



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA

DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO

FUNDACIÓN CLÍNICA MÉDICA SUR

**EL USO DE METFORMINA EN PACIENTES DIABÉTICOS CON CÁNCER
DE PULMÓN DE CÉLULAS NO PEQUEÑAS Y MUTACIÓN EGFR,
AUMENTA LA SUPERVIVENCIA LIBRE DE PROGRESIÓN.**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:

ESPECIALISTA EN ONCOLOGÍA MÉDICA

PRESENTA:

DRA. ILEANA MAC KINNEY NOVELO

TUTOR DE TESIS:

DR. DANIEL MOTOLA KUBA

CENTRO ONCOLÓGICO INTEGRAL DIANA LAURA RIOJAS DE COLOSIO

FUNDACIÓN MÉDICA SUR

CO-TUTOR DE TESIS

DR. OSCAR ARRIETA RODRÍGUEZ

INSTITUTO NACIONAL DE CANCEROLOGÍA

MÉXICO D.F. 9 de Noviembre 2015.



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.

DR. DANIEL MOTOLA KUBA

Tutor de tesis

Profesor titular del curso de especialización en Oncología Médica

Fundación Clínica Médica Sur

DR. OSCAR ARRIETA RODRÍGUEZ

Co-tutor de tesis

Jefe de la Clínica de tumores Torácicos

Instituto Nacional de Cancerología

DR. ALBERTO LIFSHITZ GUINZBERG

Director Académico

Fundación Clínica Médica Sur

AGRADECIMIENTOS:

INDICE:

ANTECEDENTES	5
Epidemiología	
Tabaquismo -principal factor de riesgo para desarrollar cáncer de pulmón	
tipos histológicos	
Alteraciones Genéticas	
Beneficio del tratamiento molecular dirigido	
Mecanismos de resistencia del tratamiento anti-EGFR	
Metformina como protector para el desarrollo de cáncer	
Metformina vence resistencia a tratamiento anti-EGFR en pacientes con cáncer de pulmón de células no pequeñas	
PLANTEAMIENTO DE LA TESIS.....	18
Planteamiento del problema	
Justificación	
Objetivo	
Hipótesis	
MATERIAL Y MÉTODOS	21
Metodología	
Criterios de inclusión	
Criterios de exclusión	
Consideraciones éticas	
Análisis estadístico	
RESULTADOS	25
DISCUSIÓN.....	27
CONCLUSIÓN	30
TABLAS:	31
FIGURAS	36
REFERENCIAS	42

EL USO DE METFORMINA EN PACIENTES DIABÉTICOS CON CÁNCER DE PULMÓN DE CÉLULAS NO PEQUEÑAS Y MUTACIÓN DE EGFR, AUMENTA LA SUPERVIVENCIA LIBRE DE PROGRESIÓN.

ANTECEDENTES

EPIDEMIOLOGÍA

El cáncer de pulmón ocupa el segundo lugar en incidencia de cáncer en hombres, y tercer lugar en mujeres a nivel mundial. En 2015 se esperan 221,200 nuevos casos, siendo 115,610 hombres y 105,590 mujeres en Estados Unidos. Actualmente el cáncer de pulmón es la principal causa de muerte por cáncer tanto en hombres como en mujeres en países desarrollados¹.

En México el cáncer de pulmón es la segunda causa de muerte por cáncer en hombres. Desgraciadamente existe una carencia de estudios epidemiológicos en nuestro país, sin embargo se ha observado un aumento en la incidencia a partir de 1970 con un incremento de aproximadamente 16% para 2004. En comparación con países desarrollados, la mayoría de los casos se diagnostican como enfermedad avanzada, siendo hasta 82% de todos los diagnósticos de cáncer de pulmón, cuando la supervivencia es pobre y las opciones para tratamiento con intento curativo son pobres².

TABAQUISMO - PRINCIPAL FACTOR DE RIESGO PARA DESARROLLO DE CÁNCER DE PULMÓN

El cáncer de pulmón es un problema de salud pública a nivel mundial, con altos costos, y en donde el tabaquismo es el principal factor de riesgo³. Investigaciones en estudios de casos y controles,

realizados en la década de los 50's, demostraron la asociación de la exposición del humo de tabaco y el desarrollo de cáncer de pulmón⁴⁻⁷. Posteriormente estudios sobre los carcinógenos contenidos en el tabaco confirmaron su asociación directa. Se han descrito múltiples carcinógenos del tabaco, los más estudiados son las N-nitrosaminas, como 4-metilnitrosamino-1-3-piridil-butanona (NNK), el cuál a través de su activación metabólica, promueve supervivencia celular y crecimiento de las células tumorales. Por otra parte las N-nitrosaminas, también se encuentran involucradas en la síntesis de TxA2, el cuál activa vías de crecimiento como PI3K/Akt y ERK⁶. El costo de las complicaciones y enfermedades asociadas al tabaquismo en las principales instituciones de salud pública en México es de 45 millones de pesos al año². Existen otros factores de riesgo para cáncer de pulmón como arsénico, asbesto, éter, nickel, hidrocarburos poli-cíclicos aromáticos, radón, entre otros³. En países en vías de desarrollo como México, se ha observado un incremento en el riesgo de cáncer en mujeres expuestas a humo de leña, utilizado comúnmente en las comunidades para cocinar.

En promedio un fumador activo tiene 20 veces más riesgo de desarrollar cáncer de pulmón, comparado con una persona no fumadora⁸. El cáncer de pulmón es más frecuente en hombres que en mujeres, debido al mayor hábito tabáquico, sin embargo la incidencia en mujeres ha ido incrementándose en los últimos años, debido al aumento del tabaquismo en esta población.

TIPOS HISTOLÓGICOS

De manera muy general el cáncer de pulmón se puede clasificar por su histología en 2 tipos; cáncer de pulmón de células pequeñas (CPCP) y cáncer de pulmón de células no pequeñas

(CPCNP), los cuales difieren en pronóstico y tratamiento. El tipo histológico más frecuente a nivel mundial es el CPCNP, el cual a su vez se subdivide en subtipos histológicos, de estos los más frecuentes son: adenocarcinoma, carcinoma de células escamosas, y carcinoma de células grandes. Actualmente el adenocarcinoma es el tipo histológico más común en ambos sexos y en la mayor parte del mundo⁹.

ALTERACIONES GENÉTICAS

El cáncer de pulmón se desarrolla a partir de múltiples alteraciones genéticas, activación de oncogenes, inactivación de genes supresores de tumor, y alteración de genes reparadores de DNA. La activación oncogénica ocurre frecuentemente a través de mutaciones puntuales, amplificación de genes ó re-arreglos genéticos; por otra parte, los genes supresores de tumor son inactivados por la pérdida de un alelo parental y mutación ó inactivación del otro alelo¹⁰.

Mutación de KRAS

La familia KRAS es una familia de proto-oncogenes (KRAS, HRAS y NRAS) que codifican para proteínas de membrana, que resulta en división celular constitutiva, a través de activación de la vía de crecimiento MAPK. Las mutaciones más frecuentes se encuentran en los codones 12, 13 ó 61 que ocasionan activación constitutiva de RAS independiente de señales de receptores. La mutación de RAS se encuentra aproximadamente en el 20% al 25% de los adenocarcinomas y 15% al 20% de todos los CPCNP, y generalmente esta asociado a pacientes con historia de tabaquismo¹⁰.

Mutación en EGFR

Estudios han demostrado que existe una sobreexpresión por inmunohistoquímica de los receptores EGFR en aproximadamente 30% de los CPCNP, especialmente en el subtipo histológico de adenocarcinomas, esto se pensaba que era importante en el pronóstico y tratamiento de estos tumores, sin embargo estudios posteriores demostraron que la falta de regulación de la actividad de cinasas de receptores encontrados en las células tumorales, activan de manera constitutiva vías de señalización a través de homo-dimerización o hetero-dimerización de los receptores EGFR, promoviendo crecimiento e inmortalización de las células. Esto ha dado lugar al desarrollo de terapias que bloquean estos blancos moleculares, inhibiendo el crecimiento de células tumorales, con resultados muy favorables. Esta activación constitutiva se debe a mutaciones en una familia de Receptores del Factor de crecimiento Epidérmico (EGFR), que se encuentran presentes hasta en un 20% de los CPCNP. Todas las mutaciones detectadas hasta el momento, se encuentran en el dominio tirocino-cinasa del gen EGFR, especialmente en el exón 19, 20 y 21. Se ha encontrado una asociación entre las características clínicas e histopatológicas de los pacientes con estas mutaciones, de tal manera que la mutación de EGFR se encuentra más frecuentemente en pacientes con adenocarcinoma comparado con en otras histologías (40% vs 3%), en no fumadores que en Fumadores (51% vs 10%), más frecuente en pacientes Asiáticos comparado con otras etnicidades (60% vs 15%) y más frecuente en mujeres comparado con hombres (42% vs 14%). La edad al diagnóstico y estadio clínico no se asocian con la presencia de dichas mutaciones⁹.

En un estudio epidemiológico multi-céntrico se evaluó la frecuencia de las mutaciones de EGFR en América Latina. Los resultados de este estudio demostraron que el país de con mayor frecuencia de mutación EGFR fue Perú con una incidencia de mutación de hasta 51% de los pacientes con CPCNP; el segundo lugar es México encontrando una incidencia del 34%, Costa Rica 31%, Panamá

27% y Colombia 25%. Los países de América Latina con menor frecuencia en dicha mutación fue EUA y Argentina con 15% y 14% respectivamente¹¹.

