endotelial (*vascular endothelial growth factor receptors*); **FGFR** o receptor del factor de crecimiento fibroblástico (*fibroblast growth factor receptor*), **InsR** o receptor de insulina; **ErbB** (que incluye EGFR o receptor del factor de crecimiento epidérmico: *epidermal growth factor receptor*); **PTK7**; **TrK**; **ROR**; **MuSK**; **MET**, **Axl**; **Tie**; **Eph**; **Ret**; **DDR**; **Ros**; **Ryk**; **ALK**; **STYK1** y **LMR**. (9).

Recientes estudios que versan sobre los mecanismos moleculares en procesos oncogénicos afirman que las PTK en general (tanto receptoras como citoplasmáticas), poseen un papel crucial en el carcinogénesis y metástasis de varios tipos de cáncer dado que promueven la proliferación celular, supervivencia y migración (1). En los últimos 30 años, se han identificado múltiples tumores asociados a la modulación y disfunción de quinasas y fosfatasas. Además de los problemas oncológicos, la desregulación de estas enzimas puede estar implicada en otros procesos tanto inmunológicos, como neurológicos o infecciosos.

Esta desregulación de la actividad PTK puede ocurrir por diversos mecanismos como la reordenación genética que genera una proteína híbrida, alguna mutación, la expresión aumentada o aberrante de la PTK, o la activación de oncogenes o pérdida de genes supresores. (7)

Por todo lo anterior, se puede deducir que el kinoma, o conjunto completo de PTK codificadas por el genoma humano, se ha convertido en un objetivo atractivo con múltiples posibilidades de uso terapéutico, especialmente en cáncer, pero también en otras aplicaciones como enfermedades autoinmunes, inflamatorias, diabetes o incluso malaria, entre otras.

Existen dos grandes grupos de fármacos que actúan en estas dianas. Por un lado, están los inhibidores de tirosin-quinasas (TKIs o *tyrosine kinase inhibitors*), que tanto simples como en terapia múltiple son de lo más actual en el ámbito de la farmacología. Por otro lado, encontramos los anticuerpos monoclonales (mab o *monoclonal antibodies*) que se unen al dominio extracelular de RTK y bloquean la unión del ligando natural, evitando así la reorganización conformacional esencial para la activación de la PTK y su señalización celular.

El desarrollo de TKIs para el tratamiento de cánceres humanos empezó a mediados de la década de 1970. El primer inhibidor fue aprobado por la FDA² en el 2001, y se denominó imatinib, un derivado de fenil-amino-pirimidina dirigido a la conformación inactiva de la quinasa ABL1 para el tratamiento de leucemia mieloide crónica. A partir de ese momento, se empezaron a desarrollar TKIs tanto simples como como dirigidos a dianas múltiples para el tratamiento del cáncer (1). En la tabla 1 se detallan los años en los que se han ido aprobando los diferentes TKIs.

² FDA: Food and Drug Administration

Los mecanismos antitumorales de los TKIs son múltiples: inhiben la reparación de células tumorales, bloquean la fase G1 de división celular induciendo y manteniendo la apoptosis, anti-angiogénesis, etc... (10). Así, los TKIs se consideran como una herramienta prometedora de innovación terapéutica basada en el genoma. Sin embargo, aunque representan un gran avance en el tratamiento oncológico, aun han de superar algunos desafíos, en especial las resistencias adquiridas que contribuyen a que, en algunos casos, el progreso de la enfermedad sea aún inevitable.

Tabla 1. Inhibidores de tirosin-quinasa (TKIs) aprobados por la FDA					
2003	2004	2005	2006	2007	2009
Imatinib (2001)	Erlotinib	Sorafenib	Sunitinib	Lapatinib	Temsirolimus
Gefitinib				Dasatinib	Everolimus
					Nilotinib
2011	2012	2013	2014	2015	2017
Vemurafenib	Axitinib	Afatinib	Ceritinib	Lenvatinib	Brigatinib
Vandetanib	Regorafenib	Dabrafenib	Idelalisib	Osimertinib	Alectinib
Ruxolitinib	Pazopanib	Trametinib	Nintedanib	Palbociclib	Ribociclib
Crizotinib	Tofacitinib	Ibrutinib	Alectinib		Midostaurin
	Cabozantinib				Osimertinib
	Bosutinib				
	Ponatinib				

3. OBJETIVOS

El objetivo de este trabajo ha sido llevar a cabo una revisión bibliográfica de artículos científicos que, publicados en los últimos 15 años describan el estado actual del desarrollo y uso de fármacos que actúan inhibiendo la actividad de las enzimas tirosin-quinasa, implicadas en la puesta en marcha y regulación de múltiples procesos fisiopatológicos, principalmente en oncogénesis. Asimismo, se ha indicado la extensa utilidad terapéutica de estos fármacos en el tratamiento de otras enfermedades de naturaleza inflamatoria, autoinmune, metabólica (diabetes), infecciosa (malaria) e incluso en analgesia y en técnicas de diagnóstico. Por supuesto, se han tratado también los aspectos limitantes relacionados con el uso de estos fármacos tales como su toxicidad y la aparición de mecanismos de resistencia adquirida.

