



## **UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

PROGRAMA DE MAESTRÍA EN CIENCIAS MÉDICAS, ODONTOLÓGICAS Y DE LA SALUD

FACULTAD DE MEDICINA, UNAM  
INSTITUTO NACIONAL DE CANCEROLOGÍA

FACTORES ASOCIADOS A LA RESPUESTA TERAPÉUTICA CON AFATINIB  
EN PACIENTES CON CÁNCER PULMONAR DE CÉLULAS NO PEQUEÑAS

TESIS  
QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:  
MAESTRA EN CIENCIAS DE LA SALUD

PRESENTA:  
LAURA ALEJANDRA RAMÍREZ TIRADO

TUTOR:  
DR. OSCAR GERARDO ARRIETA RODRÍGUEZ  
INVESTIGADOR EN CIENCIAS MÉDICAS "E"  
INSTITUTO NACIONAL DE CANCEROLOGÍA

México D.F. a 24 de Octubre del 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.

## **AGRADECIMIENTOS**

Gracias de corazón a mi tutor Óscar Arrieta por su dedicación, motivación, criterio y aliento. Ha sido un privilegio contar con su guía y ayuda.

Gracias a los profesionales que colaboraron en este proyecto, sin cuya colaboración este trabajo hubiera sido mucho más largo, complicado y menos rico.

Gracias al magnífico equipo de profesionales que hay en ambas casas( INCan e INER) con los que he compartido jornadas laborales, risas, pero sobre todo muchas experiencias enriquecedoras y conocimiento, todo lo cual ha colaborado para desarrollarme mejor como ser humano y profesionista a lo largo de estos años, Dra. Lourdes Barrera, Dra. Saé Muñiz Hernández, Dra. Norma Hernández Pedro, Dr. Omar Macedo Pérez, Dra. Renata Báez Saldaña, Dr. Jose Luis Bañales Pérez.

Gracias a todas las personas que de una manera u otra han sido claves en mi vida profesional y por extensión, en la personal: mis compañeros en el INCan y amigos del alma, sin los cuales mi camino en el INCan y este trabajo no hubieran sido los mismos, por su buen criterio, su prodigiosa mente, su capacidad de esfuerzo, sus enseñanzas, su solidaridad y empatía, Jorge Negueb Martínez Hernández, Eduardo Amieva Rivera, Itzel Adinelly Castilla Machado, Pedro Barrios Bernal, Edgar montes Servín, Maria Fernanda Salinas Parra y Enrique Caballé Pérez.

Gracias a todas las personas de la Unidad de Oncología Torácica en el INCan, por su atención y amabilidad en todo lo referente a mi vida como alumna de maestría.

Gracias a mis maestros por sus consejos experiencias y conocimientos dentro y fuera de aulas, Dr. Malaquías López Cervantes, Dr. Jesús Alegre Díaz.

Una especial gratitud al equipo de profesionales en la Universidad de Oxford, cuyos conocimientos y experiencias me han enriquecido enormemente a nivel profesional, Louisa Grnatiuc, Dr. Richard Peto, Dr. Jonathan Emberson y Dr. Will Herrington.

Y por encima de todo y con todo mi amor les agradezco y dedico este trabajo a mi familia, por estar conmigo en estos años. Gracias Sandy, Dany, Laura y Alejandro.

## Contenido

FIGURAS.....	5
TABLAS.....	6
Introducción .....	7
Marco Teórico del Carcinoma Broncogénico.....	8
Epidemiología Mundial.....	8
Epidemiología en México .....	10
Factores de riesgo .....	11
Ocupacionales y ambientales.....	11
Personales.....	12
Asociados con el consumo de tabaco .....	12
Asociados a la exposición al humo de leña .....	13
Diagnóstico y clasificación.....	13
Histología .....	13
Estatificación.....	13
.....	14
tratamiento estándar .....	14
Cirugía .....	14
Radioterapia.....	15
Quimioterapia .....	15
Perfil molecular del Cáncer broncogénico.....	16
Factor de crecimiento hepatocítico (HGF) .....	18
Quinasa de linfoma anaplásico (ALK) .....	18
Receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR).....	19
Inhibidores de Tirosina Cinasa (ITC) .....	20
Justificación .....	22
Pregunta de Investigación .....	23
Objetivo General .....	23
Objetivos específicos.....	23
Metodología .....	24
Diseño .....	24
Población de estudio.....	24
Criterios de Inclusión.....	24
Criterios de Exclusión .....	25
Procedimientos .....	26
Terapia con Afatinib .....	26
Asignación a grupos de tratamiento .....	26
Rescates y procedimientos terapéuticos adicionales.....	26
Seguimiento y recolección de datos clínicos.....	27
Determinación de pruebas moleculares .....	28
Evaluación del número de copias del gen de HER-2 por FISH .....	28
Determinación de mutaciones en los genes de EGFR .....	28
Extracción de ADN .....	28
Amplificación de EGFR y K-RAS por PCR (Reacción en Cadena de la Polimerasa) y Secuenciación.....	29