Mutación ALK

Alrededor del 5% de los pacientes con CPCNP tienen tumores con inversión en el Cromosoma 2 que yuxtapone la porción 5' del gen EML4 con la porción 3' del gen ALK, resultando en un oncogén de fusión EML4-ALK. Las mutaciones ALK positivas son excluyentes con la mutación de EGFR y KRAS^{12,13}. Esta fusión ocasiona dimerización constitutiva independiente de ligando y oligomerización de ALK, resultando en actividad cinasa constitutiva y activación de vías de crecimiento e inmortalización celular¹⁴.

Mutación en ROS-1

ROS-1 es un receptor tirocino-cinasa de la familia de receptores de la insulina, y actúa como un oncogén. Se ha encontrado una translocación genética entre ROS1 y otros genes, el más común es CD-74. Esta mutación es rara y se encuentra presente entre el 1% y 2% de los pacientes con CPCNP, especialmente encontrada en pacientes jóvenes, no fumadores^{15,16}.

BENEFICIO DEL TRATAMIENTO MOLECULAR DIRIGIDO

El tratamiento para pacientes con CPCNP avanzado históricamente se ha basado en quimioterapia sistémica cito-tóxica con lo que se ha demostrado mejorar los síntomas, calidad de vida y prolongar la supervivencia en dichos. Un mejor entendimiento en las vías de señalización y estudios de mutaciones en receptores EGFR, re-arreglos en el gen ALK y en genes de la familia

RAS, en un buen porcentaje de pacientes con CPCNP ha dado pie al desarrollo de terapias moleculares dirigidas que han demostrado tasas de respuesta de hasta el 60% y supervivencia libre de progresión mayor a un año de tratamiento.

Mutación KRAS

No existe por el momento una terapia blanco disponible para esta mutación, sin embargo existe información de estudios con erlotinib, que han demostrado peores desenlaces en pacientes con mutación KRAS presente, tratados con erlotinib, con menores tasas de respuesta y una disminución en la supervivencia con un HR 2.1¹⁷.

Mutación ALK

Existen inhibidores tirocino-cinasa de ALK (crizotinib, ceritinib), utilizados en pacientes con la mutación presente y han demostrado incremento en la supervivencia libre de progresión (SVLP) y tasas de respuesta comparado con QT basada en platino en 1ª línea y QT monodroga en 2ª línea^{18,19}.

Mutación ROS-1

En estudios tempranos se ha encontrado que en pacientes con translocación ROS1, previamente tratados con quimioterapia existen mayores tasas de respuesta e incremento en la SVLP cuando se da tratamiento con inhibidores ALK (Crizotinib), con una mediana de duración de la respuesta de 17.6 meses^{15,16}.

Mutación EGFR:

El uso de terapias blanco que inhiben la porción tirocino-cinasa del receptor EGFR ha logrado mejores desenlaces en pacientes con mutación EGFR, logrando tasas de respuesta hasta del 60% y mediana de supervivencia de 15.9 meses¹¹.

A partir de los resultados tan alentadores de terapia blanco en contra de EGFR y ALK; el consenso del Colegio Americano de Patología (CAP), junto con la Asociación Internacional para el estudio del cáncer de pulmón (IASLC) y la Asociación de Patólogos Moleculares (AMP), recomiendan el análisis de las mutaciones EGFR y ALK, del tumor primario o de lesiones metastásicas, en pacientes cuyo tumor contenga elementos de adenocarcinoma, sin importar las características clínicas del paciente^{20,21}.

Actualmente existen 3 inhibidores tirocino-cinasa disponibles para tratamiento de pacientes con CPCNP avanzado con mutaciones en EGFR: Gefitinib, Erlotinib y Afatinib^{22,23}.

Gefitinib y Erlotinib son inhibidores de tirocino-cinasa-EGFR, de primera generación, y los primeros en demostrar altas tasas de respuesta y beneficio en SVLP. Afatinib es un inhibidor tirocino cinasa de segunda generación, que inhibe la señalización de todos los homodímeros y heterodímeros formados por la familia de receptores EGFR (EGFR 1-4). Afatinib, ha demostrado actividad clínica en pacientes con adenocarcinoma de pulmón avanzado con presencia de mutación de EGFR. En los estudios LUX-Lung-3 y LUX-Lung-6, se comparó el uso de afatinib vs QT basada en platino como tratamiento de primera línea, en pacientes con CPCNP y mutación EGFR presente. Estos estudios demostraron un beneficio en SVLP en los pacientes tratados con Afatinib, con SVLP de 11 meses

comparado con 5-6 meses en el grupo de quimioterapia, y tasas de respuesta de entre 56% a 66%, comparado con 23% en el grupo de quimioterapia^{24,25}. En los estudios previamente mencionados, no se había completado el tiempo para obtener reporte de los resultados de la SVG. Un estudio reciente del análisis de la supervivencia global en los pacientes de los estudios LUX-Lung 3 y LUX-Lung 6, no demostró beneficio en supervivencia global en pacientes con mutación EGFR, sin embargo en el análisis por subgrupos, se encontró un beneficio en supervivencia global en los pacientes con mutación EGFR-delección del exón 19. Por el contrario, no se encontró beneficio en los pacientes con mutación EGFR-L858R²⁶. La toxicidad de los inhibidores tirocino-cinasa es principalmente dermatológica, Gastro-intestinal y elevación transitoria de transaminasas, sin embargo es frecuentemente bien manejada y tolerada; por otra parte se reportan tasas de toxicidad hematológica mínimas en comparación con el tratamiento con quimioterapia. En ninguno de los estudios se ha reportado toxicidad grado 5.

MECANISMOS DE RESISTENCIA DEL TRATAMIENTO ANTI-EGFR

Los pacientes con CPCNP con mutaciones activadores EGFR son altamente sensibles a inhibidores tirocino-cinasa específicos anti-EGFR, sin embargo, la mayoría de los pacientes que inicialmente responden a estas terapias blanco, experimentan posteriormente progresión de la enfermedad durante el tratamiento; a esto se le conoce como **resistencia adquirida**. Se han descrito mutaciones asociadas a resistencia de tratamiento con inhibidores tirocino-cinasa en CPCNP con mutaciones activadoras EGFR, dichas mutaciones pueden estar presentes al diagnóstico o desarrollarse como mecanismo de resistencia posterior a tratamiento anti-EGFR. A través de RT-PCR se encontró que 50% de los pacientes con resistencia a inhibidores tirocino-cinasa desarrollan una mutación específica en el **exón 20 (T790M)**^{27,28}. Sin embargo en el otro 50% de los pacientes

que desarrollan resistencia a inhibidores tirocino-cinasa anti-EGFR el mecanismo se desconoce. Existen estudios que han encontrado **amplificación focal del proto-oncogen MET** en 22% de los pacientes con resistencia adquirida a Gefitinib. El mecanismo propuesto es que la amplificación MET promueve resistencia a través de la activación de la vía de PI3K dependiente de HER3²⁹. Sin embargo, existen pocos estudios y con pocos pacientes acerca de la amplificación de MET como mecanismo de resistencia.

Por otra parte existen pacientes que tienen esta mutación de resistencia desde el momento de la presentación, ó de novo; a esto se le llama **resistencia primaria**. La mutación de resistencia T790M puede estar presente antes de la exposición a inhibidores tirocino-cinasa, y generalmente se encuentran de manera concurrente con otras mutaciones activadoras en EGFR (deleción exón 19 y mutación puntual L858R). La frecuencia reportada de mutación de resistencia al diagnóstico varía de acuerdo a la literatura, sin embargo se encuentra en <1% de todos los cáncer de pulmón y en 1% a 15% de los CPCNP con mutación EGFR. Aún no se saben las implicaciones clínicas que conlleva tener la mutación de resistencia desde el diagnóstico, sin embargo algunos estudios demuestran que la respuesta del tumor a inhibidores tirocino-cinasa, depende del número de clonas que tienen la mutación de resistencia y la mutación activadora. Se ha reportado una tasa de respuesta del 8% en aquellos pacientes que tienen la mutación de resistencia T790M al diagnóstico, tratados con gefitinib ó erlotinib, con supervivencia libre de progresión de 2 meses y mediana de supervivencia global de 16 meses, y por lo tanto, estos pacientes no son candidatos a tratamiento con Inhibidor Tirocino-cinasa-EGFR, y deben tratarse con quimioterapia^{30,31}.

A pesar de que los avances en el tratamiento han incrementado las tasas de respuesta y supervivencia libre de progresión con inhibidores tirocino-cinasa-EGFR en pacientes con mutaciones activadoras, la mayoría desarrollará mutaciones de resistencia (T790M) y progresión de la enfermedad. No existe un estándar de tratamiento en estos pacientes que progresan a un inhibidor tirocino-cinasa anti-EGFR de primera generación como erlotinib y gefitinib³². Algunos estudios han utilizado Afatinib como tratamiento de segunda línea en pacientes que progresaron a Erlotinib o Gefitinib, encontrando un beneficio en la supervivencia libre de progresión, tasas de control de la enfermedad hasta del 58% y retraso en el desarrollo de síntomas asociados al cáncer de pulmón, mejorando así también la calidad de vida en los pacientes tratados con Afatinib³³.

