

QUIMIOTERAPIA BASADA EN EL PERFIL GENÉTICO EN CARCINOMA BRONCOGÉNICO EN ESTADIO IV

E. Bermejo Casero¹, M. Cobo Dols², R. Arrabal Sánchez³.

¹Servicio de Cirugía Torácica. Hospital Universitario Insular. Las Palmas de Gran Canaria. ²Servicio de Oncología.

³Servicio de Cirugía Torácica. Hospital Regional Universitario Carlos Haya. Málaga.

RESUMEN

OBJETIVOS: Evaluar los resultados del tratamiento quimioterápico individualizado, basado en marcadores genéticos, en el cáncer de pulmón con metástasis a distancia (M1).

PACIENTES Y MÉTODO: Estudio piloto. 40 pacientes con carcinoma pulmonar no microcítico estadio IV, tratados con quimioterapia y seguidos entre octubre de 2006 y diciembre de 2007. En cada pieza tumoral se estudia la existencia de mutaciones del gen EGFR y los niveles del gen BCRA1. Análisis estadístico Kaplan Meier.

RESULTADOS: El lugar donde más frecuentemente se produjeron metástasis fue: pulmón/pleura (20 casos), adenopatías más allá del territorio N3 (12 casos), hueso (11 casos), suprarrenal (7 casos), hígado (3 casos) y peritoneo (2 casos). Se pudo realizar tratamiento quimioterápico basado en el perfil genómico, debido a que las muestras fueron viables para el estudio, en 26 pacientes. En 14 enfermos la muestra no fue viable y se realizó tratamiento convencional (cisplatino + gemcitabina). Con una mediana de seguimiento de 259 días (117-474), el grupo tratado con perfil genómico tuvo una respuesta del 61% (16/26) y el empírico del 14% (2/14). La mediana del tiempo a la progresión de la enfermedad del grupo genómico fue de 203 días y la del empírico de 64 días ($P < 0,0001$). La mediana de supervivencia del grupo genómico aún no se había alcanzado al final del estudio (más de la mitad continuaban vivos), mientras que la del grupo empírico fue de 140 días ($P < 0,0002$).

CONCLUSIONES: Los primeros resultados confirman que el tratamiento quimioterápico basado en el perfil genómico del paciente, mejora de manera significativa la supervivencia de éstos respecto de la quimioterapia clásica.

Palabras clave: genética, gen EGFR, gen BCRA1.

Chemotherapy based on the genetic profile in stage IV bronchogenic carcinoma

ABSTRACT

OBJECTIVES. To evaluate the results of the personalised chemotherapeutic treatment, based on genetic markers, in lung cancer with remote metastasis (M1).

PATIENTS AND METHOD. Pilot study. 40 patients with stage IV non small cell pulmonary carcinoma, treated with chemotherapy and monitored between October 2006 and December 2007. The existence of mutations of the EGFR gene and the levels of the BCRA1 gene were studied in each tumour sample. Kaplan-Meier statistical analysis was performed.

RESULTS. The most frequently metastasis site was: lung/pleura (20 cases), adenopathies beyond the N3 level (12 cases), bone (11 cases), suprarenal (7 cases), liver (3 cases) and peritoneum (2 cases). A chemotherapeutic treatment could be made based on the genomic profile, because the samples were viable for the study in 26 patients. In 14 patients the sample was not viable and conventional treatment was made (cisplatin + gemcitabine). With an average follow-up of 259 days (117-474), the group treated with genomic profile had a response of 61% (16/26) and the empirical group a response of 14% (2/14). The average time to the progression of the disease in the genomic group was 203 days and 64 days ($P < 0.0001$) in the empirical group. The average survival of the genomic group is not yet determined as the end of the study has not been reached (more than half are still alive), whereas that of the empirical group was 140 days ($P < 0.0002$).

CONCLUSIONS. The first results confirm that chemotherapeutic treatment based on the genomic profile of the patient, significantly improved the survival of these patients with respect to the classic chemotherapy.

Keywords: genetics, EGFR gene, BCRA1 gene.

INTRODUCCIÓN

La supervivencia actual del carcinoma pulmonar no microcítico (CPNM) con metástasis no llega a 8/10 meses. Estos resultados no se han modificado en los últimos 15 años. Los regímenes actuales quimioterápicos se

basan en el tratamiento con cisplatino combinado con otro agente como gencitabina, vinorelbina, doxetaxel etc.^{1,2,3,4,5,6}. Ninguna de estas combinaciones ha logrado vencer la quimio-resistencia existente. Tanto es así, que menos del 30% de los pacientes responderán en esta fase de la enfermedad a la quimioterapia empírica.

