

11235



# UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA  
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO

INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL  
CENTRO MÉDICO NACIONAL SIGLO XXI  
HOSPITAL DE ONCOLOGÍA

EXPRESIÓN DE LA ENZIMA TELOMERASA COMO FACTOR  
PREDICTIVO DE RESPUESTA A QUIMIOTERAPIA DE PRIMERA  
LÍNEA CON GEMCITABINE/ CARBOPLATINO EN CÁNCER  
PULMONAR AVANZADO (IIIIB Y IV) DE CÉLULAS NO PEQUEÑAS.  
EN EL HOSPITAL DE ONCOLOGIA  
CENTRO MEDICO NACIONAL SIGLO XXI  
INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL

## T E S I S

PARA OBTENER EL TÍTULO DE LA DE ESPECIALIDAD DE:

**ONCOLOGÍA MÉDICA**

P R E S E N T A:

**DR. MIGUEL ÁNGEL PLUMA JIMÉNEZ**

**REGISTRO DEL COMITÉ LOCAL 53 HO 04**

ASESORES:

DR. HORACIO ASTUDILLO DE LA VEGA  
DR. JUAN ALEJANDRO SILVA



MÉXICO D. F.

OCTUBRE 2005

0350918



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

**ESTA TESIS NO DEBE  
SALIR DE LA BIBLIOTECA**



**DR. HORACIO ASTUDILLO DE LA VEGA**  
**ASESOR DE TESIS**

Adscrito al Laboratorio de Oncología Molecular  
Unidad de Investigación Médica en Enfermedades Oncológicas  
Hospital de Oncología Centro Médico Nacional Siglo XXI, IMSS.

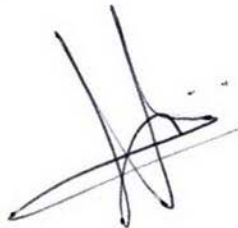


SUBDIVISIÓN DE ESPECIALIZACIÓN  
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO  
FACULTAD DE MEDICINA  
U.N.A.M.



**DR. JUAN ALEJANDRO SILVA**  
**ASESOR DE TESIS**

Profesor titular del Curso de Oncología Médica y Jefe del Servicio de Oncología Médica  
Hospital de Oncología Centro Médico Nacional Siglo XXI, IMSS.



**DR. MIGUEL ÁNGEL PLUMA JIMÉNEZ**  
**Medico residente de Oncología Médica**

Hospital de Oncología Centro Médico Nacional Siglo XXI, IMSS.



**DR. MARCOS GUTIERREZ DE LA BARRERA**  
**Director de educación e investigación en salud**

Hospital de Oncología Centro Médico Nacional Siglo XXI, IMSS.



**CENTRO MEDICO NACIONAL**  
**HOSPITAL DE ONCOLOGIA**  
**ENSEÑANZA E INVESTIGACION**

## AGRADECIMIENTOS

Autorizo a la Dirección General de Bibliotecas de la UNAM a difundir en formato electrónico e impreso el contenido de mi trabajo recaptional.

NOMBRE: Miguel Angel Pluma  
Sánchez

FECHA: 13-oct-2005

FIRMA: 

## **A DIOS**

¡GRACIASSSS SEÑOR!

PUES TE FIJASTE EN MI PARA REALIZAR UNA DE LAS  
ESPECIALIDADES QUE CONSUELA.

POR MANTENERME FIRME SOBRE LOS EMBATES DE NUESTRA  
VIDA.

POR TENERTE SIEMPRE COMO EL PODER DE SER Y COMO  
GUIA DE LA ESPERANZA.

POR AYUDARME A ENTENDER LO INFINITO QUE ERES CUANDO  
VEO LAS LIMITIACIONES DEL CONOCIMIENTO HUMANO.

PORQUE SIN TI, SIMPLEMENTE NO LO HABRIA LOGRADO.

AYUDAME A SER MEJOR CADA DIA, PARA NO DEFRAUDAR A  
LOS PACIENTES

**A MI ESPOSA**

**SRA. MINERVA POLVO HERNÁNDEZ**

PUES HA SIDO EL PILAR INQUEBRANTABLE QUE SOSTIENE MI  
VIDA PROFESIONAL DESDE YA VARIOS AÑOS.  
Y PORQUE ME HA ENSEÑADO A DAR TODO POR NADA.

¡ERES GENIAL!

**A MIS HIJOS**

**JOSUÉ IRVIN, JAZIEL Y SARA SINAI PLUMA POLVO**

PUES SON MI MOTIVACIÓN Y ALEGRIA.  
“LA VIDA ESTA LLENA DE SACRIFICIOS, ALGUNOS MAS QUE  
OTROS, ESPERO LOS NUESTROS DURANTE ESTE TIEMPO  
HAYAN PASADO DESAPERCIBIDOS”

¡LOS QUIERO MUCHO!

**A MIS PADRES**

**SR. APOLONIO PLUMA PLUMA**

PUES SU AYUDA EN LOS MOMENTO DIFÍCILES, HICIERON FACIL  
ESTA HISTORIA.

**SRA. CEFERINA JIMÉNEZ MELÉNDEZ**

DEBES ALEGRARTE, PORQUE SIEMPRE HE ESTADO CONTIGO.

**A MIS TIOS**

**EVARISTA, TOMASA, FELIPE Y BENJAMÍN PLUMA PLUMA**

PUES SUS CONSEJOS Y LA CONFIANZA DEPOSITADA EN MI, ME  
AYUDARON A SEGUIR Y NO DEFRAUDARLOS.



**A TODOS MIS AMIGOS QUE HAN QUERIDO QUE SEA MEJOR EN  
ESTA VIDA**

DRA. MA. DEL ROCIO TECHALOTZI CANO (MI COMADRE)  
DR. JIMMY MARTINEZ HERNÁNDEZ  
DR. CARLOS MELÉNDEZ VAZQUEZ  
DR. REYES PLUMA MENDIETA  
T. A. P. S. HICELDA VARGAS ANTONIO Y ESPOSO DR. TOMAS  
SINTA BERNAL  
EL GRUPO "NUEVA LUZ"  
DR. JAVIER GOMEZ  
DRA. CECILIA IRENE MARTINEZ ("CHUMPA")  
DRA. FLOR DE THE BUSTAMANTE VALLES  
DRA. ERICA CASTILLO GUTIERREZ  
DR. CARLOS ALBERTO RONQUILLO ("RONQUIVOY")  
DR. GUILLERMO OLIVARES BELTRÁN  
DRA. ERIKA RUIZ  
DR. ALFREDO JIMENEZ BOBADILLA Y A MIS DEMAS  
COMPAÑEROS RESIDENTES DE MEDICINA INTERNA  
LA LISTA SERIA INTERMINABLE, PERO GRACIAS A TODOS LOS  
QUE ME HAN AYUDADO

A MIS ASESORES

**DR. HORACIO ASTUDILLO DE LA VEGA**

POR SU GRAN CALIDAD DE PERSONA  
QUE A PARTE DE SER MI TUTOR, ME CONSIDERO SU AMIGO  
LA ADMIRACIÓN DE SU CAPACIDAD PROFESIONAL QUE LE  
TENGO ES ESTIMULANTE Y FUNDAMENTAL PARA QUERER  
CONOCER PARTE DE LA CIENCIA QUE GIRA SOBRE LA  
ONCOLOGIA  
Y PORQUE GRACIAS A SU CONFIANZA Y AYUDA REALIZAMOS  
ESTA TESIS

¡GRACIAS!

**DR. JUAN ALEJANDRO SILVA**

PUES SIEMPRE CONTE CON SU AYUDA PARA LA REALIZACION  
DE ESTA ESPECIALIDAD  
POR SU INTERES EN LA ENSEÑANZA DE SUS ALUMNOS, LOS  
RESIDENTES  
Y POR SU CONFIANZA DEPOSITADA EN MI

**A TODOS LOS MEDICOS Y PERSONAL DE ENFERMERIA  
DEL HOSPITAL DE ONCOLOGIA CENTRO MEDICO NACIONAL  
SIGLO XXI  
Y  
A LOS ADSCRITOS AL SEVICIO DE ONCOLOGIA MÉDICA**

ESTA TESIS SE LA DEDICO

**A TODOS AQUELLOS PACIENTES QUE PARTICIPARON EN ESTE  
ESTUDIO Y AQUELLOS QUE SUFREN POR CANCER.**

OJALA LAS INVESTIGACIONES PRONTO OFREZCAN  
RESULTADOS OPTIMOS PARA EL MANEJO DE ESTA  
ENFERMEDAD

“SIEMPRE HABRA UNA ESPERANZA PARA CONTROLAR EL  
SUFRIMIENTO”

**A LA MEMORIA DE MI ABUELITA**

**SRA. MICAELA PLUMA CRUZ  
(QUE DIOS ESTE CONTIGO)**

## **COLABORADORES**

**Servicio de Cirugía Oncológica de Tórax.**

**Dra. Myriam Silva. Médico adscrito al servicio de Oncología Médica. Hospital de Oncología Centro Médico Nacional Siglo XXI.**

**Dr. Ignacio Cancino Quiroz. Subjefe de Enseñanza Hospital de Oncología Centro Médico Nacional Siglo XXI.**

**Dr. Sebastián Castillo Medina. Laboratorio de Histología y Microscopia Electrónica UIMEO, Hospital de Oncología CMN, Siglo XXI, IMSS**

**Dra. Sonia Labastida Almendaro. Médico Bioestadista. Hospital de Oncología Centro Médico Nacional Siglo XXI, IMSS.**

**Dra. Isabel Alvarado. Jefe del departamento de Patología. Hospital de Oncología Centro Médico Nacional Siglo XXI.**

**El personal de enfermería del servicio de Oncología Médica. Hospital de Oncología Centro Médico Nacional Siglo XXI.**

**El personal de archivo. Hospital de Oncología Centro Médico Nacional Siglo XXI.**

---

**ÍNDICE**

	Pagina
I. RESUMEN.....	5
II. ANTECEDENTES.....	9
III. JUSTIFICACIÓN.....	19
IV. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	19
V. HIPÓTESIS.....	20
VI. OBJETIVOS.....	20
VII. MATERIAL Y MÉTODOS.....	21
VIII. ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	24
XIX. RESULTADOS.....	25
X. DISCUSIÓN.....	43
XI. CONCLUSIONES.....	46
XII. BIBLIOGRAFIA.....	47

**I. RESUMEN.** El cáncer pulmonar de células no pequeñas (CPCNP) es la neoplasia mas frecuente en el mundo y principal causa de muerte por cáncer. La quimioterapia (QT) es el tratamiento de elección en pacientes con enfermedad avanzada (EC IIIB y EC IV), para esta neoplasia la tasa de respuesta es baja, con una sobrevida no muy óptima y con una toxicidad considerable. Debido a que los factores pronósticos clínicos hasta ahora conocidos (etapa clínica, estado funcional y pérdida de peso entre otros) no son útiles como predictores de respuesta a los regímenes estándares basados en platino (quimio-resistencia y/o sensibilidad) surge la necesidad de identificar blancos moleculares predictores de respuesta a la QT y así ofrecer una terapia mas efectiva. Por lo anterior se deben considerar predictores moleculares como es el caso de la enzima telomerasa. La función de esta enzima esta implicada en la inestabilidad genómica, en la inhibición de la apoptosis e inmortalización de la célula neoplásica por la desregulación de los genes que la controlan, todos estos potenciales blancos de los fármacos anti-neoplásicos.