La resistencia adquirida, se desarrolla en una mediana de 9 a 13 meses y en el 50% a 60% es secundario al desarrollo de la mutación de resistencia T790M. Cuando un paciente con mutación activadora EGFR es tratado de primera línea con inhibidor tirocino-cinasa anti EGFR (erlotinib, Gefitinib), y a la progresión se le da quimioterapia basada en platino, la mediana de supervivencia es menos de 2 años.

Rociletinib (CO-1686) es un inhibidor tirocino-cinasa anti-EGFR que en estudios preclínicos han demostrado actividad en pacientes con mutación EGFR incluyendo delección del exón 19, mutación L858R y T790M, con una mínima actividad en contra de tumores sin mutación EGFR³⁴.

Otros mecanismos de resistencia de inhibidores tirocino-cinasa-EGFR

Los mecanismos moleculares que generan la resistencia adquirida a inhibidores tirocino-cinasa anti-EGFR no están completamente claros. Sabemos que cerca del 50% se deben a una mutación adquirida en T790M de EGFR y en menor porcentaje amplificación del oncogén MET, sin embargo existen otros mecanismos moleculares propuestos, como la **activación de la transición epitelio-mesénquima**. La transición epitelio-mesénquima, se refiere a los cambios del fenotipo de células epiteliales, a células con fenotipo mesenquimatoso, resultando en un incremento en la motilidad, invasión, proliferación y metástasis de las células tumorales^{35,36}. Se ha propuesto que la transición epitelio-mesénquima (TEM) se encuentra en relación a la sensibilidad tanto a quimioterapia como a inhibidores tirocino-cinasa. Esta transición, ocurre a través de activación de TGF- β , el cual induce activación de interleucina 6, que activa de manera parácrina a su receptor IL-6R, activando a su vez JAK1/STAT3. Su activación constitutiva regula la progresión del ciclo celular, invasión tumoral, metástasis y angiogénesis. STAT 3 se ha considerado un blanco potencial para el tratamiento de tumores³⁷.

Estudios preclínicos en modelos xenográficos, han demostrado que un mecanismo de resistencia en células tumorales in vitro con mutación T790M es la activación del receptor de IL-6/JAK1/STAT3, y que la inhibición de esta vía de señalización incrementa la sensibilidad a inhibidores tirocino-cinasa anti-EGFR^{38,39}.

El desarrollo de una terapia efectiva para los pacientes que desarrollan la mutación de resistencia T790M es importante para vencer la resistencia a inhibidores tirocino-cinasa anti-EGFR de primera generación. Afatinib, como inhibidor tirocino-cinasa anti-EGFR irreversible, de segunda generación ha demostrado en algunos estudios clínicos, un cierto efecto en pacientes con mutación de

resistencia, sin embargo el beneficio es marginal³³. Estudios han demostrado que la unión en la porción tirocino-cinasa de afatinib en pacientes con mutación de resistencia, es 100 veces menos potente que en células con mutaciones activadoras anti-EGFR⁴⁰. En estudios preclínicos se ha demostrado que la inhibición de la activación del receptor IL-6 y activación de la vía JAK1/STAT3 vence la resistencia y sensibiliza nuevamente a las células con mutaciones de resistencia EGFR³⁷.

METFORMINA COMO PROTECTOR PARA EL DESARROLLO DE CÁNCER

La Metformina es un medicamento utilizado desde hace muchos años para el tratamiento de diabetes mellitus y síndrome metabólico, y es generalmente bien tolerado. Diversos estudios desde 1910 han sugerido que los pacientes con diabetes tienen un riesgo incrementado de desarrollar cáncer⁴¹. Estudios que comparan la incidencia de cáncer de pulmón en pacientes diabéticos, no han encontrado un incremento en el riesgo de desarrollar cáncer de pulmón comparado con controles sanos⁴². Por otro lado diversos estudios epidemiológicos y de casos y controles, han sugerido que el uso de Metformina disminuye el riesgo durante la vida de desarrollar cáncer hasta en un 30%, y del riesgo de muerte cáncer específica en un 33%^{43,44}..

METFORMINA VENCE RESISTENCIA A INHIBIDORES TIROCINO-CINASA-EGFR EN CPCNP

La mutación T790M y amplificación MET son los principales mecanismos de resistencia a inhibidores tirocino-cinasa anti-EGFR, otros mecanismos como incremento en la transición epitelio mesénquima a través de TGF- β es un mecanismo de resistencia a través de activación de la vía JAK1/STAT3 e inmortalización de la célula. Estudios preclínicos, con líneas celulares de cáncer de pulmón con resistencia adquirida a tratamiento anti-EGFR, demuestran que la Metformina impide

la transcripción de factores que activan la Transición epitelio-mesénquima, inhibiendo TGF- β y de esta forma inhibiendo la activación de la vía IL-6R/JAK1/STAT3, venciendo la resistencia de inhibidores tirocino-cinasa anti-EGFR en pacientes con presencia de mutación de resistencia T790M, in vitro e in vivo^{35,45}. Un estudio reciente reporta que el uso de Metformina en combinación con gefitinib puede aumentar su eficacia, mostrando un efecto anti-proliferativo y pro-apotótico en líneas celulares de CPNCP⁴⁶. Otros estudios han demostrado a través de análisis por Western-blot en líneas celulares de cáncer de pulmón, una disminución en la activación de las vías de crecimiento MAPK, AKT y mTOR con uso de Metformina. De acuerdo a los efectos anti-proliferativos de la Metformina, encontrados en estudios preclínicos, actualmente se encuentra corriendo un estudio fase I/II, para determinar la dosis efectiva, seguridad y posteriormente actividad de la Metformina combinada con erlotinib como tratamiento de segunda línea en pacientes con CPCNP sin presencia de mutación EGFR⁴⁷.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Sabemos que las terapias blanco han incrementado de manera importante las tasas de respuesta y SVLP en pacientes con CPCNP con mutación de EGFR, sin embargo sabemos que la mayoría de los pacientes desarrollará resistencia a dicho tratamiento en una mediana de 9 a 13 meses, y que hasta el 50% de esta resistencia, es ocasionada por la mutación de EGFR en T790M. Es por eso que resulta interesante investigar mecanismos que venzan dicha resistencia, medicamentos que incrementen el periodo en que pueda desarrollarse y de esta manera incrementen la Supervivencia Libre de progresión y supervivencia global, sin incrementar la toxicidad.

Estudios en líneas celulares han demostrado que la Metformina actúa inhibiendo uno de los mecanismos importantes en el desarrollo de resistencia al tratamiento con inhibidores tirocino-cinasa-EGFR. Estudios recientes revelan que metformina puede disminuir los niveles de MAPK-AKT y de mTOR, por lo tanto, el uso sinergista de metformina con inhibidores tirocino-cinasa de EGFR pueden bloquear las vías de crecimiento en dos puntos diferentes, incrementando la respuesta y desenlaces clínicos.

JUSTIFICACIÓN

No existen estudios clínicos que confirmen el efecto antiproliferativo de la Metformina en pacientes con CPCNP, y su efecto sinergista al tratamiento con inhibidores tirocino-cinasa-EGFR en pacientes con mutación activadora de EGFR.

OBJETIVO GENERAL

El objetivo de este estudio es de manera retrospectiva confirmar el beneficio del uso de Metformina agregado al tratamiento con inhibidores tirocino-cinasa-EGFR en pacientes con CPCNP con mutación EGFR en cuanto a desenlaces de SVLP y SVG, así como determinar si el control glucémico tiene un factor pronóstico.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar la incidencia de los subtipos de mutaciones en EGFR
- Determinar si el tratamiento con Quimioterapia y Metformina en pacientes Diabéticos con CPCNP tiene un efecto sinergista como sugieren estudios en líneas celulares.
- Determinar si los pacientes diabéticos tratados con Metformina tienen un beneficio en SVLP y SVG independientemente del tratamiento recibido.

HIPÓTESIS

El uso de Metformina en pacientes diabéticos con CPCNP con mutación EGFR y tratamiento con inhibidores tirocino-cinasa-EGFR tiene un beneficio en SVLP y SVG.

HIPÓTESIS ESPECÍFICAS

- El uso de Metformina en pacientes Diabéticos con CPCNP con mutación EGFR tiene un beneficio en SVLP y SVG independientemente del tratamiento recibido.
- El uso de Metformina en pacientes Diabéticos con CPCNP con mutación EGFR tiene un efecto sinergista con el uso de quimioterapia.
- El uso de Metformina en pacientes Diabéticos con CPCNP con mutación EGFR retrasa el desarrollo de resistencia a inhibidores tirocino-cinasa-EGFR incrementado la SVLP.
- El Buen control Glucémico en los pacientes con CPCNP con mutación EGFR diabéticos o no diabéticos es un factor pronóstico para SVLP y SVG independientemente del tratamiento recibido.

MATERIAL Y MÉTODOS

MÉTODOS

Realizamos un estudio retrospectivo, observacional, de pacientes con diagnóstico de cáncer de pulmón-células-no pequeñas con mutación EGFR de enero 2008 y diciembre 2014 en el Hospital Médica Sur y el Instituto Nacional de Cancerología (INCan). Se revisaron los expedientes electrónicos y físicos para obtener características clínicas, de laboratorio, así como los tratamientos recibidos, y evolución de la enfermedad.