4. METODOLOGÍA

Se ha llevado a cabo una revisión bibliográfica de artículos científicos publicados en los últimos 15 años. Se emplearon las siguientes bases de datos MEDLINE (PubMed), Science Direct, Google Scholar y Cochrane y, las palabras clave de búsqueda fueron: *tyrosine kinase inhibitors, non-receptor protein tyrosine kinase, kinome, RTKs, nRTKs*. Se restringió la búsqueda a los últimos 15 años, y se excluyeron aquellos artículos que no estuvieran escritos

en inglés o español. También se consultaron libros científicos obtenidos de los fondos de la biblioteca de la Facultad de Farmacia, así como documentos procedentes de BUCea, herramienta de la Biblioteca Complutense y se consultaron archivos publicados en revistas científicas como *Molecular Cancer* o *Science*. Se revisaron un total de 71 artículos científicos, filtrados únicamente por el idioma (inglés o español) y el título. De esos 71 artículos, se aceptaron finalmente 31 y se rechazaron 40, que no cumplían con los criterios de inclusión.

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1 CÁNCER

El kinoma, o conjunto de genes que codifican proteínas quinasas se ha convertido en una diana atractiva para el tratamiento de diversos tipos de cáncer. Los TKIs, simples y complejos, sintetizados en el laboratorio, así como moléculas procedentes de productos naturales se han convertido en herramientas en la terapia tumoral (1). La inhibición de las PTKs en las vías de señalización es menos citotóxico para las células no cancerosas, por lo que las manifestaciones tóxicas serán considerablemente menores.

La mayoría de los TKIs se dirigen al sitio de unión de ATP de los RTKs, y otros van a sitios alostéricos para inhibir a las nRTKs.

Los TKIs son muy eficaces cuando están dirigidos a mutaciones específicas que generalmente conducen a la carcinogénesis. Se pueden clasificar en cinco grupos según la forma en la que catalizan la transferencia de ATP a los sustratos con residuos de serina, treonina o tirosina.

- **Tipo I:** son competidores del ATP que imitan el anillo de purina del resto adenina del ATP. Interaccionan con el sitio catalítico de las quinasas. Al unirse al sitio conformacional alteran la estructura impidiendo la fosforilación. Algunos ejemplos son bosutinib, crizotinib, dasatinib, erlotinib... A pesar de los grandes éxitos conseguidos, estos TKIs tipo I poseen efectos adversos debido a que se unen poco selectivamente a las quinasas. Pueden dar lugar a cardiotoxicidad y a un posible deterioro de la función cardíaca.
- **Tipo II:** interactúan de forma reversible con el sitio catalítico de la conformación inactiva a través de enlaces de hidrógeno con la proteína y otras interacciones adicionales lipofílicas. Estas interacciones lipofílicas tienen un alto grado de selectividad y aumentan el perfil de seguridad de estos inhibidores respecto a los de tipo I. Algunos ejemplos son imatinib y sorafenib.
- **Tipo III o inhibidores alostéricos:** se unen a un lugar diferente del dominio catalítico y modulan la actividad de la quinasa de forma alostérica. Estos inhibidores poseen mayor

grado de selectividad ya que explotan sitios de unión y mecanismos fisiológicos particulares de determinadas quinasas. Uno de los primeros inhibidores alostéricos fue CI-1040, molécula muy pequeña y oralmente activa inhibidora de la vía MEK1/MEK2.

- **Tipo IV o inhibidores dirigidos al sustrato:** interaccionan reversiblemente fuera del bolsillo de ATP. No compiten con el ATP y ofrecen aún un mayor grado de selectividad.
- **Tipo V o inhibidores covalentes:** forman un enlace covalente e irreversible con el sitio activo de la quinasa con una cisteína nucleófila en una reacción SN2. Ejemplos de este tipo de inhibidores son afatinib e ibrutinib. Estos inhibidores tienen una vida media larga, por lo que se minimizan los efectos secundarios.

Tras sobrepasar algunos obstáculos debido al alto grado de similitud entre los sitios activos y la posible actividad de estos fármacos fuera de su diana, los TKIs son el centro de atención de la comunidad científica. Además, los últimos desarrollos de TKIs incluyen terapias de precisión en base a los datos genómicos del tumor, lo que resulta en beneficios significativos en las terapias oncológicas.

Además de los TKIs, también son importantes los anticuerpos monoclonales para lograr mayores beneficios en la terapia oncológica. En los siguientes apartados, se irán desglosando algunos de los más cánceres más comunes y su terapia con TKIs y anticuerpos monoclonales.

5.1.1 Leucemia mieloide crónica

“La leucemia mieloide crónica (LMC) es una enfermedad mieloproliferativa clonal, que se origina en las células troncales hematopoyéticas y que está caracterizada por la presencia del cromosoma Philadelphia y su producto oncogénico BCR-ABL”(11).

EL cromosoma Philadelphia (Ph) es un cromosoma 22 acortado, que resulta de la translocación recíproca entre los brazos largos de los cromosomas 9 y 22. Esto produce un gen híbrido BCR-ABL, que posteriormente se transcribe a un ARNm quimérico. Se forma una proteína BCR-ABL que presenta una actividad tirosina quinasa aumentada, esencial para la transformación maligna, la cual altera propiedades celulares como la adhesión, la proliferación o la apoptosis.

El primer fármaco con actividad tirosina quinasa fue el imatinib, utilizado en el tratamiento de la LMC. Los TKIs de BCR-ABL son el tratamiento más efectivo para la LMC. Imatinib y los TKIs de 2ª generación nilotinib y dasatinib están disponibles para su uso en cualquier línea de terapia para la LMC. Ponatinib está disponible para pacientes que son resistentes o

intolerantes a nilotinib y dasatinib o aquellos que expresan la mutación del dominio T315I quinasa que confiere resistencia a la mayoría de los TKIs.

Con una selección y adherencia óptima a los TKIs, pocos pacientes con LMC en fase crónica morirán a causa de su leucemia. Por lo tanto, actualmente los esfuerzos se dirigen a la gestión de las comorbilidades y la minimización de la toxicidad provocada por el tratamiento.