Plan de análisis .....	30
Desenlaces clínicos.....	30
Análisis estadístico .....	31
Resultados .....	31
Características generales.....	31
Perfil Molecular .....	32
Respuesta terapéutica con Afatinib .....	33
Factores asociados con la respuesta terapéutica a Afatinib.....	34
Perfil toxicológico.....	34
Sobrevida libre de Progresión .....	36
Discusión.....	49
CONCLUSIONES .....	51
Bibliografía.....	52
ANEXO 1. Descripción de actividades durante la maestría.....	57
Colaboración realizada dentro del proyecto de tesis durante la maestría.....	57
Colaboración realizada en otros proyectos durante la maestría.....	58
Anexo 2. Resumen técnico sobre la determinación de mutaciones de EGFR.....	61
Anexo 3. Listado de cursos-congresos durante la maestría.....	66
Anexo 4. Productividad científica durante la maestría .....	68
Anexo 5a. Constancia de asistencia como alumna de la Universidad de Oxford.....	70
Anexo 5b. Reporte técnico de la estancia de investigación en la Universidad de Oxford .....	72
.....	75
Anexo 5c. Reporte de evaluación emitido por la Universidad de Oxford .....	76
Anexo 6.Historia académica .....	79

## FIGURAS

**Figura 1.** Prevalencia y supervivencia global (SG) del carcinoma pulmonar según estadio clínico al diagnóstico <sup>2</sup>.

**Figura 2.** Tasas de incidencia y mortalidad por 100,000 habitantes ajustada por edad para el periodo 1975-2012<sup>1</sup>.

**Figura 3.** Tasa de mortalidad ajustada para todas las edades por 100,000 habitantes <sup>[Fuente: GLOBOCAN 2008 (IARC)] 5</sup>.

**Figura 4.** Esquema de las vías de MAPK y PI3K. Factor de crecimiento de unión al receptor de los resultados de la tirosina quinasa en la activación de la vía de señalización MAPK (RAS-RAF-MEK-ERK) y de la vía PI3K (PI3K-AKT-mTOR). La letra "K" dentro del esquema denota el dominio tirosina quinasa.

**Figura 4b.** Esquema de la prevalencia y localización de las variantes de mutación en el receptor del factor de crecimiento epidermoide.

**Figura 5.** Diagrama de flujo de la selección, reclutamiento y seguimiento de los pacientes

**Figura 6.** Supervivencia libre de progresión en los pacientes tratados con Afatinib

**Figura 7.** Supervivencia libre de progresión en los pacientes tratados con Afatinib según estado de mutado o no en EGFR

**Figura 8.** Supervivencia libre de progresión en los pacientes tratados con Afatinib según si presentaron una reducción en la concentración sérica del Factor de crecimiento Hepatocítico (HGF) antes y después del tratamiento en todos los pacientes.

**Figura 9.** Supervivencia libre de progresión en los pacientes tratados con Afatinib según si presentaron una reducción en la concentración sérica del Factor de crecimiento Hepatocítico (HGF) antes y después del tratamiento los pacientes con mutación en EGFR.

**Figura 10.** Supervivencia global en los pacientes tratados con Afatinib

**Figura 11.** Supervivencia global en los pacientes tratados con Afatinib según estado de mutado o no en EGFR

**Figura 12.** Supervivencia global en los pacientes tratados con Afatinib según reducción o no en la concentración sérica en el factor de crecimiento hepatocítico (HGF) tras el tratamiento, en todos los pacientes.

**Figura 13.** Supervivencia global en los pacientes tratados con Afatinib según reducción o no en la concentración sérica en el factor de crecimiento hepatocítico (HGF) tras el tratamiento, en los pacientes con mutación en EGFR.