Se obtuvieron las siguientes variables de cada paciente:

- Número de expediente,
- Institución
- Sexo
- Edad
- ECOG
- Exposición : Asbesto, Tabaco, Humo de leña
- Diagnóstico previo de Diabetes Mellitus tipo 2
 - Tratamiento con Metformina en los pacientes diabéticos
 - Dosis de Metformina
 - Otros tratamientos hipoglucemiantes (insulina, glibenclamida)
- Glucosa al diagnóstico, última glucosa obtenida y glucosa aleatoria en todos los pacientes
- Estadio Clínico al diagnóstico
- Sitios de Metástasis
- Tipo histológico y patrón histológico

- Tipo de mutación EGFR
 - Mutación Exón 18 G719X
 - Delección exón 19
 - Mutación exón 20 T790M
 - Mutación exón 20 S768I
 - Mutación exón 21 L858R
 - Mutación exón 21 L861Q
- Tratamiento con inhibidor tirocino-cinasa-EGFR (ITC-EGFR)
 - Tipo de ITC-EGFR (Erlotinib, Gefitinib, Afatinib)
 - Fecha de inicio del tratamiento con ITC-EGFR
 - Tipo de Respuesta Global a ITC-EGFR
 - Si hubo Progresión – Fecha de progresión
- Tratamiento con Quimioterapia previo al inicio con ITC-EGFR
 - Tipo de Respuesta Global al tratamiento con Quimioterapia
 - Si hubo progresión- Fecha de progresión
- Status de vida
- Fecha de último seguimiento/fecha de muerte

CRITERIOS DE INCLUSIÓN

- Pacientes con cáncer de pulmón de células no pequeñas en los hospitales Médica Sur e Instituto Nacional de cancerología (INCan)
- Estadio clínico al IV
- Mutación EGFR positiva en tejido tumoral

- Tratamiento con quimioterapia basada en platino como tratamiento de 1ª línea para enfermedad metastásica ó como terapia puente mientras se obtenía resultado de la mutación.
- Tratamiento con inhibidores tirocino-cinasa-EGFR como tratamiento de 1ª línea para enfermedad metastásica

CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

- Expediente incompleto
- Desconocimiento del estado actual del paciente

CONSIDERACIONES ÉTICAS

Se obtuvo aprobación del comité de ética de ambos hospitales para realizar investigación retrospectiva, observacional. Debido a que el estudio no tuvo involucro directo con los pacientes y por el mínimo riesgo de los mismos, no se requirió consentimiento informado.

El tratamiento y seguimiento de los pacientes se realizó de acuerdo al consenso para el tratamiento del cáncer de pulmón (Arrieta et al. 2013). Se calculó la supervivencia global (SVG) de la fecha del diagnóstico de cáncer a la fecha de último seguimiento o muerte.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Con propósitos descriptivos, las variables continuas se describieron como medidas aritméticas con desviaciones estándar (DE) y medianas con rangos. Las variables categóricas se describieron como frecuencias, proporciones e intervalos de confianza del 95%. Se utilizó la prueba de Chi cuadrada

de Pearson para comparar los datos entre pacientes diabéticos y no diabéticos y entre pacientes con control glucémico adecuado. La supervivencia global (SVG) se analizó utilizando el método de Kaplan-Meyer y la comparación entre subgrupos se realizó utilizando la prueba de log-rank o de Breslow.

RESULTADOS

Características Basales de la población

Se revisaron los expedientes electrónicos y físicos de 127 pacientes con diagnóstico de cáncer de pulmón de células no pequeñas con mutación EGFR. Las características basales de la población se resumen en **(tabla 1)**. La media de edad fue de 58.6 años (± 13.71). El subtipo histológico más frecuente fue el adenocarcinoma acinar, sin embargo no se contaba con la disponibilidad de esta información en la mayoría de los pacientes. El 75% de los pacientes tenían un buen estado funcional con ECOG 0-1, y sin antecedente de tabaquismo, lo cual es concordante con que la mayoría de los pacientes con EGFR mutado son pacientes no fumadores. Cerca del 30% tenían metástasis cerebrales al diagnóstico. En cuanto a los tipos de mutación de EGFR, el 61% tenían delección del exón 19 y 21% mutación del exón 20-L858R. La presencia de mutación de resistencia T790M se encontró presente al diagnóstico en 1.6% de los pacientes. Únicamente el 20% de los pacientes eran diabéticos, y el mismo porcentaje eran tratados con Metformina, siendo que únicamente el 1.6% utilizó otros antidiabéticos.

Supervivencia Global

La mediana de supervivencia en la población general fue de 24.4 meses (IC 95% 21.55-27.67). La mediana de supervivencia fue mayor en los pacientes diabéticos 36.5 meses vs 23.4 meses en los no diabéticos. Así mismo, la supervivencia fue mayor en los pacientes que recibían tratamiento con Metformina comparado con los pacientes sin Metformina, 36.5 meses vs. 24.4 meses respectivamente, no estadísticamente significativo ($P=0.87$). En cuanto a la supervivencia por

control glucémico, no hubo una diferencia entre buen y mal control glucémico, definido como mal control glucémico promedio de glucosas > 130 y buen control glucémico ≤ 130 mg/dL (**Tabla 2**).

Supervivencia Libre de Progresión en pacientes que recibieron tratamiento con Quimioterapia

La mediana de supervivencia libre de progresión (SVLP) de los pacientes que recibieron tratamiento con quimioterapia, fue de 7.5 meses (IC 95%; 5.97-9.076). La SVLP en los pacientes que recibieron tratamiento con quimioterapia que eran diabéticos y tratados con Metformina fue mejor comparado con no diabéticos y sin tratamiento de Metformina con una mediana de SVLP de 12.9 meses en los diabéticos, 12.74 meses en los pacientes tratados con Metformina, comparado con 5.53 y 6.5 meses en los no diabéticos y no tratados con Metformina respectivamente, estadísticamente significativo (**Figura 1, 2**). En los pacientes que tienen tratamiento con quimioterapia, tener un promedio de glucosas > 130 tiene mejor SVLP comparado con buen control glucémico, 6.89 meses y 12.38 meses respectivamente, con $P=0.05$. (**Tabla 3**) (**Figura 3**).

Supervivencia Libre de Progresión en pacientes que recibieron ITC-EGFR

La mediana de SVLP en los pacientes tratados con inhibidores tirocino-cinasa-EGFR (ITC-EGFR) fue de 10.57 meses (IC 95%; 9.2-11.95). En este grupo de pacientes no se encontró una diferencia estadísticamente significativa en SVLP en los pacientes diabéticos, no diabéticos, con o sin tratamiento de Metformina y no hubo diferencia de acuerdo al control glucémico (**Tabla 4**) (**Figura 4, 5, 6**).

DISCUSIÓN

En este estudio retrospectivo en pacientes con cáncer de pulmón células no pequeñas con presencia de mutación EGFR, encontramos que existe un beneficio en la SVLP en los pacientes con diagnóstico de DM-2 que tomaban Metformina, que recibieron tratamiento con quimioterapia en algún momento de la enfermedad, comparado con los no diabéticos sin tratamiento con Metformina. A pesar de que el objetivo de este estudio era evaluar el efecto sinérgico de la Metformina agregado a inhibidores tirosina-cinasa-EGFR, en este grupo de pacientes no encontramos un beneficio en la SVLP en pacientes diabéticos tratados con Metformina. Se encontró un beneficio en cuanto a Supervivencia global en los pacientes diabéticos con tratamiento con Metformina, sin embargo no se logró demostrar significancia estadística, probablemente debido a que hubo un bajo porcentaje de pacientes con diabetes mellitus tipo 2 en tratamiento con Metformina.

Existe información acerca de el uso de la Metformina en el tratamiento de cáncer de pulmón, en combinación de quimioterapia o de terapia molecular dirigida⁴⁸. Estudios preclínicos en ratones, han demostrado que el uso de Metformina vía oral puede disminuir la dosis de quimioterapia necesaria y prolongar la remisión del tumor⁴⁹. La Metformina ha demostrado disminuir la timidina fosforilasa (TF) y la proteína ERCC1, ambas disminuyendo la fosforilación de MEK-ERK1/2. Estas dos enzimas (TF y ERCC1) se encuentran involucradas en el reconocimiento y reparación del DNA dañado y prevención de apoptosis, y tienen un efecto negativo en la eficacia de quimioterapia, especialmente con platinos. La Metformina al inhibir los mecanismos reparadores y anti-apoptosis, incrementan la sensibilidad de la quimioterapia especialmente de los platinos. Estudios con Metformina agregada al tratamiento con quimioterapia con paclitaxel, carboplatino y

doxorubicina han demostrado tener un efecto en regresión del tumor y prevención de recurrencias hasta cuatro veces mayor que con monoterapia en modelos xenograftos en líneas celulares de cáncer de pulmón y próstata⁴⁸. En estudios retrospectivos, se ha encontrado que en pacientes diabéticos con cáncer de pulmón de células no pequeñas, en tratamiento con Metformina, demostraron un beneficio en supervivencia libre de progresión y supervivencia global concordante con los datos obtenidos en este estudio⁵⁰.