Los TKIs de 2ª generación (nilotinib y dasatinib) poseen riesgos cardiovasculares. Se deben conocer y controlar los factores de riesgo cardiovasculares como dislipemia, tabaquismo, diabetes e hipertensión para evitar daños mayores en pacientes bajo tratamiento con TKIs.

Debido a esta toxicidad cardíaca y a que las dosis máximas toleradas son muy bajas (ej. 45 mg para ponatinib) su uso es muy limitado. Los productos naturales son, por tanto, considerados una alternativa a estos fármacos de síntesis.

En 2013, la FDA aprobó 1453 nuevas moléculas químicas, de las que un 40% eran análogas a compuestos naturales. Los metabolitos secundarios presentes tanto en plantas, microorganismos, hongos y otras fuentes poseen diversos efectos biológicos. Solos o en combinación pueden producir apoptosis y quimiosensibilidad en células resistentes a fármacos convencionales. Los bioactivos naturales más estudiados en la actualidad son los polifenoles como el resveratrol, la quercetina, la curcumina o los extractos del té verde. Se ha observado que pueden inhibir tanto a RTKs (como al EGFR) como a nRTKs (SRC, Abl o JAK-2), alterando así múltiples vías de señalización, y ejerciendo, por tanto, efectos positivos en las terapias oncológicas. (1). Aunque varios compuestos naturales han demostrado su eficacia en modelos in vitro e in vivo como TKIs, solo la homoharringtonina (omacetaxina mepesuccinato) ha sido capaz de terminar con éxito los ensayos clínicos y ser aprobada por la FDA. (2)

Algunos de estos compuestos con alto potencial para desarrollarse como TKIs para el tratamiento de la LMC son el ácido gambóico, la triptolida, o la curcumina...

Actualmente, el tratamiento convencional para la LMC en fase crónica son TKIs como imatinib, nilotinib, dasatinib o bosutinib. Si esta terapia deja de ser eficaz, se puede aumentar la dosis o cambiar a otros TKIs, como el ponatinib, utilizado para las resistencias por la mutación T315I como se ha indicado en párrafos anteriores. Si se responde bien al tratamiento, a los tres meses después de haberlo iniciado deberá haber una reducción del número de copias de BCR-ABL en un 90% o más, dato que se obtiene tras la realización de una PCR o reacción en cadena de la polimerasa. El tratamiento con TKIs suele ser indefinido, incluso en pacientes en los que ya no se detecta el gen BCR-ABL, a no ser que los efectos secundarios sean excesivos. En este caso, se debería bajar la dosis de TKI. De todos modos, el 70% de los

pacientes tienen una respuesta citogenética completa al año de haber comenzado el imatinib, y esta tasa es incluso mayor con el uso de los otros TKIs.

5.1.2 Cáncer de mama

El cáncer de mama es una causa importante de morbilidad y mortalidad entre las mujeres de todo el mundo. Consecuencia de la desregulación de diferentes vías de señalización en las células epiteliales mamarias, es una enfermedad multifactorial en la que factores genéticos y epigenéticos pierden la capacidad de regular las vías de señalización celular.

Una amplia variedad de factores de crecimiento y de sus receptores están involucrados en la aparición, desarrollo y metástasis del cáncer. Podemos distinguir distintos subtipos moleculares de cáncer de mama según la presencia o ausencia de receptores de estrógeno (ER), de receptores de progesterona (PR) y del receptor 2 del factor de crecimiento epidérmico (HER2). El **subtipo ER+ y PR+**, representa el 60-85% del total de cánceres, es frecuente en mujeres postmenopáusicas y se trata con terapia hormonal; **el subtipo ER-, PR- y HER2-**, frecuente en mujeres con mutaciones en el gen BRCA1, tiene peor pronóstico, alta tasa de recurrencia y es refractario a la terapia convencional tratándose, entre otras estrategias, con inmunoterapia basada en anticuerpos neutralizantes, induciendo a los linfocitos T citotóxicos (LTc) (12). Por último, el **subtipo HER2+**, representa el 25-30% del total de los cánceres de mama(13). HER2 es un RTK, por lo que, tras la autofosforilación de los residuos de tirosina del dominio intracelular, se inicia una variedad de vías de señalización, principalmente MAPK, PI3K y PKC que resultan en proliferación, supervivencia, angiogénesis, invasión o incluso metástasis. La terapia utilizada son TKIs y anticuerpos monoclonales, por lo que, en este apartado, nos centraremos en este último.

Entre los anticuerpos monoclonales usados en la terapia del cáncer de mama encontramos:

Trastuzumab: anticuerpo monoclonal humanizado de tipo IgG que actúa en el dominio extracelular del receptor HER2 frenando el crecimiento tumoral. Se bloquea la activación de la vía de señalización RAS-MAPK, que promueve la proliferación celular e inhibe la muerte celular a través de la vía PI3K-AKT-mTOR (14). Se usa en combinación con quimioterapia convencional y mejora las tasas de respuesta. Sin embargo, uno de los principales mecanismos de resistencia de trastuzumab es la heterodimerización de HER2 con otras proteínas transmembrana de la familia, en particular HER3. Para superar este mecanismo de resistencia se utilizan nuevas terapias, nuevos TKIs como lapatinib, gefitinib y neratinib.