Recibido: 29 de marzo de 2008. Aceptado: 5 de agosto de 2008

Enrique Bermejo Casero
Hospital Universitario Insular. Las Palmas de Gran Canaria
Avda. Marítima del Sur, s/n. 35016. Las Palmas de Gran Canaria
luiss175@hotmail.com

Por todo ello, se han abierto nuevas líneas de investigación que intentan mejorar los resultados actuales. Una de las más prometedoras es la quimioterapia dirigida a dianas moleculares. Se estudia la alteración genética implicada en la patogénesis tumoral con el fin de combatirla con el quimioterápico específico capaz de anular el protooncogen causante. De la misma manera, se están empleando vectores conductores de genes supresores o reparadores del DNA, lesionados normalmente por pérdida de material cromosómico. Se trata de una quimioterapia individualizada, una especie de “antibiograma oncológico”, la llamada quimioterapia a la carta.

El cirujano torácico también participa activamente en este proceso. Como veremos, en muchas ocasiones deberá obtener quirúrgicamente muestras viables para hacer el estudio genómico.

PACIENTES Y MÉTODOS

En el periodo que va de octubre de 2006 a diciembre de 2007, 40 pacientes con CPNM E IV fueron incluidos en el estudio piloto. Se trataba de 29 hombres y 11 mujeres. En el 70% de los enfermos existían una o más metástasis a distancia en el momento del diagnóstico inicial. El 30% restante, habían sido sometidos a cirugía resectiva pulmonar con intención curativa, y en un periodo que variaba de 1 a 7 meses habían aparecido metástasis a distancia.

El lugar más frecuente de metástasis fue el pulmón/pleura (20 casos), adenopatías retroperitoneales (12), hueso (11), suprarrenales (7), hígado (3) y peritoneo (2). Para considerar una lesión como metastásica, de no haber confirmación histológica, debía existir una radiología compatible junto a una PET o una gammagrafía ósea positiva.

Las estirpes más frecuentes fueron adenocarcinoma (24 casos), carcinoma epidermoide (9), carcinoma de células grandes (4) y carcinoma indiferenciado (3).

Los dos genes estudiados en cada pieza tumoral fueron el gen EGFR⁷ y el BCRA1⁸. El gen EGFR (factor de crecimiento epidermico) codifica una proteína de membrana celular con actividad tirosín-quinasa en su dominio intracitoplasmático. La mutación de este gen provoca la activación automática de esta proteína. Se produce una cascada de fosforilaciones proteicas que son señal para desencadenar reacciones citoplasmáticas que llevan a la multiplicación celular. Por su parte, el gen BCRA1 pertenece a un complejo sistema reparativo del DNA llamado sistema NER. Se ha demostrado que el gen BCRA1 es el de mayor potencia de este sistema.

Las muestras eran fijadas en formol e incluidas en parafina. Posteriormente, se realizaba una amplificación del DNA mediante reacción en cadena de polimerasa (PCR). Se identificaban las mutaciones por secuenciación directa, mediante extensión enzimática con dideoxynucleótidos, marcados con fluorocromos.

Todos los pacientes fueron informados y firmaron un consentimiento especial para quedar incluidos en el estudio

piloto. Se detallaba que serían tratados con quimioterapia individualizada si el estudio genético era viable. En caso contrario el tratamiento sería el estándar empleado en CPNM.

El protocolo seguido fue el siguiente (figura 1): en primer lugar, se estudió la existencia de mutaciones del gen EGFR en la pieza tumoral. Si existían, el paciente era tratado con quimioterápicos específicos inhibidores de la proteína tirosinquinasa (erlotinib)^{9,10}. Cuando este gen no presentaba mutación se midieron los niveles del gen BCRA1 (gen reparador de DNA). Si los niveles eran bajos (< percentil 25), el paciente se trató con quimioterápicos específicos lesionadores del DNA (cisplatino + gencitabina). Si los niveles del gen BCRA1 en la pieza tumoral eran medios (entre percentiles 25 y 75), al cisplatino se le añadió otro quimioterápico cuyo mecanismo de acción es crear enlaces covalentes en los microtúbulos impidiendo su despolarización y la división celular (agentes antimicrotúbulos). Si los niveles de BCRA1 eran altos, el paciente se trató únicamente con agentes antimicrotúbulo.