## TABLAS

**Tabla 1.** Esquema de estadificación simplificado, tratamiento y sobrevida a 5 años del cáncer pulmonar de células no pequeñas<sup>3</sup>.

**Tabla 2.** Esquema de estadificación simplificado, tratamiento y sobrevida a 5 años del cáncer pulmonar de células pequeñas<sup>3</sup>.

**Tabla 3.** Estadificación TNM del Carcinoma Broncogénico

**Tabla 4.** Resumen de los principales estudios evaluando el valor predictivo de la mutación en el oncogén K-ras con respecto a la quimioterapia basada en Gefitinib o Erlotinib

**Tabla 5.** Comparación en el tiempo de sobrevida libre de progresión (SLP) en pacientes con mutación en EGFR vs. Quimioterapia basada en platinos. (Revisión de 8 ensayos clínicos controlados).

**Tabla 6.** Comparación en el tiempo de sobrevida global (SG) en pacientes con mutación en EGFR vs. Quimioterapia basada en platinos. (Revisión de 8 ensayos clínicos controlados).

**Tabla 7.** Procedimientos de rescate ante algún evento adverso derivado de la terapia con Afatinib

**Tabla 8.** Recomendaciones en caso de que la participante se encuentre embarazada.

**Tabla 9.** Principales desenlaces clínicos a evaluar

**Tabla 10.** Características clínicas basales (N=66)

**Tabla 11.** Características patológicas y moleculares (N=66)

**Tabla 12.** Respuesta terapéutica con Afatinib (N=66)

**Tabla 13.** Perfil de toxicidad clínica al tratamiento con Afatinib

**Tabla 14.** Características clínicas de los pacientes con base en la respuesta terapéutica con Afatinib

**Tabla 15.** Análisis univariado y multivariado de los factores asociados con la sobrevida libre de progresión en todos los pacientes

**Tabla 16.** Análisis univariado y multivariado de los factores asociados con la sobrevida libre de progresión en los pacientes con mutación en el receptor del factor del crecimiento epidérmico (EGFR).

**Tabla 17.** Análisis univariado y multivariado de los factores asociados con la sobrevida global con Afatinib en todos los pacientes

**Tabla 18.** Análisis univariado y multivariado de los factores asociados con la sobrevida global con Afatinib en los pacientes con mutación en el receptor del factor del crecimiento epidérmico (EGFR).

## Introducción

El cáncer de pulmón es la primera causa de muerte de naturaleza neoplásica en México y el resto del mundo. La enfermedad avanzada es el estadio clínico más común al momento del diagnóstico y conlleva un pronóstico sombrío. La quimioterapia basada en platinos, es el tratamiento de elección. Sin embargo, dada la toxicidad, su uso es restringido. Las terapias dirigidas, como son los inhibidores de tirosina kinasa reversibles (TKIs, por sus siglas en inglés) (ej. Gefitinib y Erlotinib) han demostrado una respuesta terapéutica mayor sobre todo en aquellos pacientes con mutación en el factor del receptor de crecimiento epidérmico (EGFR, por sus siglas en inglés). Sin embargo, se han descrito mutaciones secundarias que confieren resistencia a estos agentes. El Afatinib (BIBW 2992) es una molécula que inhibe la tirosinasa irreversiblemente con actividad sobre el EGFR. En 2003 se inicia un ensayo clínico fase II en el Instituto Nacional de Cancerología (INCan) para conocer la respuesta y toxicidad de ésta nueva molécula. El objetivo del presente estudio es describir las características demográficas, sociales y moleculares que condicionan la respuesta terapéutica con un inhibidor de tirosina kinasa irreversible en pacientes con cáncer pulmonar de células no pequeñas (CPCNP). Para ello, se realizó un ensayo clínico aleatorizado fase II prospectivo en 66 sujetos que recibieron 50mg de Afatinib en ciclos de 28 días hasta la progresión de la enfermedad, toxicidad irreversible o muerte. En el presente estudio, el Afatinib tuvo un perfil de toxicidad leve. Asimismo, se encontró una mayor tasa de respuesta objetiva, supervivencia global asociada con el estado de mutación en EGFR y de una reducción sérica en el HGF pre y post-tratamiento. Nuestros resultados sugieren que la mutación del EGFR en conjunto con la medición del HGF podrían servir como biomarcadores de respuesta a la terapia con Afatinib.