Pertuzumab: anticuerpo monoclonal humanizado que se une a un diferente epítipo del dominio extracelular del receptor HER2 respecto a trastuzumab (15), evitando de esta manera

la dimerización de HER2 y HER3 y bloqueando la activación de las vías de señalización. El uso de la combinación pertuzumab y trastuzumab permite una regresión tumoral mayor respecto a la monoterapia. Pertuzumab fue aprobado por la FDA en el año 2012 como tratamiento de 1ª línea del cáncer de mama metastásico en combinación con trastuzumab y docetaxel. (16)

Ertumaxomab: nuevo anticuerpo biespecífico formado por un fragmento anti-CD3 y otro anti-HER2. Al unirse tanto a CD3 como a HER2 se forma un complejo triple entre células tumorales, células T y macrófagos o células dendríticas, provocando la activación de células T, la liberación de citoquinas y la fagocitosis de las células tumorales. Ha demostrado su eficacia incluso en pacientes con cáncer de mama con baja expresión de HER2. (17)

Asimismo, se usan los siguientes TKIs:

Lapatinib: inhibe los dominios intracelulares de los receptores EGFR y HER2 y debido a ello, y a diferencia del trastuzumab, puede bloquear la señalización de receptores que han perdido o han mutado sus dominios extracelulares. No presenta resistencia cruzada con trastuzumab y ha sido la 1ª terapia oral aprobada para el tratamiento de cáncer de mama metastásico HER2+. Inhibe la activación de las vías MAPK, PI3K-AKT y PLC, y además, aumenta la expresión de p38 componente de la vía MAPK que inducido por estrés ha sido involucrado en apoptosis. (13).

Gefitinib: inhibidor de EGFR reversible que ha sido aprobado por la FDA para el tratamiento del carcinoma de pulmón avanzado. El receptor EGFR se sobreexpresa en el cáncer de mama, lo que se asocia con metástasis. Al actuar sobre EGFR, no se produce la interacción cruzada EGFR-HER2, lo que resulta en la inactivación de HER2.

Desde la introducción de la terapia dirigida contra HER2, la prognosis del cáncer de mama ha mejorado significativamente. Las terapias basadas en PTKs de membrana y citoplasmáticas han sido exitosas, pero aún existen muchos retos que superar debido al aumento de resistencias adquiridas que se van desarrollando

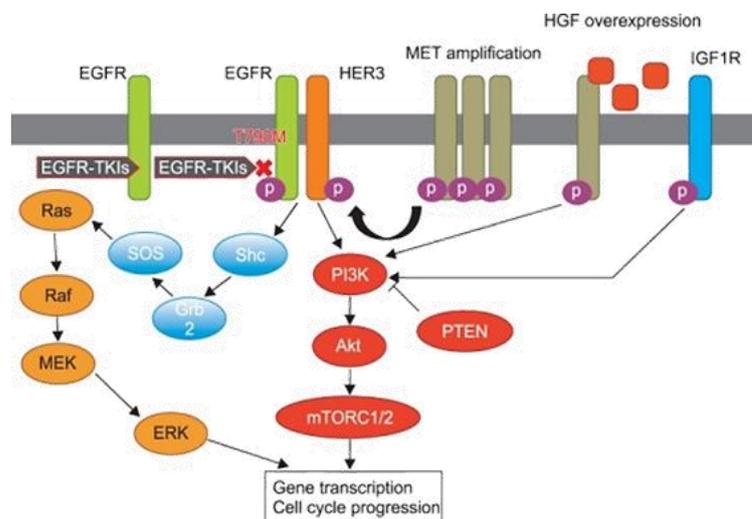


Figura 2. Posible mecanismo de resistencia adquirida frente al tratamiento con EGFR-TIKs (Nakata A and Gotoh N, 2012).

con cada generación de nuevos fármacos (Figura 2)(18). Los esfuerzos no deben cesar en la búsqueda de nuevos fármacos y/o combinaciones que mejoren el pronóstico. (16)

5.1.3 Cáncer colorrectal metastásico

El cáncer de colon o recto que se ha diseminado a otros órganos (cáncer colorrectal metastásico) se trata principalmente mediante quimioterapia y terapia dirigida, entre la que se encuentran tanto los TKIs como los anticuerpos monoclonales.

El EGFR y el VEGFR desempeñan un papel vital en el crecimiento celular, por lo que son dianas del tratamiento de pacientes con este tipo de cáncer. Sin embargo, la combinación simultánea de anticuerpos monoclonales dirigidos a ambas dianas muestra resultados decepcionantes. (19) Actualmente, se utilizan anticuerpos monoclonales contra EGFR tales como cetuximab o panitumab o contra el VEGF como el ramucirumab o bevacizumab, factor clave en la vasculogénesis y la angiogénesis. Además, algunos estudios demuestran que el uso conjunto de bevacizumab y un TKI como el erlotinib tiene actividad favorable antitumoral (20).

5.1.4 Cáncer de estroma gastrointestinal

Los tumores de estroma gastrointestinal pueden surgir a lo largo de todo el tracto digestivo, siendo más común en el estómago (60%) e intestino delgado (30%). La cirugía es el tratamiento primario, sin embargo, en más del 40% de los casos se produce metástasis (21).

El desarrollo de TKIs como terapia ha revolucionado el tratamiento y mejora la clínica visiblemente ya que, alrededor del 85% de los tumores de estroma gastrointestinal son causados por mutaciones en el gen KIT, oncogén que codifica para el receptor para el factor de célula madre (SCF). En el tratamiento se utiliza como 1ª línea imatinib, un inhibidor relativamente selectivo de KIT, PDGFR y BCR-Abl. Si se desarrollan resistencias a esta 1ª terapia se utiliza sunitinib, que inhibe a los receptores PDGFR, VEGFR y el receptor KIT. Por último, como tratamiento de 3ª línea se utiliza regorafenib, inhibidor del oncogén KIT que participa en la producción de diferentes PTK implicadas en oncogénesis, angiogénesis y mantenimiento del microambiente tumoral, del cual se ha comprobado que mejora la supervivencia y la progresión del tumor.