En cuanto a los estudios que existen del tratamiento con Metformina concomitante con inhibidores tirocino-cinasa-EGFR, existen múltiples estudios en líneas celulares que demuestran que tiene un efecto para vencer resistencia secundaria a inhibidores tirocino-cinasa-EGFR. En cuanto a la Metformina concurrente con ITC-EGFR en primera línea, un estudio reciente reporta que el uso de Metformina en combinación con gefitinib puede aumentar su eficacia, mostrando un efecto anti-proliferativo y pro-apotótico en líneas celulares de CPNCP⁴⁶. Otros estudios han demostrado a través de análisis por Western-blot en líneas celulares de cáncer de pulmón, una disminución en la activación de las vías de crecimiento MAPK, AKT y mTOR con uso de Metformina.

Las limitaciones de este estudio son que es un estudio retrospectivo, el porcentaje de pacientes diabéticos en tratamiento con Metformina fue únicamente del 16%. En teoría estudios en líneas celulares y en ratones han demostrado que la Metformina tiene un efecto antiproliferativo y pro-apoptosis, tanto en pacientes tratados con quimioterapia como en pacientes tratados con inhibidores tirocino-cinasa. Aún quedan muchas dudas en cuanto al efecto clínico del uso de la Metformina en pacientes con CPCNP con y sin mutación EGFR. Hacen falta estudios prospectivos

que evalúen el efecto de la Metformina en pacientes con CPCNP sin mutación tratados con quimioterapia basada en platino y en pacientes con mutación EGFR tratados con ITC-EGFR, así como estudios que valoren el efecto de la Metformina para vencer resistencia adquirida en pacientes tratados con ITC-EGFR.

CONCLUSIÓN

Este estudio confirma que existe un efecto sinergista de la Metformina agregado a la quimioterapia en los pacientes con cáncer de pulmón de células no pequeñas. Faltan estudios prospectivos aleatorizados que evalúen el efecto de la Metformina en pacientes con CPCNP no mutados con quimioterapia y mutados con ITC-EGFR.

TABLAS:

Tabla 1. Características Basales de la Población		
	Pacientes (n)	%
	N=127	
Genero		
Hombre	43	34
Mujer	84	66
Subtipos histológicos CPCNP		
Lepídico	3	2.4
Acinar	13	10.2
Papilar	9	7.1
Micropapilar	4	3.1
Sólido	8	6.3
Sin patrón específico	2	1.6
Alveolar-papilar	2	1.6%
Solido-papilar	1	0.8%
No especificado	72	56%
ECOG		
0-1	96	75.4%
≥2	31	24.4%
Tabaquismo		
Positivo	46	36.2%
No	81	63.8%
Exposición a Asbesto		
Si	13	10.2%
No	114	89.8%

Sitios de Metástasis al dx		
Pulmón	55	42.3%
Hueso	38	29.9%
SNC	40	31.5%
Tipo de Mutación EGFR		
Exón 18-G719X	4	3.1%
Exon 19-Del	78	61.4%
Exón 20-T790M	2	1.6%
Exón 20-S768I	3	2.4%
Exón 21-L858R	27	21.3%
Exón 21-L861Q	2	1.6%
Diagnóstico de DM-2		
Si	25	19.7%
No	102	80.3%
Uso de Metformina		
Si	25	19.7%
No	106	83.5%
Uso de Glibenclamida		
Si	6	4.7%
No	121	95.3%
Otros antidiabéticos		
Si	2	1.6%
No	125	98.4%

Tabla 2. supervivencia global			
	N= (pacientes)	Mediana de SVG (meses)	P=
SVG	127	24.1	
Metformina			
Si	21	36.5	
No	106	24.2	0.87
DM2			
Si	25	36.5	
No	102	23.4	0.38
Control Glucémico			
Buen control	106	24.2	
Mal control	21	29.1	0.90

Tabla 3. SVLP en pacientes que recibieron tratamiento con quimioterapia			
	N=	Mediana SVLP	P=
	(pacientes)	(meses)	
SVLP	101	7.5	
DM2			
Si	18	12.9 m	
No	83	6.53	0.001
Metformina			
Si	15	12.74	
No	86	6.5	0.017
Control Glucémico			
Buen control	86	6.89	
Mal control	15	12.38	0.05

Tabla 4. SVLP en pacientes que recibieron tratamiento con ITC			
	N=	Mediana SVLP	P=
	(Pacientes)	(meses)	
SVLP	119	10.57	
DM2			
Si	22	9.56	
No	97	10.54	0.98
Metformina			
Si	18	9.4	
No	101	10.7	0.76
Control glucémico			
Buen control	99	10.57	
Mal control	20	9.56	0.66

FIGURAS

Figura 1: Supervivencia libre de progresión en los pacientes que recibieron tratamiento con Quimioterapia Diabéticos y No Diabéticos

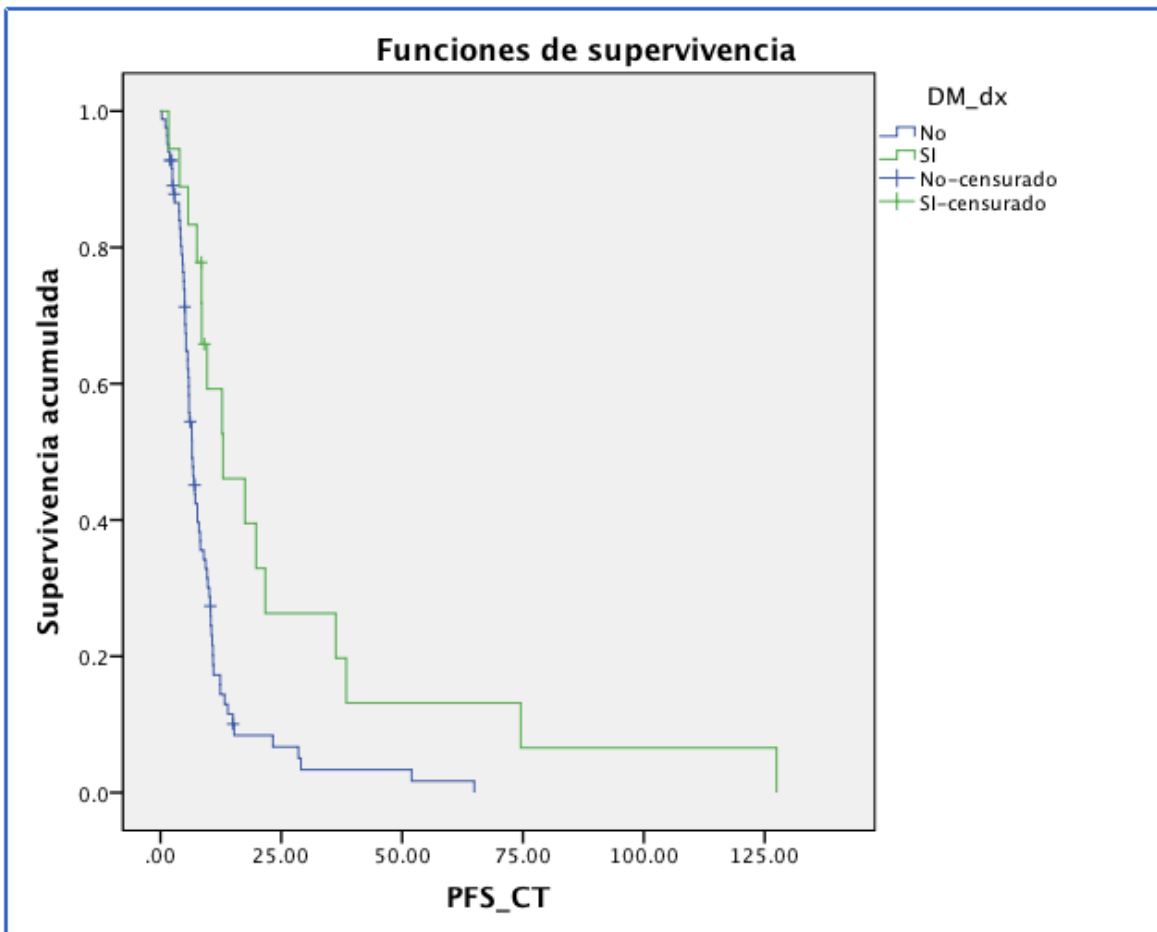


Figura 2: Supervivencia libre de progresión en los pacientes que recibieron tratamiento con quimioterapia que recibían tratamiento Metformina comparado con No recibían Metformina.