### EPIDEMIOLOGÍA MUNDIAL

#### **Incidencia**

El carcinoma broncogénico (CB) representa un problema de salud pública. De acuerdo con un estudio poblacional con datos del Programa de Vigilancia Epidemiológica (SEER, por sus siglas en inglés) de los Estados Unidos de América (E.U.A), la tasa de incidencia (TI) global fue de 63/100,000 habitantes para el periodo de 1974-2003 <sup>1</sup>. Por género, el mismo estudio señala que la TI incrementó en para el género femenino de 26.6/100,000 habitantes durante el periodo de 1974-1978 a 51.6/100,00 habitantes para el periodo de 1999-2003. En tanto, la TI en los varones disminuyó de 92.7 a 80.9/100,000 habitantes durante los mismos periodos<sup>1</sup>. Estadísticas más recientes del SEER señalan que la TI anual ajustada por edad para ambos sexos fue de 58.7/100,000 habitantes para el periodo 2008-2012<sup>2</sup>.

#### **Edad de aparición**

El CB es una patología que se presenta en edades avanzadas, con una mediana de edad de 70 años. Según el SEER, el CB figuró dentro de las neoplasias con un incremento en 2 o más años en la edad de aparición durante el periodo de 1974-2003 <sup>1</sup>. El riesgo de desarrollar un CB a lo largo de la vida es de 1:12 en varones contra 1:16 en las mujeres, según estimaciones del SEER<sup>1</sup>.

#### **Mortalidad**

La supervivencia global a 5 años estimada para el periodo de 1974-2003 en las 17 regiones geográficas incluidas en el SEER fue del 16% <sup>1</sup>. Asimismo, según datos más recientes del SEER la tasa de mortalidad global anual ajustada por edad fue de 42.7/100,000 habitantes en el periodo 2008-2012<sup>2</sup>. No obstante, existen variaciones sustanciales en la sobrevida global asociadas tanto a factores personales y ocupacionales como a factores propios de la enfermedad.

Como función del estadio clínico al momento del diagnóstico, la sobrevida global puede variar del 54% para la enfermedad localmente avanzada a menos del 5% para la enfermedad metastásica y constituye el factor pronóstico de mayor peso en la sobrevida a 5 años<sup>1</sup>. La mediana de sobrevida estimada para el cáncer pulmonar de células no pequeñas y para el de células pequeñas, el estadio clínico al momento del diagnóstico se resume en las tablas 1 y 2<sup>3</sup>. Otros factores asociados con un pronóstico sombrío son la edad avanzada, el sexo masculino y la raza afroamericana.(Trends & Clinical, 2013)<sup>4</sup> De acuerdo con el SEER, la supervivencia a 5 años fue menor en poblaciones de raza negra (13%) en comparación con poblaciones caucásicas (16%).

**Tabla 1.** Esquema de estadificación simplificado, tratamiento y sobrevida a 5 años del cáncer pulmonar de células no pequeñas<sup>3</sup>.

Estadio	% al diagnóstico	Definición	Tratamiento	Sobrevida a 5 años (%)
I	10 a 20	Lesión aislada	Cirugía ± Quimioterapia	>60
II	10 a 20	Extensión ganglionar hilar	Cirugía ± Radiación ± Quimioterapia	40 a 50
IIIA	15	Extensión mediastinal pero resecable	Quimiorradiación ± Resección quirúrgica	25 a 30
IIIB	15	Irresecable	Quimioterapia	10 a 20
IV	40	Metastásico	Quimioterapia ± cuidados de soporte y radiación paliativa	1

Fuente: NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology, www.nccn.org

**Tabla 2.** Esquema de estadificación

simplificado, tratamiento y sobrevida a 5 años del cáncer pulmonar de células pequeñas<sup>3</sup>.