**OBJETIVO PRIMARIO:** conocer el valor predictivo de la expresión de la enzima telomerasa en pacientes con CPCNP en EC IIIB y IV tratados con gemcitabine 1 gr / m<sup>2</sup> de superficie corporal, días 1 y 8 más carboplatino (CBP) con un AUC de 5 en el día 1, cada 28 días, como quimioterapia de primera línea. Su tasa de respuesta clínica así como su toxicidad.

**MATERIAL Y MÉTODOS:** este estudio se realizó en el Hospital de Oncología Centro Médico Nacional Siglo XXI del 1 de abril al 30 de noviembre del 2004.

Criterios de inclusión. Etapas IIIB y IV de CPCNP, de género masculino o femenino, con espécimen tumoral para la confirmación histológica por patólogos del Hospital, edad mayor a 18 años y menor o igual a 80 años, ECOG  $\leq 2$ , con enfermedad medible según los criterios del RECIST (Response Evaluation Criteria in Solid Tumors), vírgenes a tratamiento citotóxico, biometría hemática con neutrófilos totales  $\geq 1500$ , Hemoglobina  $\geq 10$  mg / dl, plaquetas  $\geq 1000,000$ , depuración de creatinina  $\geq 40$  ml / minuto, y / o calculada por la formula de Cockcroft y Gault. Transaminasas y bilirrubinas no mayores al valor doble de lo normal.

Criterios de no inclusión. ECOG de 3 o 4, tratados previamente con radioterapia, con enfermedades co-mórbidas descontroladas o complicadas (p/e, diabetes mellitus, hipertensión arterial sistémica, insuficiencia renal, hepática, cardiaca, o deterioro neurológico).

**RESULTADOS:** se incluyeron un total del 17 pacientes con edad media de 61 años (rango 45 a 77 años), 9 (53%) del sexo masculino y 8 (47%) del femenino, 4 con EC IV (23%) y 13 con EC IIIB (77%) de los cuales 8 con derrame pleural (C/D). un paciente con ECOG de 0 (6%), 14 con ECOG de 1 (82%) y dos con ECOG de 2 (12%). La histología de adenocarcinoma en 12 pacientes (70%) y 5 con carcinoma epidermoide (30%).



Después de un número medio de 4.5 ciclos (rango 3 a 6) por paciente, 6 (35%) mantuvieron enfermedad estable (5 con EC IIIB de los cuales 4 C/D y 1 con EC IV), 5 (30%) lograron respuesta parcial del 30 al 50% (todos EC IIIB pero 1 C/D) y en 6 (35%) progreso la enfermedad, uno a nivel de parénquima contra lateral (EC IIIB C/D), otro a nivel local y a SNC (EC IV), y los otros 4 solo a nivel local (2 con EC IV y 2 con EC IIIB con derrame pleural). No hubo casos de respuesta completa por lo que la tasa de respuesta fue del 30%.

La toxicidad fue dada por astenia y náusea en el 30% (5 pacientes), trombocitopenia grado 2 en 1 paciente (6%) y como además presentó náusea grado 2 se decidió ajuste de dosis de CBP y gemcitabine (reducción del 10% de su dosis). Anemia grado 2 (12%) en otros 2 pacientes, neutropenia grado 2 (6%) en 1 paciente y en otro mucositis grado 1. No hubo diferimiento de ciclos.

La enzima telomerasa se determinó mediante el método AWS (average weighted score) para evaluar la expresión de manera semi-cuantitativa, utilizando la técnica de inmunohistoquímica, y como controles de expresión a tejidos conocidos por su expresión basal. Se utilizó un anticuerpo policlonal contra la fracción catalítica de la enzima en los especímenes tumorales. El análisis de expresión-respuesta se realizó en únicamente 11 pacientes, la suma del porcentaje de expresión (29.76) en los 4 pacientes con progresión de la enfermedad a nivel local comparado con los pacientes con respuesta parcial (8.85) se correlacionó en forma directa con la falta de respuesta.

**CONCLUSIONES:** La expresión elevada de la enzima telomerasa en los especímenes tumorales analizados, mostró una correlación directa con la falta de respuesta al régimen de manera estadísticamente significativa ( $p=0.045$ ), lo que



sugiere que la expresión de la enzima telomerasa es un potencial candidato para marcador de quimio-resistencia y de progresión de la enfermedad, si bien son pocos los casos en este estudio, este análisis justifica un estudio con un mayor número de casos.

La tasa de respuesta de dicho régimen de QT fue menor que el reportado con el mismo régimen en los días 1, 8 y 15 cada 28 días (30 vs 50%), y baja toxicidad hematológica. El seguimiento a largo plazo de estos pacientes para valorar el mantenimiento de la respuesta y la SVG en relación con el régimen, la expresión de la enzima y el comportamiento biológico de la enfermedad, podrían ofrecer una mayor información en este marco predictivo y así generar nuevas hipótesis sobre la expresión de la enzima telomerasa y su utilidad clínica.

## II. ANTECEDENTES

El cáncer pulmonar es la neoplasia más frecuente en el mundo y la principal causa de muerte por cáncer <sup>1,2</sup>. En el 2004 se estimó un diagnóstico de 173,700 casos nuevos y 164,440 muertes en Estados Unidos de América <sup>3</sup>. En México también ocupa la primera causa de mortalidad por cáncer desde 1980 <sup>4,5</sup> constituyendo un verdadero problema de salud pública.

Aunque la etiología es multifactorial, el tabaquismo es el principal factor de riesgo para su desarrollo <sup>6</sup> pues 87% de los casos al diagnóstico cursa con tabaquismo activo <sup>9</sup> y 1 de 9 fumadores puede desarrollar la enfermedad durante su vida. La carcinogénesis ambiental incluye al asbesto, al arsénico, el platino y el berilio<sup>7</sup>.

### DIAGNÓSTICO OPORTUNO

Si bien, la tomografía axial computarizada para la detección temprana de esta neoplasia en personas con tabaquismo parece incrementar el porcentaje de casos diagnosticados en etapa clínica (EC) I, los resultados de estudios aleatorizados aún no están disponibles para determinar su beneficio en la reducción de la mortalidad como prueba de tamiz <sup>8</sup>. Al menos la combinación de radiografía de tórax y el análisis citológico del esputo no ha mostrado una reducción significativa de la mortalidad en estudios aleatorizados durante los últimos 20 años <sup>9,10</sup>. Ante este panorama solo las políticas efectivas de salud

pública para prevenir el tabaquismo, el control de la adicción a la nicotina y la regulación adecuada de la industria tabaquera podrían tener resultados favorables en la prevención del cáncer pulmonar y en la subsecuente morbi-mortalidad.

## TIPOS HISTOLÓGICOS

La OMS ha dividido el cáncer pulmonar en 2 grandes grupos histológicos principales: carcinoma pulmonar de células pequeñas que comprende aproximadamente el 20% del total de la incidencia y el cáncer pulmonar de células no pequeñas (CPCNP) que ocupa el 75 a 80% restante, el cual incluye al adenocarcinoma, al carcinoma de células escamosas y al carcinoma de células grandes <sup>11</sup>.

## SOBREVIDA Y RESULTADOS DEL TRATAMIENTO

La sobrevida (SV) a 5 años esta inversamente relacionado con la EC al momento del diagnóstico y al mismo tiempo determina la elección del tratamiento, pacientes en etapa temprana (EC I y II) son candidatos a cirugía o en caso contrario radioterapia (RT) radical sola, desafortunadamente sólo el 20 a 30% de los casos se diagnostica en esta etapa (Tabla I) <sup>12,13</sup>. La enfermedad localmente avanzada resecable (ECIIIA) tiene una SV muy pobre pese a la mejoría con la quimioterapia (QT) pre-operatoria, semejante a la EC IIIB (tumores con diseminación intra-torácica no resecables o marginalmente resecables) <sup>14</sup> la cual se trata de manera concomitante con QT y RT si el estado funcional del paciente lo permite <sup>15</sup>.

## ENFERMEDAD LOCALMENTE AVANZADA NO RESECABLE (EC IIIB) y METASTASICA (IV)

El tratamiento de estos pacientes es con QT, sin esta la SV media (SVM) es de 4 a 5 meses y la SV a 1 año de tan solo el 10%, mientras con QT a base de cisplatino (CDDP) la SVM se prolonga a 8 meses y la tasa de SV a 1 año se aumenta a un 33%<sup>16</sup>.

## FACTORES PRONÓSTICOS

Hasta ahora, los factores clínicos predictores de SV de mayor interés y como factores de buen pronóstico son la etapa clínica (por TNM), el estado funcional (ECOG de 0,1 o 2), la pérdida de peso no mayor al 5% del peso corporal total al diagnóstico y el género femenino<sup>17</sup>. En contraste, con el avance de la biología molecular en los últimos años se han identificado varias alteraciones genéticas implicadas en la patogénesis del CPCNP<sup>18</sup>, como la sobre-expresión de ciertos oncogenes o la inactivación de genes supresores<sup>19</sup>, a los que se les ha tratado de dar un valor pronóstico y predictivo, sin embargo su papel en el tratamiento de la enfermedad avanzada dentro de la práctica clínica están aún por definirse<sup>20,21</sup>.

## QUIMIOTERAPIA ESTANDAR

Los regímenes de QT basados en CDDP son el tratamiento estándar, sustentado por los resultados de un meta-análisis realizado por el Grupo Cooperativo del CPCNP en 1995 <sup>22</sup>, el cual demostró que los regímenes de QT basados en CDDP aumentaron un 10% la SV absoluta a 1 año, redujeron el riesgo de muerte en un 27%, y prolongaron a 1.5 meses la SVM comparado con los mejores cuidados de soporte, diferencia que parece pequeña pero estadísticamente significativa. Con los nuevos citotóxicos: paclitaxel, docetaxel, gemcitabine, vinorelbine e irinotecan, incorporados a regímenes con CDDP o CBP en estudios aleatorizados fase III, se aumentó la tasa de respuesta y se amplió la SVM de 8 a 10 meses <sup>23</sup>. Pese a estos avances en el tratamiento de la enfermedad avanzada ninguna combinación en particular basada en CDPP ha demostrado superioridad en términos de eficacia en la mayoría de los grandes estudios aleatorizados, <sup>16,24</sup> y la combinación de 3 citotóxicos no ofrece superioridad, pero sí un incremento de la toxicidad <sup>25,26</sup>.