5.1.5 Cáncer de pulmón

Los inhibidores del receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR) son los utilizados en la terapia del cáncer de pulmón no microcítico. Sin embargo, el desarrollo de resistencias es inevitable. Aproximadamente, un 50% de los casos tratados con la 1ª generación de TKIs (gefitinib) desarrolla resistencia debido a la mutación T790M. La 3ª generación de

TKIs que actúan sobre EGFR, como osimertinib, sí ha demostrado mejoras significativas en la progresión del tumor. Sin embargo, tras la respuesta inicial favorable, la mayoría de los pacientes también desarrollan resistencia a osimertinib, debido a mutaciones en EGFR.

Los ensayos clínicos que comparan EGFR-TKI frente a quimioterapia no han demostrado ningún beneficio en la supervivencia. La inmunoterapia está aprobada para la 2ª línea, pero para la 3ª línea, la quimioterapia resulta en mayor supervivencia que los EGFR-TKI (22)

5.2 INFLAMATORIAS Y AUTOINMUNES

Las respuestas inflamatorias generalmente son iniciadas por el reconocimiento de señales que identifican la invasión de patógenos o lesiones en los tejidos. A su vez, se produce la activación de cascadas de señalización intracelular que conllevan el aumento en la expresión de genes que codifican citoquinas proinflamatorias. Si estas respuestas inflamatorias ocurren en ausencia de señales externas y persisten en el tiempo, se obtiene como resultado una inflamación crónica. Existe un amplio espectro de enfermedades asociadas a inflamaciones crónicas, como la psoriasis, la artritis reumatoide o la esclerosis múltiple. (23)

Las enfermedades autoinmunes se caracterizan también por la presencia de citoquinas, al igual que las enfermedades inflamatorias. El enfoque actual en el desarrollo de fármacos tanto para enfermedades inflamatorias como autoinmunes se orienta hacia las vías de señalización intracelulares, entre las que encontramos a las PTKs como dianas farmacológicas.

Las PTKs de la pequeña familia **JAK** o Janus quinasas, son esenciales para la señalización intracelular desencadenada por citoquinas, especialmente las de tipo I y tipo II. Una gran cantidad de citoquinas, incluyendo IFN, factores estimulantes de colonias e interleucinas se unen a los receptores de citoquinas, que están asociados a JAK, y se desencadena la cascada de transducción de señales JAK-STAT. Los TKIs que actúan en ellas se denominan genéricamente jakinibs y están siendo aprobados para una amplia variedad de enfermedades inflamatorias y autoinmunes. En 2012, tofacitinib fue aprobado por la FDA para el tratamiento de la artritis reumatoide. Otros jakinibs (lestaurtinib, ruxolitinib) están siendo utilizados para el tratamiento de enfermedades autoinmunes como artritis reumatoide, psoriasis, lupus eritematoso sistémico o la enfermedad del intestino irritable.

Otra familia de PTKs importante es **Syk**. Syk es una PTK citosólica perteneciente a la familia de nRTKs. Syk media la señalización requerida para la activación y desarrollo de células B, y está ampliamente expresada en todas las células hematopoyéticas, por lo que se une no solo a las células B, sino también a mastocitos y neutrófilos así como a células no hematopoyéticas como β -integrinas, receptores TLR-4 o glicoproteínas. Por todo ello, es

importante para la señalización de señales inmunológicas y respuestas proinflamatorias. El 1^{er} inhibidor de Syk desarrollado fue fostamatinib (usado en artritis reumatoide), del cual se ha demostrado que inhibe la señalización del factor de necrosis tumoral (TNF- α) interfiriendo con la producción de la citoquina proinflamatoria IL-6. Múltiples inhibidores de Syk están actualmente en ensayos clínicos para el tratamiento de una gran variedad de enfermedades mediadas por la inflamación, como por ejemplo R343, para el tratamiento de asma, una enfermedad inflamatoria crónica de las vías respiratorias.

El objetivo final en el tratamiento de enfermedades autoinmunes e inflamatorias es suprimir el componente inflamatorio patológico y restaurar la propia respuesta inmune, y al mismo tiempo preservarse la capacidad de establecer una respuesta inmune apropiada frente a patógenos invasores. Por lo tanto, las PTKs representan una diana farmacológica importante y prometedora en el tratamiento no solo del cáncer, como hemos visto anteriormente, sino también son cruciales en la etiología de enfermedades inflamatorias y autoinmunes, siendo los “principales objetivos farmacológicos del siglo XXI”(24).

5.3 DIABETES

La diabetes mellitus (DM) es un desorden metabólico caracterizado por hiperglucemia crónica debido a los defectos en la acción y/o secreción de insulina. La DM tipo 1 se produce por la destrucción autoinmune de las células β -pancreáticas. Se produce infiltración de células T acompañado de la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS). La DM tipo 2 se caracteriza por la resistencia a la insulina por parte de los tejidos y por la disfunción de las células β pancreáticas. La resistencia a la insulina está fuertemente relacionada con la obesidad visceral, por lo que se produce como resultado un depósito de grasa e inflamación. Los macrófagos M1 en tejido adiposo secretan citoquinas proinflamatorias, tales como TNF α o IL-6. (25)

El receptor de insulina es un RTK que transmite señales tanto metabólicas como mitogénicas. La unión de la insulina a su receptor produce la autofosforilación cruzada en residuos de tirosina. Se activan las vías de las MAPK y la vía PI3K/PKB/Akt, que median las respuestas metabólicas de la insulina, como el transporte de glucosa, la síntesis de glucógeno y la lipogénesis. En los estados de resistencia a la insulina, no hay respuesta metabólica, pero la respuesta mitogénica permanece intacta, por lo que se induce la transcripción de genes de proliferación y supervivencia celular.