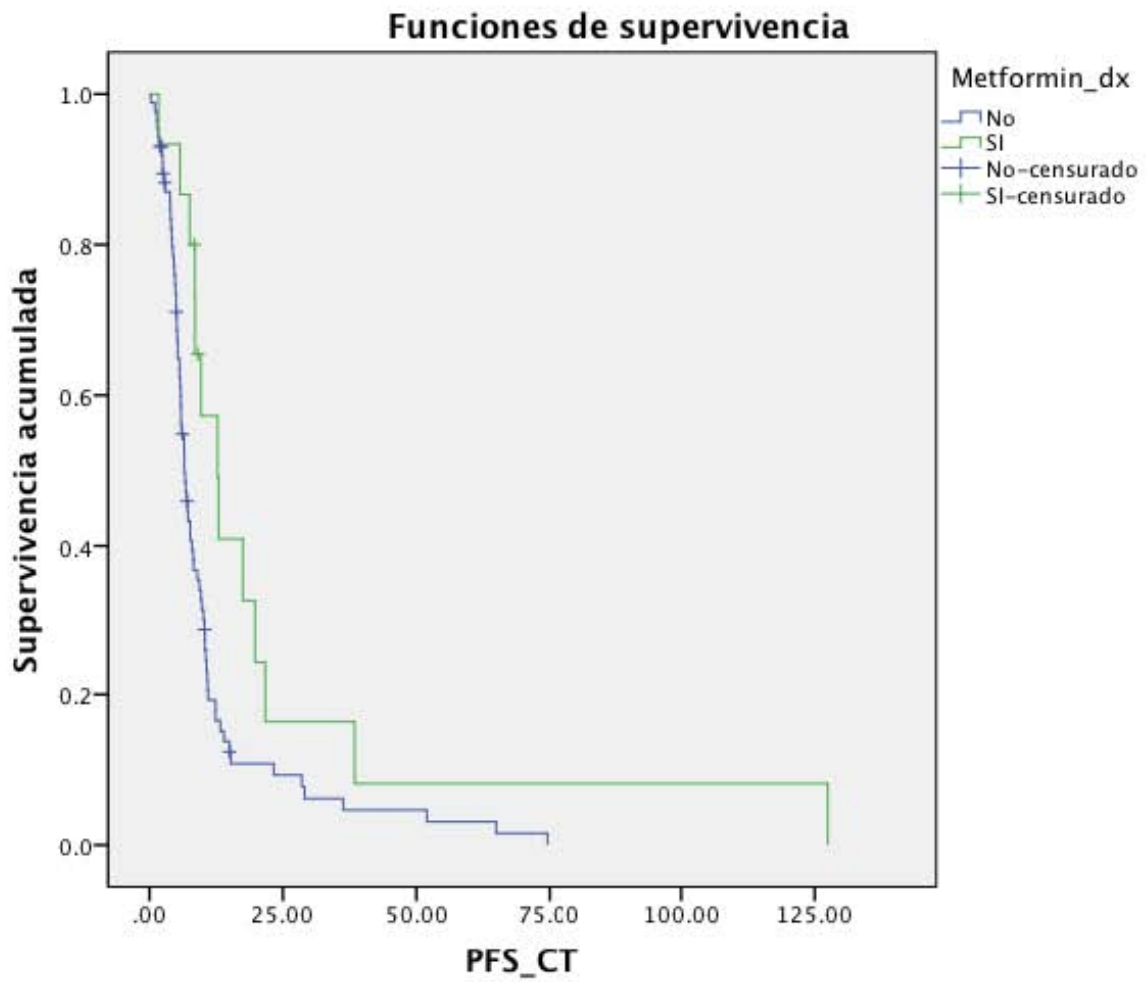


Figura 3: Supervivencia libre de progresión en los pacientes que recibieron tratamiento con Quimioterapia de acuerdo a su control glucémico.

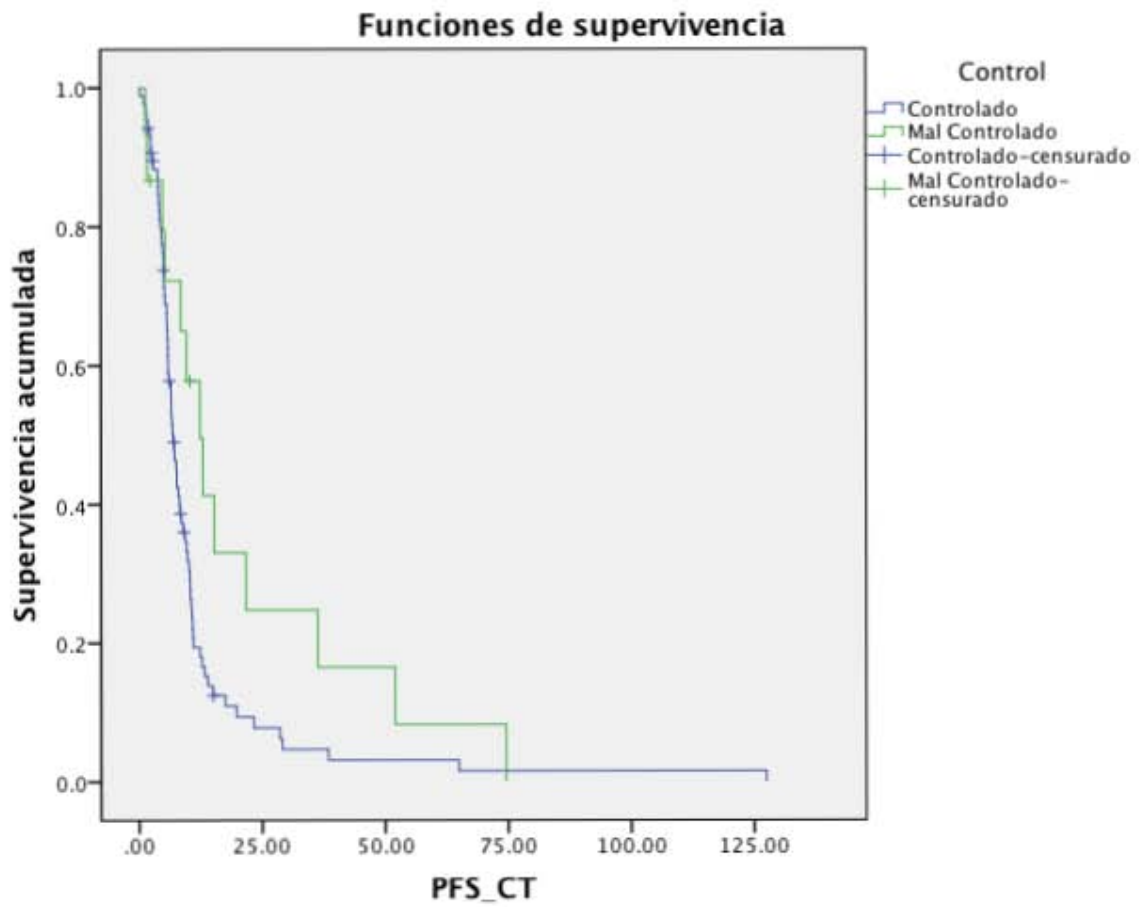


Figura 4: Supervivencia Libre de progresión en los pacientes que recibieron tratamiento con Inhibidores tirocino-cinasa-EGFR en pacientes Diabéticos y No diabéticos.

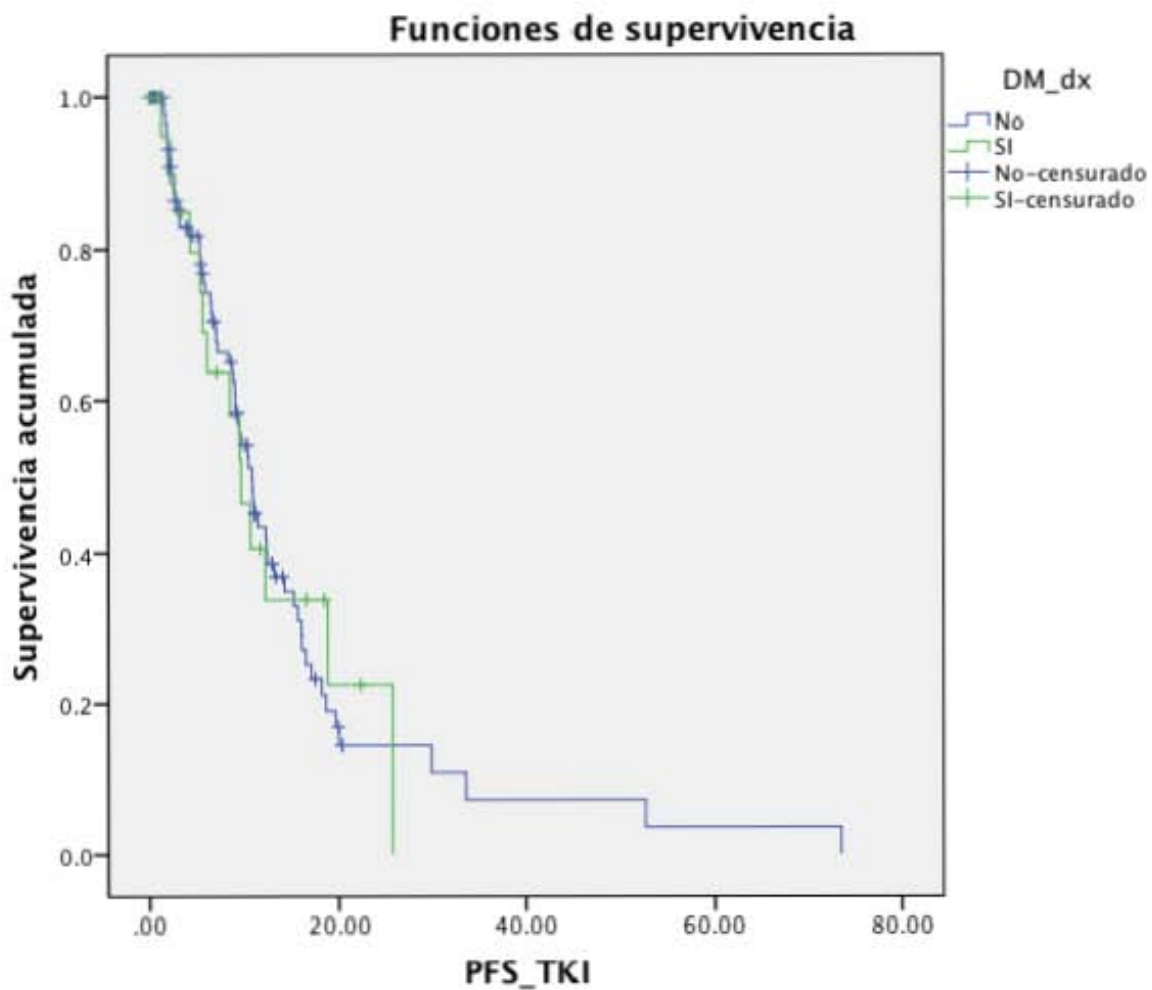


Figura 5: Supervivencia libre de progresión en pacientes que recibieron tratamiento con inhibidores tirocino-cinasa-EGFR en pacientes que recibían tratamiento con Metformina comparado con los que no lo recibían.