En resumen, la tasa de SV a 5 años del 8% al inicio de los 60's se aumentó a un 15% al principio de los 90's, con un tiempo medio para la progresión (TMP) de 4 a 6 meses y una tasa de SV a 1 año del 30 al 40% <sup>27,28</sup>.



## CDDP o CARBOPLATINO?

La eficacia terapéutica del CDDP comparada con el carboplatino (CBP) en CPCNP es aún punto de controversia, varios autores sugieren que CBP puede reemplazar al CDDP cuando el objetivo es la paliación <sup>29</sup>. CBP comparte un mecanismo común de acción con el CDDP como agente alquilante, pero con diferente farmacocinética y toxicidad limitante de dosis (menor toxicidad no hematológica y hematológica) <sup>30</sup>. Debido a su aceptable toxicidad y fácil administración el CBP se recomienda en pacientes con edad avanzada en sustitución del CDDP.

Sin embargo, la controversia aun no esta resuelta pues recientemente un meta-análisis con 1,191 reportes y 8 estudios (2,948 pacientes), de los cuales 5 investigaron regímenes que contenían CDDP más un nuevo agente, mostró que la QT basada en CDDP ofrece una tasa alta de respuesta pero sin ventaja significativa en la SV (hazard *ratio* = 1.050; 95% CI, 0.907 a 1.216; P = .515), con toxicidad por náusea y vómito mientras la trombocitopenia fue más frecuente en el grupo de CBP, pero sin diferencias significantes en la mortalidad relacionada al tratamiento. La conclusión es limitada debido a que varios resultados se tomaron de resúmenes de congreso <sup>31</sup>.

## GEMCITABINE MÁS CARBOPLATINO COMO TERAPIA DE PRIMERA LÍNEA EN ENFERMEDAD AVANZADA

Gemcitabine un análogo de la pirimidina, antimetabolito de la citarabina que una vez activado por la deoxicitidina cinasa, se incorpora dentro del DNA, inhibiendo a la exonucleasa y con ello la reparación del DNA. En estudios fase II, como agente único de primera línea se obtuvo una tasa de respuesta del 20%<sup>32,33</sup> logrando una buena paliación.

La combinación de CBP más gemcitabine ha sido explorada en esta neoplasia, los estudios iniciales que administraron gemcitabine en los días 1, 8 y 15, cada 28 días encontrando tasas altas de trombocitopenia (40 a 60%)<sup>34,35</sup>. La dosis máxima tolerada del CBP según el estudio Fase I de Carmichel's<sup>36</sup> se estableció con un AUC de 5.2 (mg/ml/min) al combinarlo con Gemcitabine.

Carrato et al.<sup>37</sup> administró CBP con una AUC de 5 en el día 1 y gemcitabine 1000 mg/m<sup>2</sup> de superficie corporal (SC) entre los días 1 y 8 (cada 21 días) obteniendo una tasa de respuesta del 37% y una toxicidad hematológica significativamente baja. Masotti et al.<sup>38</sup> Uso gemcitabine 1000 mg/m<sup>2</sup> SC en días 1, 8 y 15 más CBP con AUC de 5 en el día 2 cada 28 días, reportando una tasa de respuesta del 50% [(95% CI) 36-64.1%] con una duración media de 7 meses, SVM de 13 meses y una toxicidad aceptable.

Un estudio fase II<sup>39</sup> con 88 pacientes ancianos de edad media 74 años (rango 65-83) usando la dosis propuesta por Shibata et al.<sup>40</sup> para CBP (AUC de 4 en el día 1) y la de Castellano et al.<sup>41</sup> para gemcitabine (1000 a 1250 mg/m<sup>2</sup> SC

en los días 1 y 8, cada 21 días). Después de una media de 4 ciclos por paciente, se obtuvo una tasa de respuesta del 37.5%(IC 95%: 27.4 a 47.6) 3 pacientes con respuesta completa y 30 con respuesta parcial, 37.5% con enfermedad estable y 25% (22 pacientes) con progresión de la enfermedad, logrando una SVM de 9 meses con una tasa de SV a 1 año del 34% y un TMP de 8 meses. La toxicidad grados 3 y 4 según la OMS se presentó por: neutropenia en 13% de los ciclos, trombocitopenia y anemia in 4.5 y 14.7% de los pacientes en cualquier ciclo. No hubo muertes relacionadas al tratamiento. Por lo que la combinación de CBP y gemcitabine a estas dosis es óptima en pacientes con edad avanzada, pues ofrece una tasa de respuesta y SV dentro del rango de los regímenes más activos, con buena calidad de vida y toxicidad aceptable.

## BÚSQUEDA DE FACTORES PREDICTIVOS

Pese a estos avances en el tratamiento con QT para esta enfermedad el beneficio es limitado. En parte al poco conocimiento del comportamiento biológico tumoral y de su patogénesis molecular para identificar blancos terapéuticos dirigidos que ofrezcan mayor eficacia y por otra parte a la falta de factores predictivos de respuesta a la QT para seleccionar la terapéutica más efectiva. Los marcadores moleculares entonces son objeto de investigación en este marco, como el gen del retinoblastoma, Ki-67, p53, bcl-2 y K-ras, sin embargo su importancia clínica en relación a la progresión de esta enfermedad y a la respuesta del tratamiento citotóxico permanece incierto<sup>42-45</sup>.



## ENZIMA TELOMERASA COMO FACTOR PREDICTIVO

Se ha demostrado la expresión de la enzima telomerasa en la mayoría de los especímenes tumorales a diferencia de los tejidos adultos normales <sup>46,47</sup> y aunque en varias células somáticas humanas normales está suprimida, se reactiva durante la carcinogénesis, corroborado por la presencia de su actividad en el 80 a 90% de las neoplasias humanas <sup>48</sup>. Por lo anterior ha sido objeto de amplias investigaciones, tratando de mostrar su utilidad potencial como marcador diagnóstico (ámbito clínico) <sup>49</sup> y como blanco de intervenciones terapéuticas en el CPCNP debido a su presencia en el 78 a 96% de los casos <sup>50-52</sup>.

## FUNCIÓN Y ESTRUCTURA DE LA ENZIMA TELOMERASA

Varias células humanas se dividen en un número limitado de veces antes de entrar a la senectud (incapaces de divisiones futuras), en contraste, comúnmente las células neoplásicas tienen la habilidad de dividirse indefinidamente. Estas diferencias implican a los mecanismos por los cuales las células mantienen los 2 extremos de sus cromosomas conocidos como telómeros, del griego, *telo* para "extremo" y *mere* para "estructura" (Fig. 1 y 2) los cuales están constituidos por DNA especializado y por proteínas unidas al DNA, formando repeticiones longitudinales de un hexanucleótido (TTAGGG) de una sola

Cadena <sup>53,54</sup>. La presencia de telómeros distingue el extremo natural de los cromosomas lineales, de la ruptura aleatoria del DNA, que evita la fusión extremo-a-extremo no deseada o la degradación nucleolítica.

En cultivos celulares e *in vivo*, los telómeros se acortan cada vez que los cromosomas lineales se replican en cada ciclo celular, <sup>55,56,57</sup> y las células humanas normales se hacen seniles cuando tienen acortamientos teloméricos a una longitud crítica (<4 kilobases), esta senescencia ocurre para prevenir crisis (estado de inestabilidad cromosómica) o muerte celular que esta asociada al acortamiento excesivo de los telómeros (0 a 2 kb), dicho acortamiento durante la proliferación celular es el resultado de un desequilibrio entre este y la síntesis telomérica <sup>54</sup>. Las células troncales o de línea germinal y las células neoplásicas pueden mantener la longitud del telómero para prevenir senilidad e inestabilidad genómica por medio de 2 mecanismo hasta ahora identificados:

1. Por medio de la expresión de la enzima telomerasa, <sup>58</sup> vía principal, compuesta de 2 partes, de RNA que contiene una región que permite su unión al telómero y una proteína especializada transcriptasa reversa que usa la RNA telomerasa para polimerizar nuevo RNA telomérico y así mantener la extensión del telómero (Fig.3).

2. Vía alterna de alargamiento de los telómeros, al parecer usa intercambio de secuencias entre telómeros (recombinación) para mantener el alargamiento de los mismos <sup>59-61</sup>.

La enzima telomerasa es por lo tanto, un complejo de ribonucleoproteína celular que es sobre-regulada o activada en la mayoría de las neoplasias, <sup>46,48</sup>

cataliza la síntesis y la extensión de repeticiones TTAGGG teloméricas estabilizando la longitud del telómero,<sup>62</sup> fenómeno que detiene la pérdida normal del DNA telomérico y paso importante para la adquisición de la inmortalización celular (evidente durante la progresión tumoral), evitando además inestabilidad genómica<sup>47,63</sup>.

#### IMPLICACIONES CLINICAS DE LA ENZIMA TELOMERASA EN CPCNP

En lavado bronquial la expresión elevada de esta enzima se ha asociado con un pronóstico pobre en etapas tempranas<sup>64</sup>. Rosa González-Quevedo<sup>65</sup> reportó una actividad telomerasa elevada positiva en el 82% de casos con CPCNP, marcador determinante de mal pronóstico debido a su asociación a tumores pobremente diferenciados o por la recurrencia temprana de estos. Resultados semejantes<sup>51,66</sup> encontraron actividad elevada de esta enzima en CPCNP principalmente en los que tenían una tasa alta de proliferación celular y etapa patológica avanzada. En otro estudio, la expresión elevada de esta enzima se asoció con una pobre SV comparado con los de expresión baja de esta enzima ( $p=0.02$ )<sup>67</sup>.

### **III. JUSTIFICACION**

Debido a que los factores pronósticos clínicos hasta ahora conocidos en CPCNP no son útiles como predictores de respuesta a las terapias estándar basadas en platino (quimio-resistencia y/o sensibilidad), esta claro que para tratar de ofrecer al paciente una terapia optima (individualizada) sin llegar al sobretratamiento y a la toxicidad de un régimen no optimo, se debe intentar identificar blancos moleculares basados en su biología tumoral como predictores de respuesta. Como la enzima telomerasa, cuya función esta implicada en la inestabilidad genómica, inmortalización de la célula neoplásica e inhibición de la apoptosis, por lo que su actividad podría ser evaluada como un marcador predictivo de respuesta a la QT.

### **IV. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

¿Que valor predictivo de respuesta tiene la expresión de la enzima telomerasa en CPCNP avanzado (EC IIIB y IV) tratado con el régimen gemcitabine más CBP como quimioterapia de primera línea?

## **V. HIPÓTESIS**

La expresión elevada de la enzima telomerasa en CPCNP en EC IIIB y IV es un factor predictivo de respuesta a la quimioterapia de primera línea con gemcitabine más CBP.