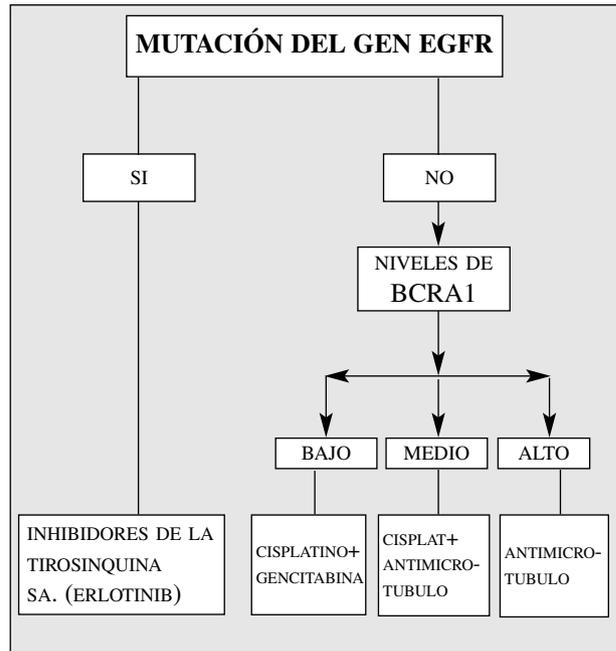


Figura 1. Protocolo de investigación

En 19 ocasiones la muestra obtenida para estudio genómico se obtuvo por broncoscopia. En 21 casos por métodos quirúrgicos: 11 por cirugía previa del tumor, 6 por cirugía de las metástasis, 2 por biopsia pleural videotoracoscópica y 2 por mediastinoscopia.

RESULTADOS

La muestra fue viable para el estudio genómico en 26 pacientes. Seis casos presentaron mutación del gen EGFR, 6 niveles bajos del gen BCRA1, 11 niveles medios y 3 niveles altos.

En 14 pacientes la muestra obtenida no fue viable para el estudio genético. Se empleó en estos casos quimioterapia empírica tradicional (cisplatino + gencitabina). Con una mediana de seguimiento de 259 (117-474) días se evaluó: respuesta a la quimioterapia, mediana de tiempo a la progresión de la enfermedad y mediana de supervivencia.

Se consideró respuesta a la quimioterapia como respuesta parcial o completa según los criterios Recist (criterios radiológicos de respuesta al tratamiento en tumores sólidos)¹¹. En el 61% (16/26) de los pacientes tratados según su perfil genómico existió respuesta. Sólo en el 14% (2/14) de los tratados empíricamente se produjo tal respuesta a la quimioterapia.

La mediana de tiempo a la progresión de la enfermedad fue de 203 días (94-312) en el grupo tratado según perfil genómico. En el empírico fue de 64 días (45-82), con una $P < 0,0001$, al comparar los grupos (figura 2).