Actuando sobre tirosina quinasas se puede actuar sobre los principales defectos de la diabetes, tales como la resistencia a insulina y la disfunción de las células β pancreáticas. Las

principales PTKs sobre las que se puede actuar son la c-Abl, PDGFR, VEGFR y EGFR. La inhibición de c-Abl (imatinib) reduce la apoptosis de células β y mejora la secreción de insulina. La inhibición de PDGFR promueve la adipogénesis y se incrementa la secreción de adiponectina, contribuyendo a la mejora de la sensibilidad a la insulina. También se reduce la inflamación. La inhibición de VEGFR (sunitinib) reduce la inflamación al modular la vascularidad y evitar la migración de células T. Finalmente, la inhibición de EGFR reduce la resistencia a la insulina al disminuir la producción de TNF- α y la IL-6, expresiones de la infiltración de macrófagos M1 en tejido adiposo. (25)

Desde el descubrimiento del efecto de los TKIs sobre la resistencia a insulina y las células β , los ensayos clínicos deberían encaminarse en un futuro a estados clínicos prediabéticos, con el fin de prevenir esta enfermedad metabólica. Se necesitan más estudios para elucidar los mecanismos moleculares exactos de la diabetes, así como de la acción de los TKIs para poder prevenir y combatir con más precisión esta enfermedad.

5.4 OTROS USOS

Aparte del uso de fármacos que actúan sobre PTKs en cáncer, enfermedades inflamatorias, autoinmunes y diabetes, encontramos otras aplicaciones diversas como son la malaria, la analgesia, o la utilización en técnicas de diagnóstico (PET), entre otras.

En la **malaria**, se ha visto que las PTKs están implicadas en el complicado pero vital ciclo de la vida del parásito. Se ha estudiado el uso de TKIs como imatinib y sorafenib in vitro para observar su actividad antipalúdica y su posible actividad sinérgica con fármacos ya usados en esta patología. Estos dos fármacos mostraron una prometedora actividad antipalúdica en 5 cepas de *Plasmodium falciparum* y se observó sobre todo sinergia entre el imatinib y el artesunato, fármaco antiplalúdico. (26)

En temas de **analgesia** se han visto implicados diversas PTKs. Citando algunos ejemplos, encontramos que al bloquear el receptor TrK se inhibe el comportamiento doloroso en dos modelos de ratas (27), ya que TrKA media la sensibilización nociceptiva a través del factor de crecimiento del nervio (NGF); y que la inhibición del receptor c-Kit está asociada a la reducción de la sensibilidad al dolor térmico, por lo que el uso de imatinib o nilotinib sería adecuado(28).

También podemos encontrar a las PTK en **técnicas de diagnóstico**, como en tomografía de emisión de positrones (PET), una técnica no invasiva en la que se utilizan sustancias marcadas radioactivamente que se dirigen a células que presentan una mayor actividad metabólica (como las células tumorales). De gran utilidad en el diagnóstico y seguimiento de enfermedades tumorales.

5.5 TOXICIDAD

Los TKIs son efectivos en el tratamiento de diversas patologías como hemos podido observar. Sin embargo, pueden causar toxicidad en algunos órganos. Con variaciones entre los distintos TKIs, en más del 50% de los pacientes, causan toxicidad en la piel, incluyendo foliculitis, crecimiento del vello facial, eritema facial y formas variables de alopecia; sobre todo en erlotinib y gefitinib (actúan en EGFR). Por el contrario, la foliculitis no es común en la utilización de sorafenib y sunitinib, mientras que ambos agentes se han asociado con hemorragias subungueales. El edema parpebral es un efecto adverso frecuente del imatinib. (29)

Además de los efectos secundarios hematológicos de la mayoría de los TKIs, como la anemia, la trombopenia y la neutropenia, los efectos extrahemolíticos más comunes son edema, náuseas, hipotiroidismo, vómitos y diarrea.

En cuanto a los posibles efectos a largo plazo, se produce generalmente toxicidad cardíaca con insuficiencia cardíaca congestiva (sobre todo en pacientes con LMC en tratamiento con imatinib, dasatinib o erlotinib).

5.6 RESISTENCIAS

Muchos pacientes con cáncer no mejoran en el tratamiento con TKIs debido a las resistencias adquiridas frente a este tipo de fármacos. Estas resistencias se dan a través de múltiples mecanismos, entre los que destacan las mutaciones, la amplificación de genes, la pérdida de expresión de genes, la fusión de genes, o la transformación del epitelio mesenquimal, entre otros. (10) En los siguientes párrafos se detallarán estos mecanismos.

Mutación T790M: es la resistencia adquirida que primero se reconoció tras el tratamiento con TKIs. Se debe al cambio de una treonina por una metionina en el gen EGFR y resulta en un impedimento estérico, que afecta a la formación de puentes de hidrógeno entre la PKT y el TKI. Otros estudios demuestran que esta mutación, reduce la afinidad del TKI y aumenta la afinidad por el ATP intracelular(30). Tras el descubrimiento de esta mutación se desarrollaron TKIs de 2ª generación (aftinib, dacomitinib), que son inhibidores irreversibles de EGFR. Se unen covalentemente al sitio de unión al ATP, lo que retrasa la progresión del tumor. Sin embargo, lo más actual son los TKIs de 3ª generación, tales como osimertinib, administrado por vía oral, y ASP8273 que está actualmente en ensayos clínicos para evaluar la eficacia en pacientes con cáncer de pulmón no microcítico que presenten la mutación T790M (31).