## **VI. OBJETIVOS**

### **PRIMARIOS**

1. Conocer el valor predictivo de respuesta de la expresión de la enzima telomerasa en pacientes con CPCNP en EC IIIB y IV tratados con gemcitabine más CBP como quimioterapia de primera línea.

### **SECUNDARIOS**

1. Determinar la tasa de respuesta del régimen gemcitabine más CBP
2. Conocer su toxicidad.

## **DISEÑO DEL ESTUDIO**

Fue un estudio prospectivo, descriptivo, observacional y transversal.

## VII. MATERIAL Y MÉTODOS

El universo de pacientes se obtuvo de todos los que acudieron al Hospital de Oncología Centro Médico Nacional Siglo XXI con diagnóstico de CPCNP del 1 de abril al 30 de noviembre del 2004.

**CRITERIOS DE INCLUSIÓN.** Pacientes del género masculino o femenino, en etapas IIIB y IV de CPCNP, edad mayor a 18 años y menor o igual a 80 años, disponibilidad y firma del consentimiento informado para recibir QT y autorizar la manipulación de sus muestras patológicas, contar con espécimen tumoral (por biopsia, lavado bronquial por broncoscopia y/o líquido pleural) y confirmación histológica por patólogos del Hospital, ECOG  $\leq 2$ , con enfermedad medible según los criterios del RECIST (Response Evaluation Criteria in Solid Tumors), vírgenes a tratamiento citotóxico, biometría hemática con neutrófilos totales  $\geq 1500$ , Hemoglobina  $\geq 10$  mg/dl, plaquetas  $\geq 1000,000$ , depuración de creatinina  $\geq 40$  ml/minuto, y/o calculada por la formula de Cockcroft y Gault. Transaminasas y bilirrubinas no mayores al valor doble de lo normal.

**CRITERIOS DE NO INCLUSIÓN.** ECOG de 3 o 4, tratados previamente con radioterapia, con enfermedades co-mórbidas descontroladas o complicadas (p/e, diabetes mellitus, hipertensión arterial sistémica, insuficiencia renal, hepática, cardiaca, o deterioro neurológico).



**CRITERIOS DE ELIMINACIÓN.** Cuando se interrumpiera la dosis de gemcitabine y CBP por más de 7 días (pérdida de la dosis-intensidad). Que por cuestiones técnicas no se lograra determinar la expresión de la enzima telomerasa en el espécimen tumoral (para el análisis de expresión-respuesta).

**VISITA INICIAL.** Se realizó historia clínica, valoración clínica del estado funcional y la actividad tumoral (signos y síntomas), revisión de estudios de laboratorio y gabinete.

**VISITAS SUBSECUENTES.** Cada 21-24 días, valorando la mejoría clínica (signos y síntomas de la enfermedad), exploración física, revisión de los de estudios de laboratorio y gabinete según el caso.

**TRATAMIENTO DE LOS PACIENTES.** Primero se administró gemcitabine a una dosis de  $1 \text{ gr/m}^2$  SC, días 1 y 8 en 250 ml de solución salina al 0.9% en infusión IV durante 30 minutos, más CBP con un AUC de 5 en el día 1 en 250 ml de solución salina al 0.9% en infusión IV durante 30 minutos, con ciclos cada 28 días. Llegando a un máximo de 6 ciclos, pre-medicados para náusea y vómito con 8 mg de dexametasona y 8 mg de ondansetron.

**MEDICACIÓN CONCOMITANTE.** Los pacientes continuaron con sus medicamentos antihipertensivos e hipoglucemiantes orales, analgésicos de

acuerdo a la OMS, la medicación necesaria para el manejo de eventos adversos incluyendo transfusión de derivados sanguíneos u otras terapias de apoyo.

**TOXICIDAD.** La toxicidad se valoró según los criterios de la OMS en cada ciclo.

**DEFINICIÓN Y MEDICIÓN DE LA RESPUESTA.** Se realizó mediante los criterios del RECIST después del tercer ciclo o ante la sospecha clínica de progresión, en caso contrario después de un máximo de 6 ciclos. Considerando respuesta completa (RC) a la desaparición de todas las lesiones tumorales. Respuesta parcial (RP), disminución del tamaño tumoral igual o mayor del 30% en relación a las lesiones basales. Progresión de la enfermedad (PE) al incremento de las lesiones igual o mayor al 20% o aparición de nuevas lesiones. Enfermedad estable (EE), sin respuesta parcial pero tampoco progresión de la enfermedad. Tasa de respuesta (TR): suma de la RP y RC.

#### METODO PARA LA DETERMINACION DE LA ENZIMA TELOMERSA

Técnica de Inmunohistoquímica: se utilizó el sistema peroxidasa anti-peroxidasa, previa desparafinización de las laminillas en xileno, seguida por hidratación en etanoles (100-30%), bloqueo con suero de cerdo (1:100) e incubación del anticuerpo primario (anti-Telomerasa) por 2 hr a T° ambiente en cámara húmeda.

Posteriormente se adicionó el *Ab* linker y finalmente el complejo PAP,



usando como cromógeno diaminobenzidina, para producir un precipitado café insoluble.

Análisis de Resultados: Se realizó con un sistema de análisis de imagen (sistema de video-captura microscopio Olympus AX-70) para determinar la inmunolocalización y expresión, utilizando un sistema de clasificación de la intensidad de la reacción del cromógeno por el siguiente sistema: nula (0), disminuida (1), media (2) e incrementada (3) multiplicando el número asignado a cada una por el % de células tumorales positivas<sup>68</sup>.

## VIII. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Utilizamos estadística descriptiva evaluando en porcentajes a las variables cualitativas y en medidas de tendencia central y dispersión a las variables cuantitativas (representadas en graficas y cuadros). Debido al tamaño pequeño de la muestra se utilizó estadística no paramétrica. Para el análisis univariado de las variables cuantitativas y comparar dos muestras independientes se usó la prueba U de Mann-Whitney. Para las variables cualitativas la prueba exacta de Fisher's. Para al análisis multivariado se aplicó una regresión logística binaria con la variable dependiente (tipo de respuesta) y las covariables edad y porcentaje de expresión.

## IX. RESULTADOS

Se incluyeron un total de los 17 pacientes con mediana de edad de 61 años (rango 45 a 77 años), 9 (53%) del sexo masculino y 8 (47%) del femenino (Gráfica 1). 4 con EC IV (24%) y 13 con EC IIIB (76%) de los cuales 8 presentaron derrame pleural [C / D]. (Gráfica 2). En cuanto al estado funcional un paciente con ECOG de 0 (6%), 14 con ECOG de 1 (82%) y dos con ECOG de 2 (12%). La histología de adenocarcinoma se encontró en 12 especímenes tumorales (70%), moderadamente diferenciados en 8 y poco diferenciados en 3, otro se reporto como de células grandes poco diferenciado, 5 con carcinoma epidermoide (30%), de los cuales 2 poco diferenciado y 2 moderadamente diferenciado (Gráfica 3) y uno bien diferenciado. El número medio de ciclos administrados por paciente al momento de la evaluación fue de 4.5 (rango 3 a 6) sumando un total de 66 ciclos administrados. Solo a 11 casos se les pudo determinar expresión de la enzima telomerasa en los cuales se hizo el análisis de expresión-respuesta (Fig. 4). En los otros casos no se determinó debido a problemas técnicos durante el procesamiento de la muestra. 2 especímenes se obtuvieron por citología (derrame pleural y el otro por cepillado bronquial), 3 por biopsia endobronquial y los 6 restantes por biopsia pulmonar.

**RESPUESTA.** La evaluación de la respuesta se realizó por tomografía axial computarizada (TAC) en 16 pacientes (94%), y en 1 caso telerradiografía del tórax. En 6 pacientes (35%) se encontró EE (5 con EC IIIB de los cuales 4 C/D y 1

con EC IV), 5 (30%) con RP del 30 al 50% (todos EC IIIB pero 1 C/D) y 6 (35%) con PE, uno a nivel de parénquima contra lateral (EC IIIB C/D), otro a nivel local y a SNC (EC IV), y los otros 4 solo a nivel local (2 con EC IV y 2 con EC IIIB C/D). No hubo casos de RC (Gráfica 4), por lo que la TR fue del 30%. En la Tabla 2 se enumeran las características generales de los pacientes.

**TOXICIDAD Y AJUSTE DE DOSIS.** La principal toxicidad fue no hematológica, por astenia en 5 pacientes (30%) durante los primeros 4 ciclos de QT, náusea en 5 (30%) pacientes (3 grado 1 y 2 grado 2) en los primeros 3 ciclos, seguido de mucositis (6%) grado 1. Mientras la hematológica se dio por trombocitopenia grado 2 en 1 paciente (6%) después del primer ciclo (este paciente además presentó náusea grado 2) por lo que se decidió ajuste de dosis de CBP y gemcitabine (reducción del 10% de su dosis). Anemia grado 2 en otros 2 pacientes (12%) ameritando transfusión de una unidad de concentrado eritrocitario, 1 paciente (6%) con neutropenia grado 2 (Gráfica 5). No hubo diferimiento de ciclos.

**EXPRESIÓN DE LA ENZIMA TELOMERASA Y RESPUESTA.** La suma del porcentaje de expresión en los 4 pacientes con RP fue de 4.57, en los 3 pacientes con EE de 8.85 y en los de PE de 29.76. La EC IV se encontró en 3 pacientes (27.3%) y en 8 EC IIIB (72.7%). En la Tabla 3 se muestran las características de estos pacientes y en la gráfica 6, 7 y 8 su porcentaje de expresión y correlación con la respuesta.

Al realizar la tabla de frecuencias se determinó la mediana del porcentaje de expresión de la enzima telomerasa (1.90) y se identificó también su valor mínimo

(0.57) y máximo (14.99). Se establecieron dos grupos de pacientes, los que respondieron (36%) donde se incluyó a los 4 pacientes con RP, y los que no respondieron (64%) de los cuales 3 presentaron EE y 4 PE (64%). Usando la prueba exacta de Fisher's para el análisis univariado de las variables cualitativas comparando la EC y el tipo de respuesta, la EC IV respondió menos que la EC IIIB ( $p= 0.212$ ). Al formar un grupo con un valor  $> 2$  del porcentaje de expresión de la enzima (45.5% de los casos) y otro con un valor  $\leq 2$  (54.4%), los 5 pacientes que integraron el primer grupo no respondieron y en el segundo, 4 pacientes sí respondieron y 2 no. Así, el grupo  $>2$  tuvo menor probabilidad de respuesta al régimen, comparado con el grupo  $\leq 2$  de manera estadísticamente significativa ( $p= 0.045$ ). La inferencia clínica es que, a mayor expresión de la enzima telomerasa, menor probabilidad de respuesta y PE.