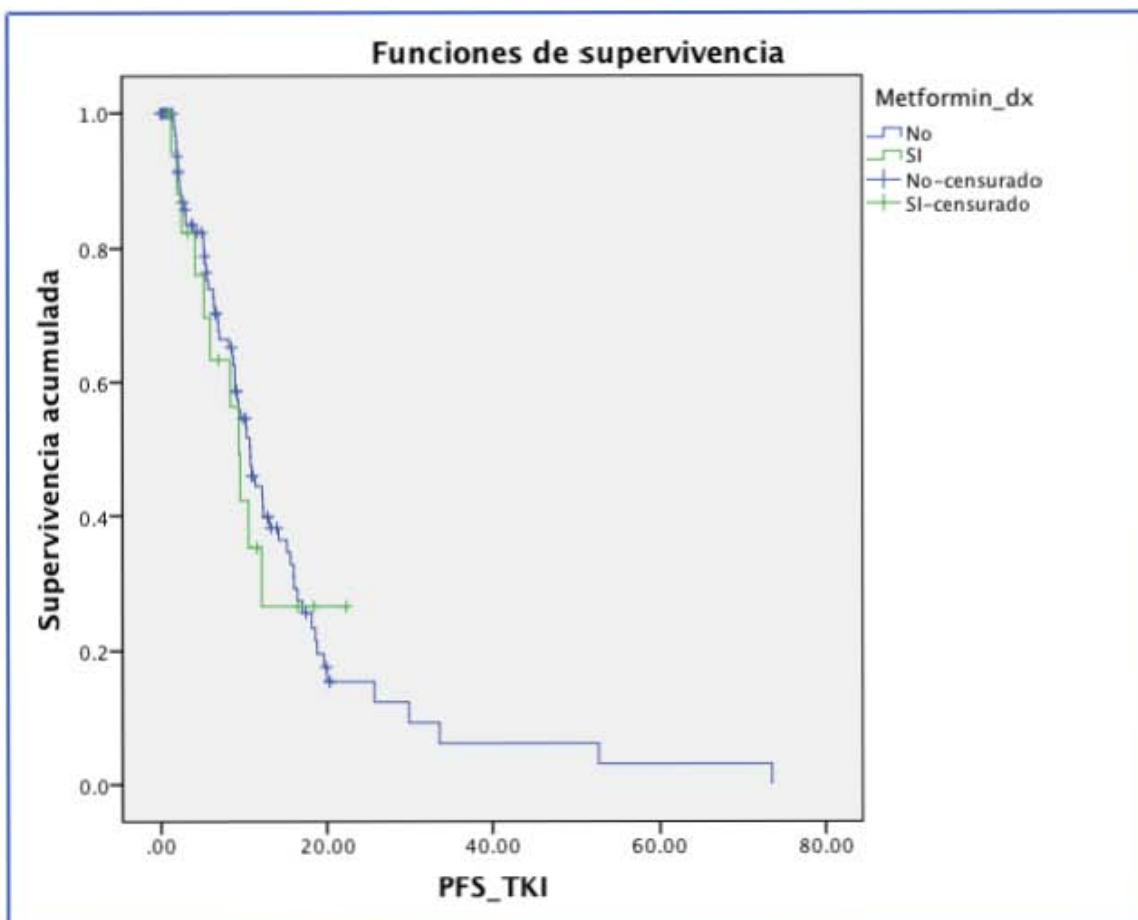
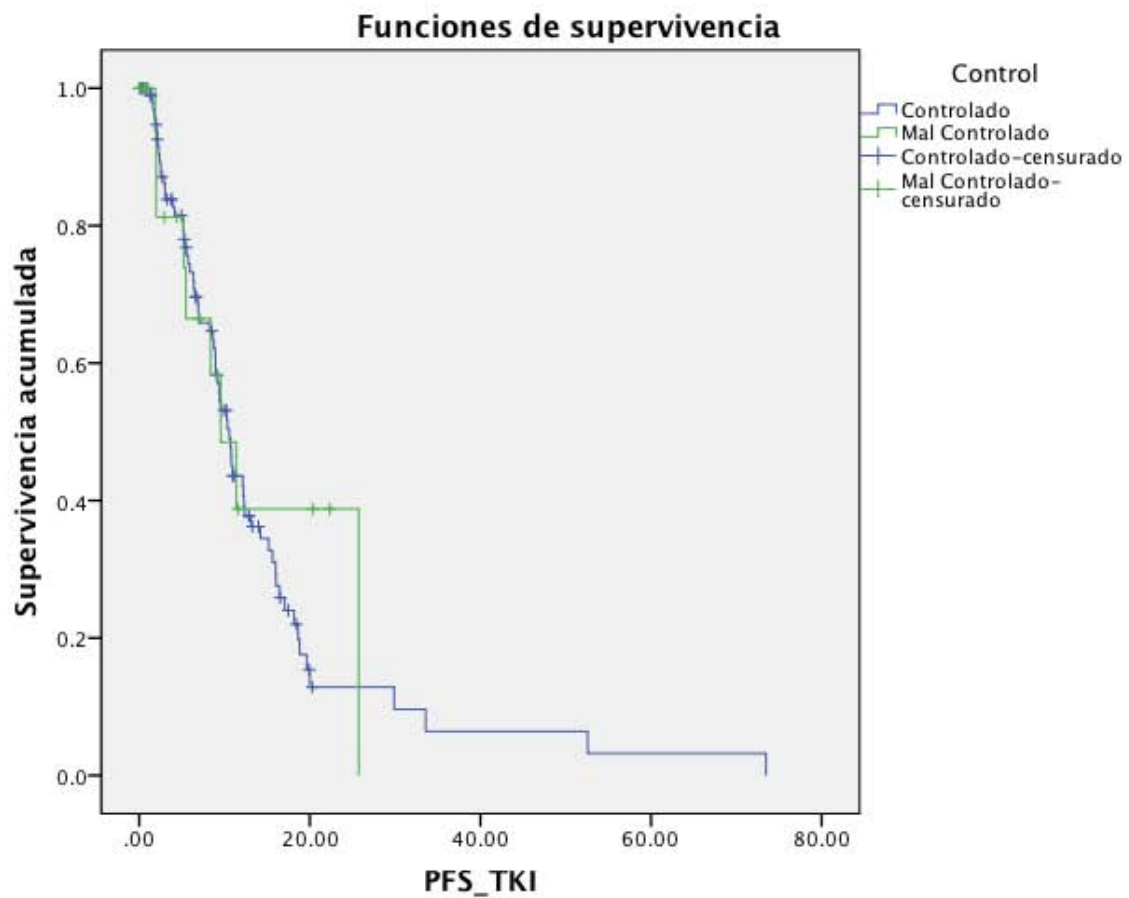


Figura 6: Supervivencia libre de progresión en pacientes que recibieron tratamiento con inhibidores tirocino-cinasa-EGFR de acuerdo al control glucémico.



REFERENCIAS

1. Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2015. *CA Cancer J Clin* 2015;65:5-29.
2. Arrieta O, Guzman-de Alba E, Alba-Lopez LF, et al. [National consensus of diagnosis and treatment of non-small cell lung cancer]. *Rev Invest Clin* 2013;65 Suppl 1:S5-84.
3. Alberg AJ, Ford JG, Samet JM, American College of Chest P. Epidemiology of lung cancer: ACCP evidence-based clinical practice guidelines (2nd edition). *Chest* 2007;132:29S-55S.
4. Doll R, Hill AB. The mortality of doctors in relation to their smoking habits; a preliminary report. *Br Med J* 1954;1:1451-5.
5. Doll R, Hill AB. Lung cancer and other causes of death in relation to smoking; a second report on the mortality of British doctors. *Br Med J* 1956;2:1071-81.
6. Li MY, Liu Y, Liu LZ, et al. Estrogen receptor alpha promotes smoking-carcinogen-induced lung carcinogenesis via cytochrome P450 1B1. *J Mol Med (Berl)* 2015.
7. White C, Bailar JC, 3rd. Retrospective and prospective methods of studying association in medicine. *Am J Public Health Nations Health* 1956;46:35-44.
8. Parsons A, Daley A, Begh R, Aveyard P. Influence of smoking cessation after diagnosis of early stage lung cancer on prognosis: systematic review of observational studies with meta-analysis. *BMJ* 2010;340:b5569.