Amplificación del gen c-MET: este gen codifica al receptor MET, específico para el factor de crecimiento de hepatocitos. Su activación promueve la proliferación y diferenciación celular, e induce la migración de células epiteliales y la angiogénesis, por lo que su

amplificación conlleva la sobreexpresión de una gran variedad de tumores. Para superar esta resistencia se pueden combinar varios TKIs o utilizar un anticuerpo monoclonal denominado MetMab que bloquea el receptor MET inhibiendo su unión al factor de crecimiento de hepatocitos.

Pérdida de expresión de PTEN: el gen PTEN es un gen supresor tumoral estrechamente relacionado con la carcinogénesis. En ausencia de expresión de PTEN, las células tumorales activan la vía de señalización PI3K independientemente de la activación del receptor EGFR.

Fusión de genes EML4-ALK: ambos genes, localizados en el cromosoma humano 2, cuando se fusionan inducen la actividad tirosin-quinasa estimulando la vía de señalización PI3K/AKT/MAPK, lo que resulta en la proliferación y diferenciación de células tumorales y la inhibición de apoptosis.

Transformación del epitelio mesenquimal: se refiere a la transformación de las células epiteliales en células intersticiales, perdiéndose la polaridad celular y la conexión con la membrana basal y dando lugar a la migración, invasión, y degradación de las células extracelulares de la matriz. Este proceso está implicado sobre todo en procesos metastásicos.

Aparte de los aquí citados, existen muchos otros mecanismos de resistencia a los TKIs que están siendo actualmente foco de estudio ya que constituyen una reducción en la mejora del tratamiento del cáncer. En la práctica clínica, generalmente se utiliza la combinación de diferentes TKIs para actuar concomitantemente sobre múltiples mecanismos que contribuyen al crecimiento tumoral, y para evitar las resistencias. También se están desarrollando fármacos con la tecnología de terapia génica, que pueden inhibir la expresión del ARNm del gen de resistencia a estos fármacos.

6. CONCLUSIONES

El desarrollo de fármacos TKIs ha abierto un nuevo campo prometedor, no solo para la terapia del cáncer, sino también para enfermedades antiinflamatorias, autoinmunes, metabólicas como la diabetes y aplicable a muchos otros ámbitos.

De los numerosos compuestos, actualmente en fase de ensayos preclínicos y clínicos, algunos dar lugar en los próximos años a nuevos fármacos capaces de responder a algunos de los desafíos actuales. Se está estudiando una pequeña parte del kinoma, y existen muchas moléculas candidatas que están a la espera de ser descubiertas por la comunidad científica.

Sin embargo, debemos considerar algunos problemas que entrañan este grupo de fármacos. Uno de ellos se refiere al hecho de que los tumores raramente se deben a la alteración de una sola PTK. De ahí que un solo inhibidor puede no ser suficiente para conseguir resultados

terapéuticos óptimos, sino que se deben combinar varios inhibidores y así obtener resultados positivos. Por otra parte, es preciso considerar que las PTKs no solo regulan la proliferación y apoptosis, sino que participan también en otros procesos celulares, por lo que se pueden llegar a dar una amplia gama de efectos adversos.

Una cuestión de gran importancia es la selectividad de un determinado inhibidor entre la gran familia de PTKs. En oncología nos podemos beneficiar de la amplitud de espectro, sin embargo, en otros usos, como en inmunidad la poca selectividad no es un hecho deseable, ya que pueden producir un mayor riesgo de infecciones. (1)

Además, se ha demostrado que las respuestas terapéuticas de los fármacos que actúan en PTK varían ampliamente en pacientes individuales y en poblaciones de pacientes y dependen de factores diversos.

Esta revisión revela como principales desafíos en el campo de los TKIs: (i) la necesidad de mejorar la monitorización de los TKIs con técnicas mínimamente invasivas; (ii) desarrollar nuevas moléculas que actúen sobre PTKs, tanto sintéticas como naturales y (iii) avanzar en la búsqueda de soluciones para el problema de resistencias adquiridas para mejorar la respuesta. No obstante, el futuro de estos fármacos es indudablemente prometedor y potencialmente permitirán grandes avances terapéuticos y mejoras en los tratamientos, aumentando la calidad de vida de múltiples pacientes.

7. BIBLIOGRAFÍA

1. Bhullar KS, Lagarón NO, McGowan EM, Parmar I, Jha A, Hubbard BP, et al. Kinase-targeted cancer therapies: Progress, challenges and future directions. *Mol Cancer*. 2018;17(1):1–20.
2. Siveen KS, Prabhu KS, Achkar IW, Kuttikrishnan S, Shyam S, Khan AQ. Role of Non Receptor Tyrosine Kinases in Hematological Malignancies and its Targeting by Natural Products. 2018;1–21.
3. Gocek E, Moulas AN, Studzinski GP. Non-receptor protein tyrosine kinases signaling pathways in normal and cancer cells. *Crit Rev Clin Lab Sci*. 2014;51(3):125–37.
4. Hubbard SR, Till JH. Protein tyrosine kinase structure and function. *New York*. 2000;69(1):373–98.
5. Kuriyan J, Eisenberg D. The origin of protein interactions and allostery in colocalization. *Nature*. 2007;450(7172):983–90.
6. Butti R, Das S, Gunasekaran VP, Yadav AS, Kumar D, Kundu GC. Receptor tyrosine kinases (RTKs) in breast cancer: signaling, therapeutic implications and challenges. *Mol Cancer*. 2018;17(1):34.
7. Miguel J, Melón O. Proteína quinasas como dianas farmacológicas. 2009;15–45.
8. Regad T. Targeting RTK signaling pathways in cancer. *Cancers (Basel)*. 2015;7(3):1758–84.
9. Chen MK, Hung MC. Proteolytic cleavage, trafficking, and functions of nuclear receptor tyrosine kinases. *FEBS J*. 2015;282(19):3693–721.
10. Jiao Q, Bi L, Ren Y, Song S, Wang Q, Wang Y. Advances in studies of tyrosine kinase inhibitors and their acquired resistance. 2018;1–12.
11. Chávez-gonzález MA, Ayala-sánchez M, Mayani H. La leucemia mieloide crónica en el siglo XXI : biología y tratamiento. *Rev Investig Clin*. 2009;61(3):221–32.