En el análisis sexo-respuesta no se encontraron diferencias estadísticamente significantes ( $p= 0.652$ ). Para comparar las variables edad y el porcentaje de expresión se usó la prueba U de Mann-Whitney, y no se encontró diferencia estadísticamente significativa para la edad ( $p= 0.412$ ), pero sí para el porcentaje de expresión ( $p= 0.042$ ). Al incluir edad, sexo, EC y porcentaje de expresión de la enzima al modelo de regresión logística binaria para comparar solo EC (con un valor  $\beta$  de 58.46) y el porcentaje de expresión de la enzima (-22.50), se encontró una diferencia estadísticamente significativa para la EC ( $p= 0.005$ ) y para el porcentaje ( $p= 0.001$ ), es decir, se corrobora que a menor porcentaje de expresión se tiene más probabilidad de respuesta y con una EC más avanzada menor probabilidad de respuesta

Por otra parte y de manera aislada, cabe mencionar que un paciente tuvo expresión elevada de la enzima (4.89) en relación a los de PE y presentó EE, mientras otro paciente no presentó expresión elevada (1.90) y progresa su enfermedad.

**TABLAS, FIGURAS Y GRÁFICAS****Tabla I.**

ETAPA CLINICA	TASA DE SV A 5 AÑOS CON CIRUGÍA POTENCIALMENTE CURATIVA
IA	67%
IB	57%
IIA	55%
IIB	39%
IIIA	23%



## TABLAS, FIGURAS Y GRÁFICAS

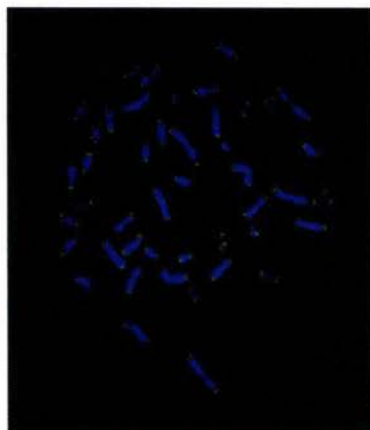


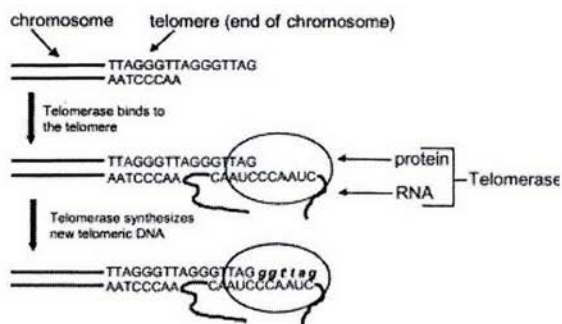
Fig. 1. Cromosomas humanos en metafase, donde en sus extremos se observan los telómeros



Fig. 2. (Protección de los Telómeros). Proteína de *S. pombe* unida al DNA telomérico de cadena-sencilla (GGTTAC). Dos vistas de su estructura por cristalografía de rayos X (Lei et al., 2003). Las seis bases están unidas como 3 pares ancladas; las flechas indican la unión principal de los pares (GG) en 5'.

## TABLAS, FIGURAS Y GRÁFICAS

Figura 3



**Fig. 3.** Simplificación de cómo la enzima telomerasa mantiene el telómero. La proteína que contiene RNA se complementa con repeticiones teloméricas TTAGGG, permitiendo a la telomerasa unirse al telómero. La proteína transcriptasa reversa usa la RNA telomerasa como sustrato para polimerizar nuevas repeticiones TTAGGG teloméricas.



## TABLAS, FIGURAS Y GRÁFICAS

Gráfica 1



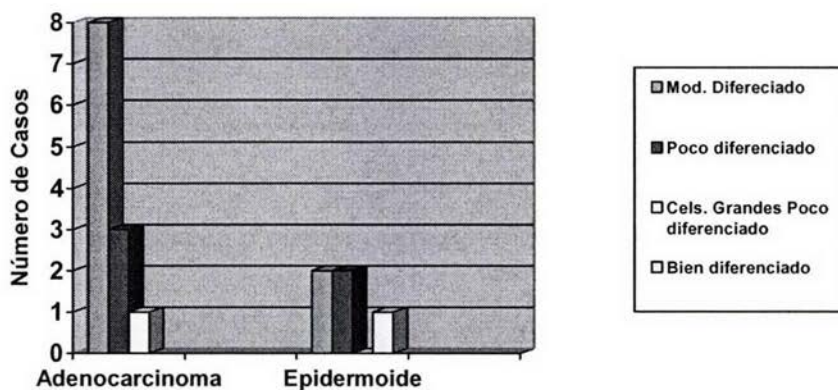
Gráfica 2



## TABLAS, FIGURAS Y GRÁFICAS

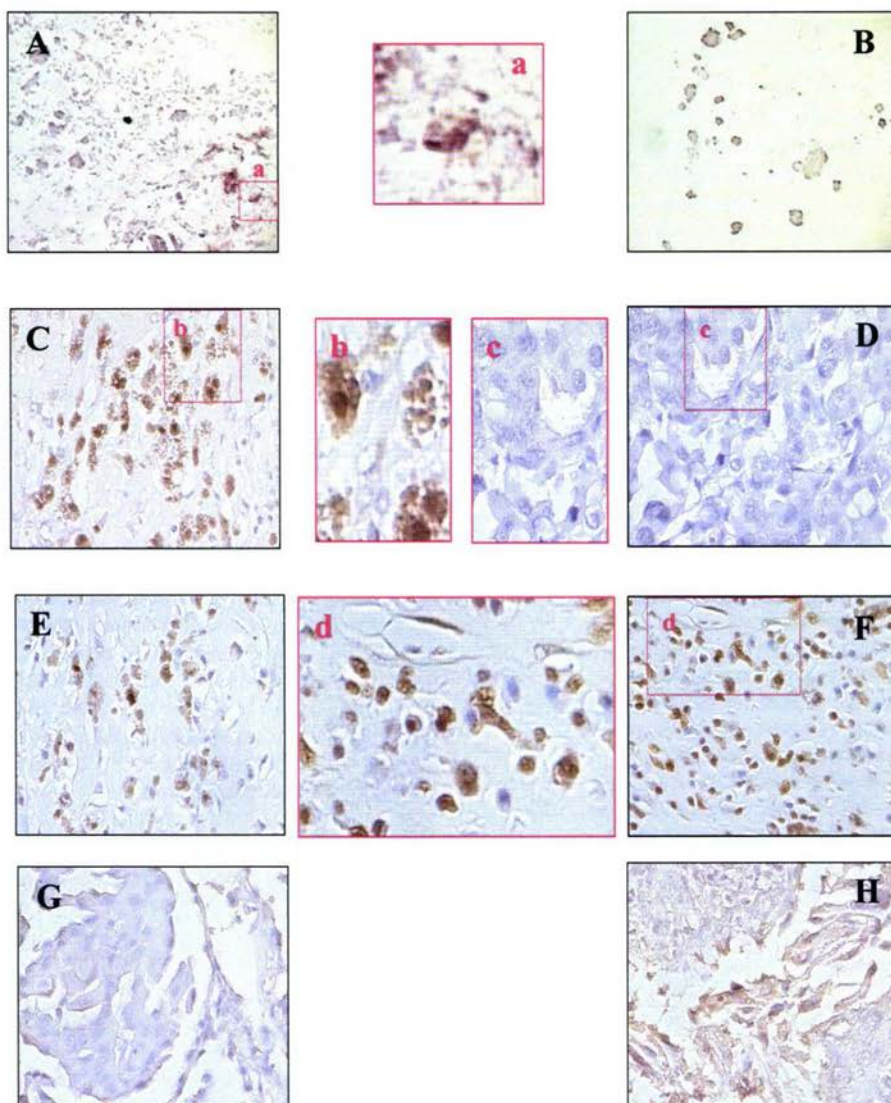
Gráfica 3

## GRUPOS HISTOLÓGICOS



## TABLAS, FIGURAS Y GRÁFICAS

Fig. 4

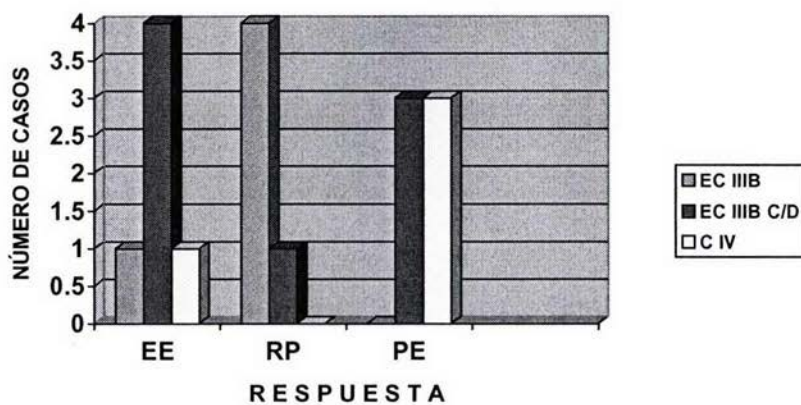


**Figura 4.- Inmunohistoquímica de las lesiones tumorales para la proteína Telomerasa.**

Se observa producto de reacción positiva nuclear (A) en células aisladas para la enzima telomerasa en corte histológico de adenocarcinoma broncogénico (a). Se aprecia producto de reacción en grupos celulares aislados de predominio citoplasmico (B). Micrografía que muestra (C) grupos celulares que presentan producto de reacción intensa tanto en núcleo como en citoplasma (b). Imagen que muestra (D) tejido negativo a la detección de enzima telomerasa (c). Biopsia con diagnóstico de adenocarcinoma broncogénico que muestra reacción positiva para telomerasa en nucleolo, nucleolema y citoplasma (E). Micrografía de biopsia de adenocarcinoma broncogénico (F) con poblaciones heterogéneas positivas y negativas a telomerasa con producto reacción de predominio nuclear (d). Biopsia de adenocarcinoma broncogénico negativa a telomerasa (G). Biopsia con leve reacción a telomerasa en algunas células de la muestra (H).