9. Shigematsu H, Lin L, Takahashi T, et al. Clinical and biological features associated with epidermal growth factor receptor gene mutations in lung cancers. *J Natl Cancer Inst* 2005;97:339-46.
10. Fong KM, Sekido Y, Minna JD. Molecular pathogenesis of lung cancer. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1999;118:1136-52.
11. Arrieta O, Cardona AF, Martin C, et al. Updated Frequency of EGFR and KRAS Mutations in NonSmall-Cell Lung Cancer in Latin America: The Latin-American Consortium for the Investigation of Lung Cancer (CLICaP). *J Thorac Oncol* 2015;10:838-43.
12. Shaw AT, Solomon B. Targeting anaplastic lymphoma kinase in lung cancer. *Clin Cancer Res* 2011;17:2081-6.
13. Takahashi T, Sonobe M, Kobayashi M, et al. Clinicopathologic features of non-small-cell lung cancer with EML4-ALK fusion gene. *Ann Surg Oncol* 2010;17:889-97.
14. Soda M, Choi YL, Enomoto M, et al. Identification of the transforming EML4-ALK fusion gene in non-small-cell lung cancer. *Nature* 2007;448:561-6.
15. Bergethon K, Shaw AT, Ou SH, et al. ROS1 rearrangements define a unique molecular class of lung cancers. *J Clin Oncol* 2012;30:863-70.
16. Shaw AT, Ou SH, Bang YJ, et al. Crizotinib in ROS1-rearranged non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med* 2014;371:1963-71.
17. Eberhard DA, Johnson BE, Amler LC, et al. Mutations in the epidermal growth factor receptor and in KRAS are predictive and prognostic indicators in patients with non-small-cell lung cancer treated with chemotherapy alone and in combination with erlotinib. *J Clin Oncol* 2005;23:5900-9.

18. Shaw AT, Kim DW, Nakagawa K, et al. Crizotinib versus chemotherapy in advanced ALK-positive lung cancer. *N Engl J Med* 2013;368:2385-94.
19. Solomon BJ, Mok T, Kim DW, et al. First-line crizotinib versus chemotherapy in ALK-positive lung cancer. *N Engl J Med* 2014;371:2167-77.
20. Leighl NB, Rekhtman N, Biermann WA, et al. Molecular testing for selection of patients with lung cancer for epidermal growth factor receptor and anaplastic lymphoma kinase tyrosine kinase inhibitors: American Society of Clinical Oncology endorsement of the College of American Pathologists/International Association for the study of lung cancer/association for molecular pathology guideline. *J Clin Oncol* 2014;32:3673-9.
21. Lindeman NI, Cagle PT, Beasley MB, et al. Molecular testing guideline for selection of lung cancer patients for EGFR and ALK tyrosine kinase inhibitors: guideline from the College of American Pathologists, International Association for the Study of Lung Cancer, and Association for Molecular Pathology. *Arch Pathol Lab Med* 2013;137:828-60.
22. Rosell R, Carcereny E, Gervais R, et al. Erlotinib versus standard chemotherapy as first-line treatment for European patients with advanced EGFR mutation-positive non-small-cell lung cancer (EURTAC): a multicentre, open-label, randomised phase 3 trial. *Lancet Oncol* 2012;13:239-46.
23. Zhou C, Wu YL, Chen G, et al. Erlotinib versus chemotherapy as first-line treatment for patients with advanced EGFR mutation-positive non-small-cell lung cancer (OPTIMAL, CTONG-0802): a multicentre, open-label, randomised, phase 3 study. *Lancet Oncol* 2011;12:735-42.
24. Mok T, Yang JJ, Lam KC. Treating patients with EGFR-sensitizing mutations: first line or second line--is there a difference? *J Clin Oncol* 2013;31:1081-8.

25. Wu YL, Zhou C, Hu CP, et al. Afatinib versus cisplatin plus gemcitabine for first-line treatment of Asian patients with advanced non-small-cell lung cancer harbouring EGFR mutations (LUX-Lung 6): an open-label, randomised phase 3 trial. *Lancet Oncol* 2014;15:213-22.
26. Yang JC, Wu YL, Schuler M, et al. Afatinib versus cisplatin-based chemotherapy for EGFR mutation-positive lung adenocarcinoma (LUX-Lung 3 and LUX-Lung 6): analysis of overall survival data from two randomised, phase 3 trials. *Lancet Oncol* 2015;16:141-51.
27. Kosaka T, Yatabe Y, Endoh H, et al. Analysis of epidermal growth factor receptor gene mutation in patients with non-small cell lung cancer and acquired resistance to gefitinib. *Clin Cancer Res* 2006;12:5764-9.
28. Pao W, Miller VA, Politi KA, et al. Acquired resistance of lung adenocarcinomas to gefitinib or erlotinib is associated with a second mutation in the EGFR kinase domain. *PLoS Med* 2005;2:e73.
29. Engelman JA, Zejnullahu K, Mitsudomi T, et al. MET amplification leads to gefitinib resistance in lung cancer by activating ERBB3 signaling. *Science* 2007;316:1039-43.
30. Hirsh V. Encouraging data out of the 2010 Congress of the European Society for Medical Oncology with respect to non-small-cell lung cancer. *Curr Oncol* 2010;17:7-8.
31. Su KY, Chen HY, Li KC, et al. Pretreatment epidermal growth factor receptor (EGFR) T790M mutation predicts shorter EGFR tyrosine kinase inhibitor response duration in patients with non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol* 2012;30:433-40.

32. Yu HA, Arcila ME, Hellmann MD, Kris MG, Ladanyi M, Riely GJ. Poor response to erlotinib in patients with tumors containing baseline EGFR T790M mutations found by routine clinical molecular testing. *Ann Oncol* 2014;25:423-8.
33. Miller VA, Hirsh V, Cadranel J, et al. Afatinib versus placebo for patients with advanced, metastatic non-small-cell lung cancer after failure of erlotinib, gefitinib, or both, and one or two lines of chemotherapy (LUX-Lung 1): a phase 2b/3 randomised trial. *Lancet Oncol* 2012;13:528-38.
34. Sequist LV, Soria JC, Goldman JW, et al. Rociletinib in EGFR-mutated non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med* 2015;372:1700-9.
35. Li L, Han R, Xiao H, et al. Metformin sensitizes EGFR-TKI-resistant human lung cancer cells in vitro and in vivo through inhibition of IL-6 signaling and EMT reversal. *Clin Cancer Res* 2014;20:2714-26.
36. Thiery JP, Acloque H, Huang RY, Nieto MA. Epithelial-mesenchymal transitions in development and disease. *Cell* 2009;139:871-90.
37. Yu H, Jove R. The STATs of cancer--new molecular targets come of age. *Nat Rev Cancer* 2004;4:97-105.
38. Kim SM, Kwon OJ, Hong YK, et al. Activation of IL-6R/JAK1/STAT3 signaling induces de novo resistance to irreversible EGFR inhibitors in non-small cell lung cancer with T790M resistance mutation. *Mol Cancer Ther* 2012;11:2254-64.
39. Yao Z, Fenoglio S, Gao DC, et al. TGF-beta IL-6 axis mediates selective and adaptive mechanisms of resistance to molecular targeted therapy in lung cancer. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2010;107:15535-40.

40. Hirsch FR, Varella-Garcia M, Bunn PA, Jr., et al. Epidermal growth factor receptor in non-small-cell lung carcinomas: correlation between gene copy number and protein expression and impact on prognosis. *J Clin Oncol* 2003;21:3798-807.
41. Giovannucci E, Harlan DM, Archer MC, et al. Diabetes and cancer: a consensus report. *Diabetes Care* 2010;33:1674-85.
42. Hall GC, Roberts CM, Boulis M, Mo J, MacRae KD. Diabetes and the risk of lung cancer. *Diabetes Care* 2005;28:590-4.
43. Evans JM, Donnelly LA, Emslie-Smith AM, Alessi DR, Morris AD. Metformin and reduced risk of cancer in diabetic patients. *BMJ* 2005;330:1304-5.
44. Noto H, Goto A, Tsujimoto T, Noda M. Cancer risk in diabetic patients treated with metformin: a systematic review and meta-analysis. *PLoS One* 2012;7:e33411.
45. Cufi S, Vazquez-Martin A, Oliveras-Ferraros C, Martin-Castillo B, Joven J, Menendez JA. Metformin against TGFbeta-induced epithelial-to-mesenchymal transition (EMT): from cancer stem cells to aging-associated fibrosis. *Cell Cycle* 2010;9:4461-8.
46. Morgillo F, Sasso FC, Della Corte CM, et al. Synergistic effects of metformin treatment in combination with gefitinib, a selective EGFR tyrosine kinase inhibitor, in LKB1 wild-type NSCLC cell lines. *Clin Cancer Res* 2013;19:3508-19.
47. Fasano M, Della Corte CM, Capuano A, et al. A multicenter, open-label phase II study of metformin with erlotinib in second-line therapy of stage IV non-small-cell lung cancer patients: treatment rationale and protocol dynamics of the METAL trial. *Clin Lung Cancer* 2015;16:57-9.

48. Morgillo F, Sasso FC, Della Corte CM, et al. Metformin in lung cancer: rationale for a combination therapy. *Expert Opin Investig Drugs* 2013;22:1401-9.

49. Iliopoulos D, Hirsch HA, Struhl K. Metformin decreases the dose of chemotherapy for prolonging tumor remission in mouse xenografts involving multiple cancer cell types. *Cancer Res* 2011;71:3196-201.

50. Tan BX, Yao WX, Ge J, et al. Prognostic influence of metformin as first-line chemotherapy for advanced nonsmall cell lung cancer in patients with type 2 diabetes. *Cancer* 2011;117:5103-11.

1.