12. Jia H, Truica CI, Wang B, Wang Y, Ren X, Harvey HA, et al. Immunotherapy for triple-negative breast cancer: Existing challenges and exciting prospects. *Drug Resist Updat*. 2017;32:1–15.
13. Segovia-Mendoza M, González-González ME, Barrera D, Díaz L, García-Becerra R. Efficacy and mechanism of action of the tyrosine kinase inhibitors gefitinib, lapatinib and neratinib in the treatment of her2-positive breast cancer: Preclinical and clinical evidence. *Am J Cancer Res*. 2015;5(9):2531–61.
14. Hudis CA. Trastuzumab — Mechanism of Action and Use in Clinical Practice Clifford. *new Engl J o f Med*. 2007;(357):39–51.
15. Lamond NW, Younis T. Pertuzumab in human epidermal growth-factor receptor 2-positive breast cancer: clinical and economic considerations. *Int J Womens Health*. 2014;6:509–21.
16. Matus Santos J, Arce Salinas C, Flores Díaz D, Reynoso Noverón N, Villarreal Garza C, Alvarado Miranda A, et al. Actualidades del tratamiento del cáncer de mama metastásico HER2-positivo. *Rev Mex Mastología*. 2015;5:18–22.
17. Nielsen DL, Andersson M, Kamby C. HER2-targeted therapy in breast cancer. Monoclonal antibodies and tyrosine kinase inhibitors. *Cancer Treat Rev*. 2009;35(2):121–36.
18. Nakata A, Gotoh N. Recent understanding of the molecular mechanisms for the efficacy and resistance of EGF receptor-specific tyrosine kinase inhibitors in non-small cell lung cancer. *Expert Opin Ther Targets*. 2012;16(8):771–81.
19. Chan DLH, Segelov E, Wong RSH, Smith A, Herbertson RA, Li BT, et al. Epidermal growth factor receptor (EGFR) inhibitors for metastatic colorectal cancer. *Cochrane Database Syst Rev*. 2017;2017(6).
20. Mésange P, Bouygues A, Ferrand N, Sabbah M, Escargueil AE, Savina A, et al. Combinations of Bevacizumab and Erlotinib show activity in colorectal cancer independent of RAS status. *Clin Cancer Res*. 2018;clincanres.3187.2017.
21. Qiu H, Zhou Z, Feng X, Liu X, Guo J, Chen Y, et al. Advanced gastrointestinal stromal tumor patients bene fi t from palliative surgery after tyrosine kinase inhibitors therapy. 2018;0(August 2017):0–5.
22. Tomasini P, Brosseau S, Mazières J, Merlio J-P, Beau-Faller M, Mosser J, et al. EGFR tyrosine kinase inhibitors *versus* chemotherapy in *EGFR* wild-type pre-treated advanced nonsmall cell lung cancer in daily practice. *Eur Respir J*. 2017;50(2):1700514.
23. Patterson H, Nibbs R, Mcinnes I, Siebert S. Protein kinase inhibitors in the treatment of inflammatory and autoimmune diseases. *Clin Exp Immunol*. 2014;176(1):1–10.
24. Cohen P. Protein kinases--the major drug targets of the twenty-first century? *Nat Rev Drug Discov*. 2002;1(April):309–15.
25. Fountas A, Diamantopoulos LN, Tsatsoulis A. Tyrosine Kinase Inhibitors and Diabetes: A Novel Treatment Paradigm? *Trends Endocrinol Metab*. 2015;26(11):643–56.
26. Pathak V, Colah R, Ghosh K. Tyrosine kinase inhibitors: New class of antimalarials on the horizon? *Blood Cells, Mol Dis*. 2015;55(2):119–26.
27. Nwosu LN, Mapp PI, Chapman V, Walsh DA. Blocking the tropomyosin receptor kinase A (TrkA) receptor inhibits pain behaviour in two rat models of osteoarthritis. *Ann Rheum Dis*. 2016;75(6):554–61.
28. Ceko M, Milenkovic N, Le Coutre P, Westermann J, Lewin GR. Inhibition of c-Kit signaling is associated with reduced heat and cold pain sensitivity in humans. *Pain*. 2014;155(7):1222–8.
29. Hartmann J, Haap M, Kopp H-G, Lipp H-P. Tyrosine Kinase Inhibitors – A Review on Pharmacology, Metabolism and Side Effects. *Curr Drug Metab*. 2009;10(5):470–81.
30. Yun C-H, Mengwasser KE, Toms A V., Woo MS, Greulich H, Wong K-K, et al. The T790M mutation in EGFR kinase causes drug resistance by increasing the affinity for ATP. *Proc Natl Acad Sci*. 2008;105(6):2070–5.
31. Watanabe S, Yoshida T, Kawakami H, Takegawa N, Tanizaki J, Hayashi H, et al. T790M-selective EGFR-TKI combined with dasatinib as an optimal strategy for overcoming EGFR-TKI resistance in T790M-positive non-small cell lung cancer. *Mol Cancer*. 2017;molcanther.0351.2017.