## TABLAS, FIGURAS Y GRÁFICAS

Gráfica 4

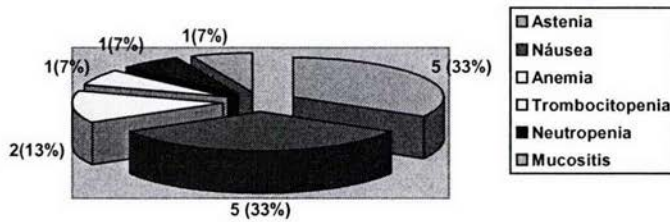
RESPUESTA CON EL REGIMEN GEMCITABINE-  
CARBOPLATINO

Edad/ Sexo (años)	EC	ECOG	HISTOLOGIA	(n=) CICLOS	ESTUDIO DE IMAGEN	TIPO DE RESPUESTA	EXPRESION DE LA ENZIMA TELOMERASA
56 M	IIIB C/ D	1	Adenocarcinoma Poco diferenciado	4	TAC	Estatismo	No se realizo
47 M	IIIB C/ D	1	Adenocarcinoma Mod. Diferenciado (Biopsia pulmonar por Toracotomia)	6	TAC	Estatismo	
77 M	IV	1	Epidermoide (Biopsia de parenquima pulmonar)	4	TAC	Estatismo	
51 M	IIIB S/ D	1	Carcinoma Epidermoide poco diferenciado	4	TAC	Parcial 30%	No se realizo
49 F	IV	1	Adenocarcinoma Mod. Diferenciado (Biopsia pulmonar)	4	TAC	Progresión local	
62 F	IIIB C/ D	1	Adenocarcinoma Poco diferenciado	6	TAC	Estatismo	No se realizo
62 F	IIIB C/ D	1	Adenocarcinoma Mod. Diferenciado (Biopsia pulmonar incisional)	3	TAC	Parcial	
45 M	IIIB C/ D	1	Adenocarcinoma Poco diferenciado (Biopsia pulmonar por fluoroscopia)	3	TAC	Progresión local	
57 F	IIIB	1	Epidermoide Mod. Diferenciado (Biopsia bronquialpor broncoscopia)	3	TAC	Estatismo	
69 M	IIIB C/ D	0	Células grandes Poco diferenciado	3	TAC	Estatismo	No se realizo
67 F	IIIB	1	Adenocarcinoma Mod. Diferenciado (Biopsia pulmonar por Toracotomia)	3	TAC	Parcial del 50%	
67 F	IV	1	Adenocarcinoma Mod. diferenciado	5	TAC	Progresión a SNC y local	No se realizo
64 M	IIIB	1	Epidermoide poco diferenciado (Biopsia bronquial por broncoscopia)	3	TAC	Parcial del 50%	
73 M	IIIB C/ D	2	Adenocarcinoma Mod. Diferenciado (Citología de liquido Pleural)	3	Tele de Tórax	Progresión Local	
67 F	IIIB C/ D	1	Adenocarcinoma Mod. Diferenciado	4	TAC	Progresión Pulmón contralateral	No se realizo
72 F	IV	1	Adenocarcinoma Mod. Diferenciado (Cepillado bronquial)	4	TAC	Progresión Local	
77 M	IIIB	2	Carcinoma Epidermoide Mod diferenciado (Biopsia bronquial)	4	TAC	Parcial del 30%	37



## TABLAS, FIGURAS Y GRÁFICAS

Gráfica 5

TOXICIDAD DEL REGIMEN GEMCITABINE-  
CARBOPLATINO

## TABLAS, FIGURAS Y GRÁFICAS

### Tabla 3

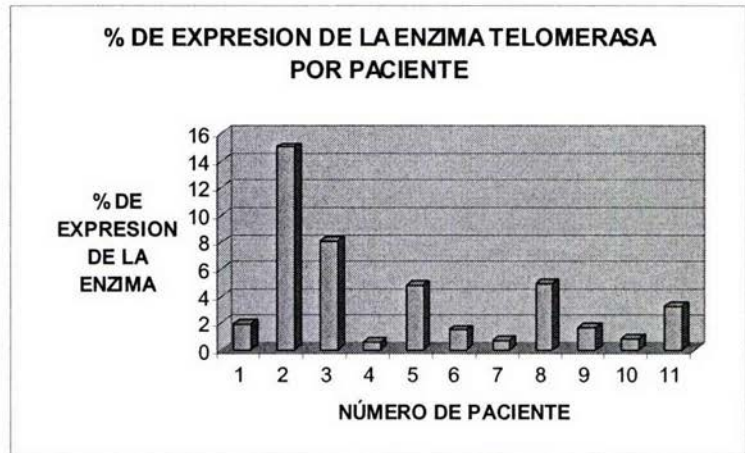
**EDAD, SEXO, EC, No. DE CICLOS DE QT, HISTOLOGIA, PORCENTAJE DE EXPRESION DE LA ENZIMA TELOMERASA Y TIPO DE RESPUESTA.**

n. PACIENTE	EDAD (años)	SEXO	EC	HISTOLOGIA	(n=) CICLOS	EXPRESION (%) DE LA ENZIMA TELOMERASA	TIPO DE RESPUESTA
1	49	F	IV	Adenocarcinoma Mod. Diferenciado (Biopsia pulmonar)	4	1.905	Progresión local
2	45	M	IIIB C/ D	Adenocarcinoma Poco diferenciado (Biopsia pulmonar por fluoroscopia)	3	14.987	Progresión local
3	73	M	IIIB C/ D	Adenocarcinoma Mod. Diferenciado (Citología de líquido Pleural)	3	8.072	Progresión Local
4	62	F	IIIB C/ D	Adenocarcinoma Mod. Diferenciado (Biopsia pulmonar incisional)	3	0.572	Parcial
5	72	F	IV	Adenocarcinoma Mod. Diferenciado (Cepillado bronquial)	4	4.794	Progresión Local
6	67	F	IIIB	Adenocarcinoma Mod. Diferenciado (Biopsia pulmonar por Toracotomía)	3	1.501	Parcial del 50%
7	77	M	IV	Epidermoide (Biopsia de parenquima pulmonar)	4	0.736	Estatismo
8	57	F	IIIB	Epidermoide Mod. Diferenciado (Biopsia bronquial por broncoscopia)	3	4.899	Estatismo
9	64	M	IIIB	Epidermoide poco diferenciado (Biopsia bronquial por broncoscopio)	3	1.703	Parcial del 50%
10	77	M	IIIB	Carcinoma Epidermoide Mod diferenciado (Biopsia bronquial)	4	0.798	Parcial del 30%
11	47	M	IIIB C/ D	Adenocarcinoma Mod. Diferenciado (Biopsia pulmonar por Toracotomía)	6	3.215	Estatismo

## TABLAS, FIGURAS Y GRÁFICAS

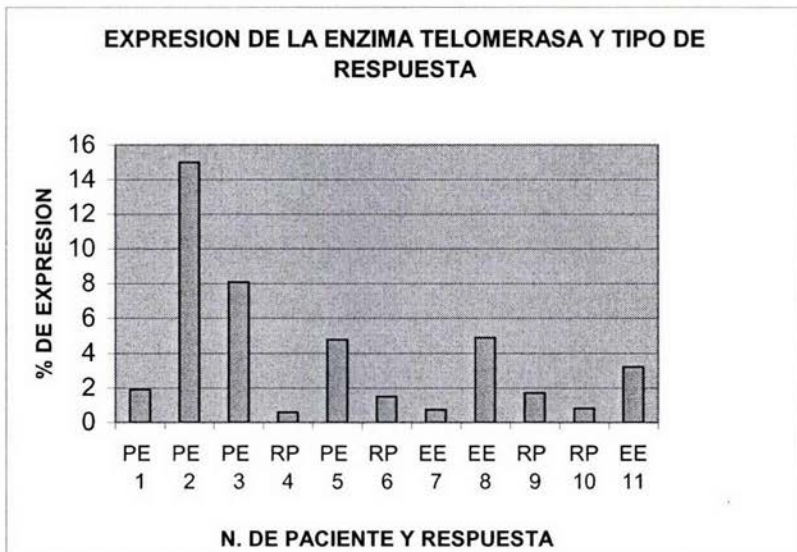
Gráfica 6

n. pacientes	% de la enzima telomerasa
1	1.90592448
2	14.9879557
3	8.07291667
4	0.57226563
5	4.79459635
6	1.50130208
7	0.73665365
8	4.89941406
9	1.70345052
10	0.79817708
11	3.21516927



## TABLAS, FIGURAS Y GRÁFICA

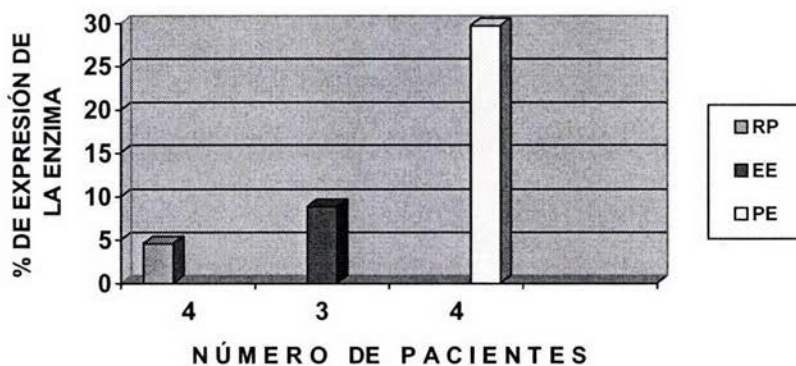
Gráfica 7



## TABLAS, FIGURAS Y GRÁFICA

Gráfica 8

**CORRELACIÓN DEL % DE EXPRESIÓN DE LA ENZIMA  
TELOMERASA Y LA RESPUESTA CON EL REGIMEN  
GEMCITABINE-CARBOPLATINO**



## X. DISCUSIÓN

En este estudio el régimen de gemcitabine a 1 gr/m<sup>2</sup> SC, días 1 y 8 y CBP con un AUC de 5 en el día 1 con ciclos cada 28 días, empleado en el Hospital de Oncología CMN SXXI logró una EE del 35% y una RP del 30%, pero la PE se presentó en el 35% de los casos. TR menor a la PE (30% vs. 35%). Mientras otros estudios con el esquema mayormente utilizado de gemcitabine a 1 gr/m<sup>2</sup> SC, días 1, 8 y 15 más CBP a un AUC de 5.2 en el día 1 con ciclos cada 28 días<sup>36,69</sup> han obtenido una TR del 50%, pero la trombocitopenia grado 3 ó 4 fue frecuentemente elevada. Sin embargo Jovtis *et al.*<sup>70</sup> reportó una TR de 51% y menor toxicidad hematológica grado 3 ó 4. Por su parte Carrato *et al.*<sup>35</sup> con la misma dosis de gemcitabine 1000 mg/m<sup>2</sup> SC pero CBP a un AUC de 5 cada 28 días, reportó una TR del 45% y trombocitopenia 3 ó 4 en el 97%. Cuando emplearon la misma dosis de gemcitabine pero en días 1 y 8 cada 21 días reportaron similar respuesta (48%). Por otra parte, estudios fase II y III evaluaron la combinación de gemcitabine 1000 a 1250 mg/m<sup>2</sup> SC días 1 y 8 y CBP con AUC de 5 a 6 cada 21 días<sup>35, 71-75</sup> y reportaron una TR del 26 al 55%, la tasa de trombocitopenia grado 3 ó 4 fue de 9.4 a 62%, mientras la neutropenia grado 3 o 4 del 11 al 80%.