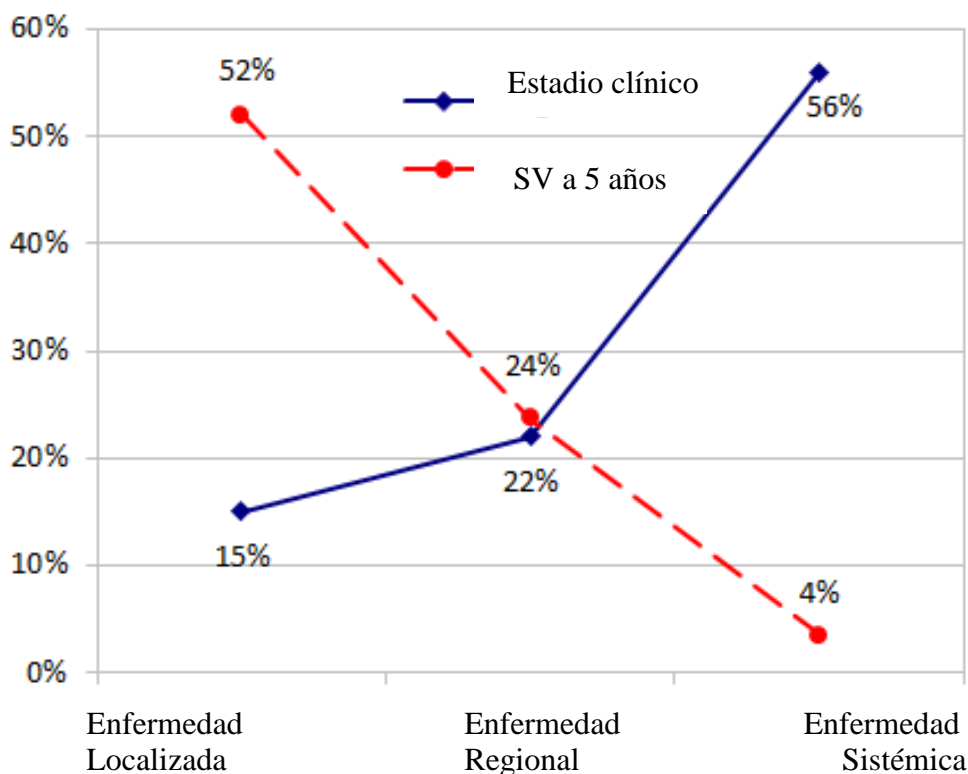
Estadio	% al diagnóstico	Definición	Tratamiento	Sobrevida Media
Limitado	30 a 40	Confinado a hemitórax ipsilateral	Radioterapia ± Quimioterapia ± Radiación profiláctica craneal	1 a 2 años
Extendido	60 a 60		Quimioterapia ± Radiación profiláctica craneal	alrededor de 1 año

Fuente: NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology, www.nccn.org

**Prevalencia**  
El estadio clínico al

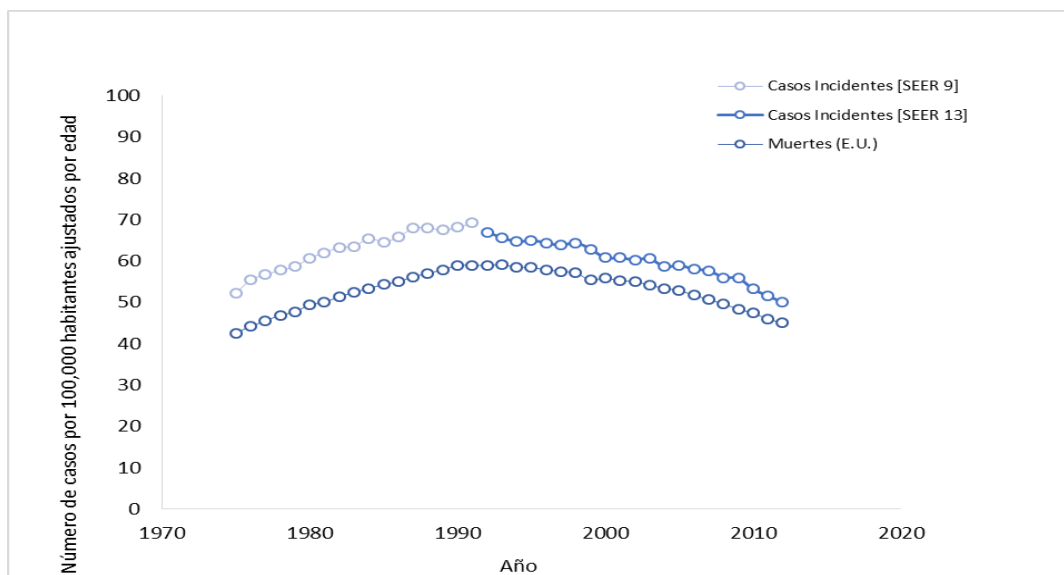
momento del diagnóstico con mayor prevalencia a nivel global es la enfermedad metastásica (40%). En consecuencia, el pronóstico del CB es pobre con un alto índice de letalidad que permite una aproximación estrecha entre la incidencia y la mortalidad registradas en las estadísticas vitales rutinarias<sup>4</sup>. En la figura 1 podemos ver la prevalencia del estadio clínico al momento del diagnóstico y el porcentaje de sobrevida a 5 años de la enfermedad para cada estadio clínico.