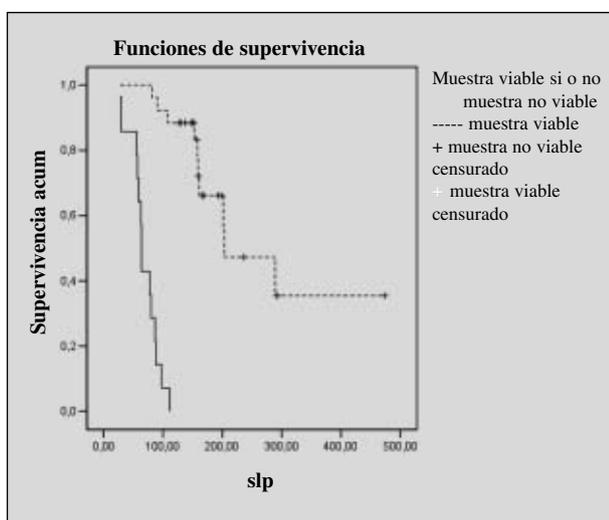


Figura 2. Análisis estadístico del tiempo a la progresión de la enfermedad

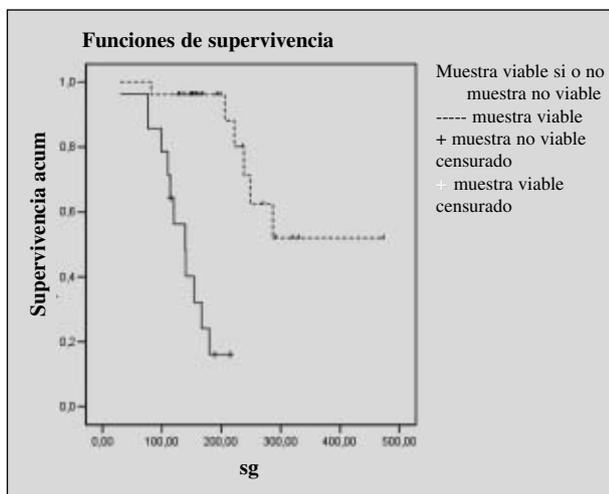


Figura 3. Análisis estadístico de la mediana de supervivencia

En lo que respecta a la supervivencia, la mediana del grupo genómico no se había alcanzado al final del estudio, ya que más de la mitad de los enfermos continuaban vivos. En el grupo empírico fue de 140 días (114-165 con un intervalo de confianza del 95%) (figura 3).

Además, es de reseñar que cuando las muestras se obtuvieron por broncoscopia, fueron viables para estudio genómico el 40% (8/19) de las mismas. Sin embargo, las muestras obtenidas por métodos quirúrgicos fueron viables en el 85% (18/21) de las ocasiones.

DISCUSIÓN

La supervivencia global del cáncer de pulmón no ha logrado ser mejorada en los últimos 20 años. La quimioterapia alcanzó una serie de resultados que no se han modificado hace ya más de 10 años. Esto ha impulsado múltiples líneas de investigación de las cuales una de las más relevantes es el estudio genético tumoral.

El cáncer de pulmón, al igual que el resto de neoplasias es el resultado final de la acumulación de múltiples alteraciones genéticas, que pueden afectar a tres tipos de genes: protooncogenes, genes supresores de tumores y genes reparadores del ADN. Mientras que la activación de los protooncogenes se suele producir por mutación, amplificación o reordenamiento, la inactivación de los genes supresores y reparadores suele ocurrir por pérdida cromosómica.

Las mutaciones del gen EGFR ya han sido estudiadas antes en la oncogénesis del cáncer de mama fundamentalmente. En el cáncer de pulmón sabemos que esta mutación se asocia a un fenotipo clínico-patológico: mujeres no fumadoras y con adenocarcinoma, especialmente el tipo bronquioloalveolar^{12,13}. Este fenotipo presenta la mutación del gen EGFR en más del 40% de los casos. En poblaciones orientales este porcentaje llega a ser de más del 60% de las pacientes.

Basándose en estudios sobre población japonesa, se describió esta nueva variante de adenocarcinoma de pulmón derivada de células de la unidad respiratoria terminal (TRU), con rasgos citológicos, estructurales e inmunohistoquímicos propios, específicamente asociada a mutaciones del gen EGFR. Otro grupo de carcinomas de pulmón, probablemente con distintas vías patogénicas, son los portadores de mutaciones en el gen K-ras, frecuentes en fumadores y sin mutaciones en el gen EGFR¹⁴.

Por su parte, el gen BRCA1 es una proteína reguladora del ciclo celular que actúa como supresor tumoral controlando el crecimiento y la muerte celular. Ha sido estudiado fundamentalmente por sus implicaciones en la patogénesis del cáncer de mama. La mutación de este gen junto al gen BRCA2 es responsable del 15% al 85% de todos los tumores de mama hereditarios. Desde hace un año sabemos que sus mutaciones generan una inestabilidad genética que conduce al desarrollo de tumores en el pulmón y otros órganos. Oncólogos españoles han descubierto recientemente la importancia que tiene como

indicador de recaída en el cáncer de pulmón. En los tumores pulmonares donde este gen está sobreestimulado existe un tiempo libre de enfermedad menor y un mayor índice de recaídas tempranas. Aunque actualmente estamos lejos de poder emplearlo en la práctica clínica rutinaria, el desarrollo de kits más económicos y accesibles de detección de mutaciones genéticas, hará que este gen sea un biomarcador de riesgo de gran utilidad en el seguimiento de los pacientes tratados de un carcinoma broncogénico.

Previamente se habían publicado otras alteraciones genéticas responsables del desarrollo del cáncer de pulmón: inactivación de la proteína P53 (gen implicado en mantener la integridad del ADN); sobreexpresión de la familia de genes MYC (implicados en la proliferación celular) o activación del VEGF (gen implicado en la angiogénesis).

En el futuro la genética molecular tendrá un papel determinante en el tratamiento del cáncer. Los estudios pilotos están mostrando unos resultados que superan considerablemente los logrados por la quimioterapia clásica.