Partiendo de estos resultados, se encontró que el régimen empleado en este estudio tiene una TR (30%) inferior a la reportada con el régimen en los días 1, 8 y 15 (TR de hasta del 50%) que tiene como inconveniente su elevada tasa de toxicidad hematológica predominantemente trombocitopenia, contrastando con la trombocitopenia grado 2 en el 6% (1 paciente), y 12% de anemia grado 2 del



régimen en cuestión. La mayor toxicidad fue por astenia (30%) y náusea (30%), pero en ningún caso hubo diferimiento de ciclos.

También llama la atención el número de pacientes (6) con PE (36%), pues la PE en otros estudios ha sido del 25%<sup>39</sup> por lo que el seguimiento para valorar la duración de la respuesta y la SVG a largo plazo ofrecerá mas datos sobre la efectividad. Aunque cabe mencionar que algunos estudios no demostraron diferencias significativas en la SVG con el régimen de gemcitabine en los días 1, 8 y 15 cada 28 días.

En cuanto a la respuesta y su relación con la expresión de la enzima telomerasa, se encontró que a mayor porcentaje de expresión se obtiene una menor respuesta de manera estadísticamente significativa ( $p=0.045$ ). Ejemplificado en los pacientes con PE a nivel local (sumando un porcentaje de expresión de 29.76) comparado con los pacientes con RP (porcentaje de 8.85).

De este fenómeno se deduce lo siguiente, debido a que esta enzima estabiliza la longitud del telómero<sup>62</sup> al detener la pérdida normal del DNA telomérico, se promueve la inmortalización celular cuya traducción clínica es la progresión tumoral.<sup>47,63</sup> La reactivación de la enzima telomerasa durante la carcinogénesis es un paso crucial para la proliferación tumoral, permitiendo a las células escapar de la senescencia de manera indefinida. Estos hallazgos, sugieren que el telómero y la enzima telomerasa podrían ser blancos terapéuticos en el cáncer PCNP, en particular con este régimen terapéutico. Por otra parte, también se ha demostrado que los pacientes con tumores telomerasa positivos tienen un periodo de SV significativamente corto comparado con los tumores telomerasa negativo<sup>76</sup>.

En cuanto al paciente que tuvo expresión elevada de la enzima en relación a los de PE y presento EE, mientras que otro no presento expresión elevada y progresó su enfermedad. Quizás el saber que esta enzima esta presente en el 78 a 96% de los casos con CPCNP<sup>50-52</sup> y que hasta un 82%<sup>65</sup> puede tener actividad telomerasa positiva elevada y que en una minoría no se relaciona con un mal pronóstico, puede explicar en parte estos hallazgos. Sin embargo, por otra parte también se sabe que la inestabilidad genómica de la célula tumoral esta presente durante la progresión neoplásica temprana, fenómeno que coincide con actividad baja de la enzima telomerasa, y a medida que continua la progresión de la enfermedad se reactiva esta enzima para mantener los telómeros ó a través de la vía alterna, pero la inestabilidad genómica continua a una tasa moderada, y las mutaciones posteriores presumiblemente son resultado de mecanismos no basados en la enzima telomerasa<sup>77</sup> pues la activación espontánea de esta enzima durante la inestabilidad genómica dificilmente estabiliza y permite el mantenimiento de la reestructuración del genoma para conferir capacidad regenerativa indefinida<sup>57</sup>. Estas aseveraciones podrían explicar la disparidad aislada entre la actividad elevada de esta enzima y la no PE, y viceversa. Además es probable que los cánceres con buen pronóstico no posean gran número de cambios genéticos como resultado de la disfunción del telómero, hecho que se observa con el mejor pronóstico y respuesta a la terapia en las neoplasias hematopoyéticas en comparación con las epiteliales, debido a que los tumores sólidos experimentan una fase de daño al DNA como parte de su historia natural.

Esta fase obligadamente da como resultado la desactivación de los puntos de control por daño al DNA, permitiendo la supervivencia de las células cancerosas y

su resistencia a una gran variedad de terapias cuyo mecanismo es inducir daño al DNA <sup>77</sup>. De esta manera si bien, la actividad de la enzima telomerasa esta involucrada en el proceso de envejecimiento celular, carcinogénesis, progresión tumoral y apoptosis, los mecanismos que la regulan y su implicación en estos procesos así como dentro de la quimio-resistencia o quimio-sensibilidad, aún son inciertos.

## **XI. CONCLUSIONES**

La actividad elevada de la enzima telomerasa en los especimenes tumorales mostró correlación directa con la falta de respuesta al régimen de gemcitabien más CBP de manera estadísticamente significativa ( $p= 0.045$ ), siendo marcador de quimio-resistencia y de progresión de la enfermedad, aunque sabemos que son pocos los casos en este estudio.

La tasa de respuesta de dicho régimen de QT fue menor que el reportado con el mismo régimen en los días 1, 8 y 15 cada 28 días (30 Vs 50%), y baja toxicidad no hematológica. El seguimiento a largo plazo de estos pacientes para valorar el mantenimiento de la respuesta y la SVG en relación con el régimen, la expresión de la enzima y el comportamiento biológico de la enfermedad, podría dar más información en este marco y generar nuevas hipótesis sobre la enzima telomerasa. Se requieren más estudios para determinar el valor predictivo de esta enzima, así como sus mecanismos de acción.



## XII. BIBLIOGRAFIA.

1. Howe HL, Wingo PA, Thun MJ, et al. Annual report to the nation on the status of cancer (1973 through 1998), featuring cancers with recent increasing trends. *J Natl Cancer Inst* 2001; 93:824- 42.
2. Singh GK, Miller BA, Hankey BF. Changing area socio-economic patterns in US cancer mortality, 1950-1998: part II \*/ lung and colorectal cancers. *J Natl Cancer Inst* 2002; 94: 916-25.
3. Spira A, Ettinger DS. Multidisciplinary Management of Lung Cancer. *N Engl J Med* 2004; 350:379-92.
4. Lazcano PEC, Tovar GV, Meneses GF, Rascón PRA, Hernández AM. Trends of lung cancer mortality in Mexico. *Arch Med Res*, 1997; 28: 565-570.
5. Tovar-Guzmán VJ, Barquera S, López-Antuñano FJ. Tendencias de mortalidad por cánceres atribuibles al tabaco en México. *Salud Publica Mex* 2002; 44 supl 1:S20-S28.
6. Peto R, Lopez AD, Boreham J, Thun M, Heath C Jr, Doll R. Mortality from smoking worldwide. *Br Med Bull* 1996;52: 12-21
7. Miller Y, Fain P, Genetic Susceptibility to Lung Cancer. *SEMINARS IN RESPIRATORY AND CRITICAL CARE MEDICINE/VOLUME 24, NUMBER 2 2003*
8. Mulshine JL, Sullivan DC. Lung Cancer Screening. *N Engl J Med* 2005; 352:2714-20.
9. Fontana RS. The Mayo Lung Project: a perspective. *Cancer* 2000; 89: Suppl: 2352-5.
10. Humphrey LL, Teutsch S, Johnson M. Lung cancer screening with sputum cytologic examination, chest radiography, and computed tomography: an update for the U.S. Preventive Services Task Force. *Ann Intern Med* 2004; 140:740-53.
11. Travis WD, Colby TV, Corrin B, Shimosato Y, Brambilla E. In Sobin LH, ed. *World Health Organization International Classification of Tumors. Histological Typing of Lung and Pleura*. New York, Springer Verlag, 1999.
12. Mountain CF, Revisions in the International System for Staging Lung Cancer. *Chest* 1997; 111:1710-1717.
13. Van Res MT, de la Riviere AB, Elbers HR, et al. Prognostic assessment of 2,361 patients who underwent pulmonary resection for non-small cell lung cancer, stage I, II and IIIA. *Chest* 2000; 117; 374-379.
14. CONFERENCE Surgical outcomes of N2 and T3-4 non-small cell. lung cancer. *Lung Cancer* (2003);42 :S23-S28
15. Johan F vansteenkiste. *Expert Rev Anticancer Ther* 2004; 4(1):5-17.
16. Schiller JH, Harrington D, Belani CP, et al. Comparison of four chemotherapy regimens for advanced non small cell lung cancer. *N Engl J Med* 2002; 346(2):92-98.
17. Finkelstein DM, Ettinger DS, Rucksdeschel JC. Long termed survivors in metastatic non-small-cell lung cancer: an Eastern Cooperative Group Study. *J Clin Oncol* 1986; 4(5):702:709.
18. Petersen I, Bujard M, Petersen S, et al .Patterns of chromosomal imbalances in adenocarcinoma and squamous cell carcinoma of the lung. *Cancer Res* 1997, 57, 2331 -2335.
19. F.Grossi ,M.Loprevite ,M.Chiaramondia , et al. Prognostic significance of K-ras, p53, bcl-2, PCNA, CD34 in radically resected non-small cell lung cancers. *European Journal of Cancer* 39 (2003)1242 .1250

20. Vanesa Gregorc, Vienna Ludovini, Lorenza Pistola, et al. Relevance of p53, bcl-2 and Rb expression on resistance to cisplatin-based chemotherapy in advanced non-small cell lung cancer. *Lung Cancer* 39 (2003) 41-48.
21. Decaussin M, Sartelet H, Robert C, et al: Expression of vascular endothelial growth factor (VEGF) and its two receptors (VEGF-R1-Flt1 and VEGF-R2-Flk1/KDR) in non-small cell lung carcinomas (NSCLCs): Correlation with angiogenesis and survival. *J Pathol* 188:369-377, 1999
22. Non-small Cell Lung Cancer Collaborative Group. Chemotherapy in non-small cell lung cancer: a meta-analysis using updated data on individual patients from 52 randomized clinical trials. *Br Med J* 1995; 311: 899-909.
23. Souquet PJ, Chauvin F, Boissel JP, et al. Polychemotherapy in advanced non-small cell lung cancer: a meta-analysis. *Lancet* 1993; 342:19-21.
24. Scagliotti GV, De Marinis F, Rinaldi M, et al. Phase III randomized trial comparing three platinum-based doublets in advanced non small cell lung cancer. *Proc Am Soc Clin Oncol* 2001; 19:1227a.
25. Greco FA, Gray JR Jr, Thompson DS, et al: Prospective randomized study of four novel chemotherapy regimens in patients with advanced nonsmall cell lung carcinoma: A Minnie Pearl cancer research network trial. *Cancer* 95: 1279-1285, 2002
26. Masutani M, Akusawa H, Kadota A, et al: A phase III randomized trial of cisplatin plus vindesine versus cisplatin plus vindesine plus mitomycin C versus cisplatin plus vindesine plus ifosfamide for advanced non-small-cell lung cancer. *Respirology* 1:49-54, 1996
27. Kris MG, Cohen E, Gralla RJ. An analysis of 134 phase II trials in non-small cell lung cancer (NCSLC). In: *Proceedings of the Fourth World Conference on Lung Cancer*, vol.4. 1985. p. 39 [abstract].
28. National Comprehensive Cancer Network. *Clinical Practice Guidelines in Oncology. Non-Small Cell Lung Cancer*. ©2005.
29. Lokich J, Anderson N. Carboplatin versus cisplatin in solid tumors: an analysis of the literature. *Ann Oncol* 1998; 9:13-21.
30. Gatzemeier U, Heckmayr M, Hossfeld DK, Zschaber R, Achterrath W, Lenaz L. Phase II study of carboplatin in untreated, inoperable non-small-cell lung cancer. *Cancer Chemother Pharmacol* 1990; 26:369-72.
31. Hotta K, Matsuo K, Ueoka H, et al. Meta-Analysis of Randomized Clinical Trials Comparing Cisplatin to Carboplatin in Patients With Advanced Non-Small-Cell Lung Cancer. *J Clin Oncol* 2004; 22: 3852-3859.
32. Anderson H, Lund B, Bach F, Thatcher N, Walling J, Hansen HH. Single agent activity of weekly gemcitabine in advanced non-small cell lung cancer: a phase II study. *J Clin Oncol* 1994; 12:1821-6.
33. Abratt RP, Bezwoda WR, Falkson G, Goedhals L, Hacking D, Rugg TA. Efficacy and safety profile of gemcitabine in non-small cell lung cancer: a phase II study. *J Clin Oncol* 1994; 12:1525-40.
34. Gandara DR, Derick HML, Primo NL, Edelman MJ. Gemcitabine/carboplatin combination regimens: importance of dose schedule. *Oncology* 2000; 14: 26-30.
35. Carrato A, Garcia-Gomez J, Alberola V et al. Carboplatin in combination with gemcitabine in advanced non-small-cell lung cancer: comparison of trials using different schedules. *Proc Am Soc Clin Oncol* 1999; 18: 498a (Abstr 1922).
36. Carmichael J, Allerheiligen S, Walling J. A phase I study of gemcitabine and carboplatin in non-small cell lung cancer. *Semin Oncol* 1996; 23: 55-9.