**Figura 1.** Prevalencia y sobrevida(SV) del Cáncer Broncogénico según estadio clínico al diagnóstico<sup>2</sup>.



Con respecto al efecto de las diferencias de género sobre la incidencia y la mortalidad cabe reparar en que el principal factor de riesgo considerado es el tabaquismo. Luego, dado que la prevalencia y grado de exposición en los fumadores activos con base en el género es y ha sido distinta históricamente las tendencias de mortalidad por cáncer pulmonar estandarizadas por género son diferentes <sup>3</sup>.

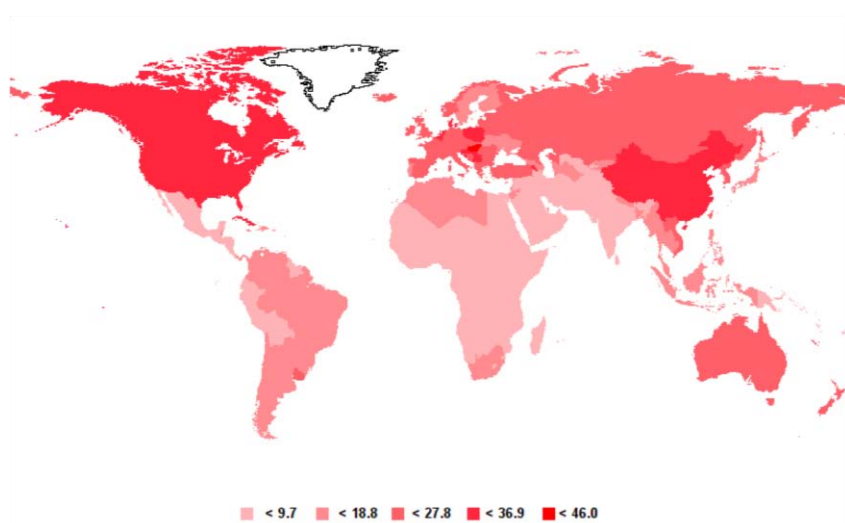
**Figura 2.** Tasas de incidencia y mortalidad por 100,000 habitantes ajustada por edad para el periodo 1975-2012<sup>1</sup>.



## EPIDEMIOLOGÍA EN MÉXICO

En México, de acuerdo con el GLOBOCAN para el año 2008 la tasa de mortalidad es de (9.0) con un riesgo de atribuible de muerte igual a 1.58. (Fig. 3)

**Figura 3. Tasa de mortalidad ajustada para todas las edades por 100,000 habitantes** [Fuente: GLOBOCAN 2008 (IARC)] 5.



De acuerdo con el instituto nacional de estadística y geografía (INEGI), en México, las muertes atribuibles por CB han incrementado. Para 1998, de acuerdo con los registros de defunciones del equivalían a 6,210 casos, para el 2011, el número de muertes secundarias a esta causa fué de 6,730 casos. Sin embargo, este incremento ha sido más pronunciado en las mujeres; en quienes para 1998 reportaban alrededor de 1,900 muertes y para el 2011 registran cerca de 2,500 muertes anuales, lo que significó un incremento de casi el 30% 6.

#### FACTORES DE RIESGO

El cáncer pulmonar, al igual que muchas otras neoplasias deriva de una acumulación gradual de anomalías genéticas que transforman el epitelio bronquial benigno en tejido neoplásico. Estas anomalías, se adquieren por la interacción sinérgica entre a) la exposición a agentes neumo-oncológicos y b) la susceptibilidad individual del huésped a estos agentes.

De acuerdo con la organización mundial de la salud, un factor de riesgo es cualquier rasgo, característica o exposición de un individuo que aumente su probabilidad de sufrir una enfermedad o lesión. Los factores de riesgo más importantes para el desarrollo de CB se pueden clasificar en aquellos ocupacionales y ambientales, personales y asociados al consumo de tabaco y serán descritos a continuación.