Las unidades de cirugía torácica también participarán activamente en esta terapia. En nuestro estudio, las muestras obtenidas por broncoscopia para hacer el estudio genómico fueron viables en el 40% de los casos. Sin embargo, cuando empleamos algún método quirúrgico para la obtención de muestra, fueron viables en el 85% de las ocasiones. Oncólogos, cirujanos y neumólogos se complementarán para tratar al paciente justo con el quimioterápico más eficaz.

En conclusión, los primeros resultados apuntan a que la quimioterapia basada en el perfil genómico mejora la supervivencia de los pacientes respecto de la quimioterapia clásica. Las muestras obtenidas por métodos quirúrgicos presentan una gran viabilidad para poder hacer el estudio, superior a las obtenidas por broncoscopia. Estudios posteriores con muestras más amplias deberán confirmar estos resultados.

BIBLIOGRAFÍA

1. Green MR, Dowlati A, Yellamraju L, Daniels L, Willey J, Andrews M, et al. Irinotecan-cisplatin therapy for patients with extensive-stage small cell lung cancer: use patterns among American medical oncologists 2000-2006. *J Thorac Oncol.* 2007 OCT; 2(10): 953-6.
2. Gridelli C, Maino P, Illiano A, Piantadosi FU, Favaretto A, Bearz A, et al. Cisplatin plus gemcitabine or vinorelbine for elderly patients with advanced non small-cell lung cancer: the MILES-2P studies. *J Clin Oncol.* 2007 OCT 10; 25(29): 4663-9.
3. Ramlau R, Zatloukal P, Jassem J, Schwarzenberger P, Orlov SV, Gottfried M, et al. Randomized phase III trial comparing bexarotene (L1069-49)/cisplatin/vinorelbine with cisplatin/vinorelbine in chemotherapy-naïve patients with advanced or metastatic non-small-cell lung cancer: SPIRIT I. *J Clin Oncol.* 2008 Apr 10; 26(11): 1886-92.
4. Coskun U, Kaya AO, Buyukberber S, Benekli M, Uner A, Dikilitas M, et al. Single agent gemcitabine in the second-line treatment of advanced non-small cell lung cancer after treatment with taxane+platinum regimens. *Med Oncol.* 2008; 25(2): 133-6.
5. Morgensztern D, Govindan R. Adjuvant chemotherapy for lung cancer: cisplatin doublets only? *J Natl Compr Canc Netw.* 2008 Mar; 6(3): 277-84.
6. European Lung Cancer Working Party. Treatment of non-small cell lung cancer :advanced (metastatic) disea. Guidelines of clinical practice made by the European Lung Cancer Working Party. *Rev Med Brux.* 2007 Nov-Dec; 28(6): 495-511.
7. Kosaka T, Yatabe Y, Endoh H, Kuwano H, Takahashi T, Mitsudomi T, et al. Mutations of the EGFR gene in lung cancer: biological and clinical implications. *Cancer Res* 2004; 64: 8919-23.
8. Abel KJ, Xu J, Yin GY, Lyons RH, Meisler MH, Weber BL, et al. Mouse Brca1 localization sequence analysis and identification of evolutionarily conserved domains. *Hum Mol Genet.* 1995 DEC; 4(12): 2265-73.
9. Lynch TJ, Bell DW, Sordella R, Gurubhagaratula S, Okimoto RA, Brannigan BW, et al. Activating mutations in the EGFR under responsiveness of non-small cell lung cancer to gefitinib. *N Engl J* 2004; 350: 2129-39.
10. Paez JG, Janl PA, Lee JC, Tracy S, Greulich H, Gabriel S, et al. EGFR in lung cancer . Correlation with clinical response to gefitinib therapy. *Science* 2004; 304: 1497-500.
11. Therasse P, Arbuck SG, Eisenhauer EA, Wanders J, Kaplan RS, Rubinstein L, et al.. New guidelines to evaluate the response to treatment in solid tumors. *J Natl Cancer Inst.* 2000; 92: 205-16.
12. Pao W, Millar V, Zakowski M, Doherty J, Politi K, Sarkaria I, et al. EGFR gene mutations are common in lung cancer "never smokers" and are associated with sensitivity of tumor to gefitinib and erlotinib. *PNAS* 2004; 101: 13306-11.
13. Yatabe Y, Kosaka Y, Takahashi T, Mitsudom T. EGFR mutation is specific for terminal respiratory unit type adenocarcinoma . *AM J Surg Pathol* 2005; 29: 633-9.
15. Soung YH, Lee JW, Km SY, Seo SH, Park WS, Nam SW, et al. Mutational analysis of EGFR and K-RAS genes in lung adenocarcinomas. *Virchows Arch* 2005; 446(5): 483-8.