37. Carrato A, Alberola V, Massuti B, Galan A, Sanchez JJ, García-Gomez J, et al. Combination of gemcitabine (Gem) and carboplatin (Carbo) as first line treatment in non-small cell lung cancer. *Ann Oncol* 1998; 9 (89 Suppl 4): A-431.
38. Masotti A, Zannini G, Gentile A, Morandini G. Activity of gemcitabine and carboplatin in advanced non-small cell lung cancer: a phase II trial. *Lung Cancer* 2002; 36:99-103.
39. I. Maestu, L. Gómez-Aldarav, M.D. Torregrosa, et al. Gemcitabine and low dose carboplatin in the treatment of elderly patients with advanced non-small cell lung cancer. *Lung Cancer* (2003) 42, 345 .354
40. Shibata K, Nakatsumi Y, Kasahara K, Bando T, Fujimura M, Matsuda T. Analysis of thrombocytopenia due to car-boplatin combined with etoposide in elderly patient with lung cancer. *J Cancer Res Clin Oncol* 1996; 122:437 .42.
41. Castellano D, Lianes P, Guerra JA, Gomez-Mart Paz-Ares L, Cortes-Funes H. Phase II study of gemcitabine and cisplatin every weeks in patients with non-small lung cancer. In: Proceedings of the Eighth World Conference on Lung Cancer. Dublin, 10 .15 August 1997, p.A
42. Geradts J, Fong KM, Zimmerman PV, Maynard R, Minna JD. Correlation of abnormal RB, p16 ink4a and p53 expression with 3p loss of heterozygosity, other genetic abnormalities, and clinical features in 103 primary non-small cell lung cancers. *Clin Cancer Res* 1999; 5:791 .800.
43. Ishida H, Irie K, Itoh T, Furukawa T, Tokunaga O. The prognostic significance of p53 and bcl-2 expression in lung adenocarcinoma and its correlation with Ki-67 growth fraction. *Cancer* 1997, 80 ,1034 .1045.
44. Kawasaki M, Nakanishi Y, Kuwano K, et al. The utility of p53 immunostaining of transbronchial biopsy specimens of lung cancer: p53 overexpression predicts poor prognosis and chemoresistance in advanced non-small cell lung cancer. *Clin Cancer Res* 1997; 7: 1195/200.
45. Slebos RJ, Kibbelaar RE, Dalesio O et al. K-ras oncogene activación as a prognostic marker in adenocarcinoma of lung. *N Engl Med* 1990; 323(9):561-565.
46. Holt SE, Shay JW. Role of telomerase in cellular proliferation and cancer. *J Cell Physiol* 1999; 180: 10-18.
47. Kim NW, Piatyszek MA, Prowse KR, et al. Specific association of human telomerase activity with immortal cells and cancer. *Science* 1994; 266: 2011-15.
48. Shay JW, Bacchetti S. A survey of telomerase activity in human cancer. *Eur J Cancer*. 1997; 33:787-791.
49. Yashima K, Litzky LA, Kaiser L, et al. Telomerase expression in respiratory epithelium during the multistage pathogenesis of lung carcinomas. *Cancer Res* 1997; 57:2373-423.
50. Hiyama K, Hiyama E, Ishioka S, et al: Telomerase activity in small-cell and non-small cell lung cancers. *J Natl Cancer Inst* 1995; 87:895- 902.
51. Albanell J, Lonardo F, Rusch V, et al. High telomerase activity in primary lung cancers: association with in-creased cell proliferation rates and advanced pathologic stage. *J Natl Cancer Inst* 1997; 89:1609-15.
52. Lee JC, Jong HS, Yoo CG, Han SK, Shim YS, Kim YW. Telomerase activity in lung cancer cell lines and tissues. *Lung Cancer* 1998;21:99-103.
53. Blackburn EH. Switching and signaling at the telomere. *Cell*. 2001; 106:661-673.
54. Gary A. Ulaner, MD, PhD Telomere Maintenance in Clinical Medicine. *Am J Med*. 2004; 117:262-269.
55. Olovnikov AM. A theory of marginotomy. The incomplete copying of template margin in enzymic synthesis of polynucleotides and biological significance of the phenomenon. *J Theor Biol*. 1973; 41:181-190.



56. Harley CB. Telomere loss: mitotic clock or genetic time bomb? *Mutat Res.* 1991; 256:271–282.
57. Judy M Y Wong, Kathleen Collins. Telomere maintenance and disease. *Lancet* 2003; 362: 983–88.
58. Maser RS, DePinho RA. Connecting chromosomes, crisis, and cancer. *Science.* 2002; 297:565–569.
59. Dunham, M.A., Neumann, A.A., Fasching, C.L., and Reddel, R.R. (2000). Telomere maintenance by recombination in human cells. *Nat. Genet.* 26, 447–450.
60. Neumann AA, Reddel RR. Telomere maintenance and cancer look, no telomerase. *Nat Rev Cancer.* 2002; 2:879–884.
61. Thomas R. Cech. Beginning to Understand the End of the Chromosome. *Cell*, Vol. 116, 273–279, January 23, 2004,
62. Moyzis RK, Buckingham JM, Cram LS, et al: A highly conserved repetitive DNA sequence, (TTAGGG), present at the telomeres of human chromosomes. *Proc Natl Acad Sci U S A* 85:6622-6626, 1988
63. Meyerson M: Role of telomerase in normal and cancer cells. *J Clin Oncol* 18:2626-2634, 2000
64. Marchetti A, Bertacca G, Buttitta F, et al. Telomerase activity as a prognostic indicator in stage I non-small cell lung cancer. *Clin Cancer Res* 1999; 5: 2077–81.
65. González-QR, Iniesta P, Alberto Morán A, et al. Cooperative Role of Telomerase Activity and p16 Expression in the Prognosis of Non–Small-Cell Lung Cancer. *J Clin Oncol* 2001:254-262
66. Taga S, Osaki T, Ohgami A, et al: Prognostic impact of telomerase activity in non–small-cell lung cancers. *Ann Surg* 230:715- 720, 1999
67. Uki Kumaki F, Kawai T, Hiroi S. et al. ,Telomerase Activity and Expression of Human Telomerase RNA Component and Human Telomerase Reverse Transcriptase in Lung Carcinomas. *Human Pathology* 2001; 32:188-95
68. Sinicrope FA, Hart J, Michelassi F, Lee JJ. Prognostic value of bcl-2 oncoprotein expression in stage II colon carcinoma. *Clin Cancer Res* 1995; 1; 1103-1110.
69. Gross G, Holiday D, Hampton J, et al. A combination therapy of gemcitabine (GEM) and carboplatin (CBDCA) in advanced stage non-small cell lung carcinoma (NSCLC). *Proc Am Soc Clin Oncol* 1999; 18 (abstract 1955).
70. Jovtis S, Brocato N, Balbiani L, et al. First-line therapy with gemcitabine (GEMTRO †) (G) and carboplatin (C) in patients (pts) with advanced non-small cell lung cancer (NSCLC): A phase II study. *Proc Am Soc Clin Oncol* 1999; 18 (abstract 1969).
71. Mazzanti P, Massacesi C, Mattioli R, et al. Gemcitabine-cisplatin (GP) vs gemcitabine-carboplatin (GC) in advanced non-small cell lung cancer (NSCLC): a multicenter phase II randomized trial. *Eur J Cancer* 2001; 37(suppl 6) (abstract 172).
72. Zatloukal P, Petruzella L, Zemanova M, et al. Gemcitabine plus cisplatin (GCis) versus gemcitabine plus carboplatin (GCarb) in patients (pts) with non-small cell lung cancer (NSCLC) stage IIIb and IV: An interim analysis of a randomized trial. *Proc Am Soc Clin Oncol* 2001; 20 (abstract 1343).
73. Domine M, Casado V, Esteves LG, et al. Phase II study of carboplatin (C)-gemcitabine (G) in advanced non-small cell lung cancer (NSCLC). *Proc Am Soc Clin Oncol* 2000; 19 (abstract 2107).

74. Sederholm C. Gemcitabine (G) compared with gemcitabine plus carboplatin (GC) in advanced non-small cell lung cancer: a phase III study by the Swedish Lung Cancer Study Group (SLUSG). *Proc Am Soc Clin Oncol* 2002;21 (abstract 1162).
75. Stani SC, Bajetta E, De Candis D, et al. Front line chemotherapy with four different schedules of gemcitabine and carboplatin in stage IV non-small cell lung cancer (NSCLC). *Eur J Cancer* 2001; 37(suppl 6) (abstract 192).
76. Wu TC, Lin P, Hsu CP et al. Loss of telomerase activity may be a potential favorable prognostic marker in lungcarcinomas. *Lung Cancer* (2003) 41, 163-169
77. Norman E, Sharpless NE, DePinho R A. Telomeres, stem cells, senescence, and cancer. *J. Clin. Invest.* 113:160–168 (2004).