#### Ocupacionales y ambientales

Dentro de los factores de riesgo ocupacionales y ambientales descritos con mayor frecuencia para el desarrollo del CB está la exposición a radón, asbesto, arsénico y la contaminación ambiental.

El radón es un gas inoloro, incoloro y sin sabor radiactivo que se origina naturalmente al descomponerse el uranio en el suelo y las rocas. El riesgo de cáncer de pulmón debido al radón es mucho menor que el riesgo que causa el humo del tabaco. Sin embargo, el riesgo por radón es mucho mayor en las personas que fuman que en las que no fuman 3.

La exposición laboral a fibras del asbesto es un importante factor de riesgo para el cáncer de pulmón. Los estudios han encontrado que las personas que trabajan con asbesto (en algunas minas, molinos, fábricas textiles, lugares donde se ha usado material de aislamiento, astilleros, etc.) tienen una probabilidad varias veces mayor de morir de cáncer de pulmón y mesotelioma, un tipo de cáncer que se inicia en la pleura <sup>7-8</sup>.

Con respecto al arsénico, estudios realizados en personas que viven en partes del sureste de Asia y América del Sur donde existen altos niveles de arsénico en el agua potable han descubierto un mayor riesgo de cáncer de pulmón. En la mayoría de estos estudios, los niveles de arsénico en el agua eran muchas veces más elevados que los niveles usualmente registrados en los Estados Unidos, incluso en áreas donde los niveles de arsénico están por encima de lo normal <sup>9</sup>.

Finalmente, la contaminación del aire (especialmente las cercanas a carreteras con mucho tráfico) parece aumentar ligeramente el riesgo de cáncer de pulmón. Este riesgo es mucho menor que el que ocasiona el hábito de fumar, pero algunos investigadores calculan que a escala mundial alrededor del 5% de todas las muertes por cáncer de pulmón se pueden deber a la contaminación del aire exterior <sup>9</sup>.

### Personales

Existen diferentes factores de riesgo asociados al hospedero, que se han asociado con una mayor probabilidad de presentar CB, tales como el género, la raza, el estado socioeconómico, los antecedentes familiares y la exposición previa a radioterapia. Como ya se mencionó, el género masculino, la raza afroamericana y un nivel socio económico bajo han sido reportados como los factores del hospedero asociados con un riesgo de 2 a 3 veces mayor para presentar CB <sup>9</sup>. Con respecto a los antecedentes familiares, actualmente se desconoce el riesgo asociado, sin embargo, se ha descrito que los hermanos, hermanas e hijos de aquellas personas que han padecido cáncer de pulmón pueden tener un riesgo ligeramente mayor de padecer ellos mismos el cáncer de pulmón, especialmente si un familiar fue diagnosticado a una edad más joven.

Por otro lado, las personas que han recibido radioterapia en el pecho para tratar otros tipos de cáncer tienen un mayor riesgo de padecer cáncer de pulmón, particularmente si fuman; por ejemplo, las personas que han recibido tratamiento contra la enfermedad Hodgkin o mujeres con cáncer de seno que han recibido radiación después de una mastectomía <sup>9,11</sup>.

### Asociados con el consumo de tabaco

Fumar, es el factor de riesgo más importante del cáncer de pulmón. A principios del siglo veinte, el cáncer de pulmón era una enfermedad mucho menos común que otros tipos de cáncer <sup>12</sup>. Sin embargo, esto cambió cuando comenzaron a venderse los cigarrillos empaquetados y éstos se hicieron fácilmente disponibles, lo que ocasionó que más personas comenzaran a fumar. Al menos 80% de las muertes por cáncer de pulmón se debe al hábito de fumar. El riesgo de cáncer de pulmón entre los fumadores es 7 a 30 veces mayor que entre los no fumadores <sup>13</sup>.

Del mismo modo, respirar el humo que otros producen (*humo de segunda mano* o *humo de tabaco ambiental*)

aumenta el riesgo de cáncer de pulmón. Una persona que no fuma, pero que vive con un fumador tiene un mayor riesgo de alrededor de 20% a 30% de cáncer de pulmón. Los trabajadores que han estado expuestos al humo del tabaco en su área de trabajo también tienen más probabilidades de padecer cáncer de pulmón <sup>13</sup>.

### Asociados a la exposición al humo de leña

Se ha reportado que el humo de la madera produce cambios similares en la expresión de p53, fosfo- p53 y MDM2 similares a las provocada por el humo del tabaco . El estudio de Delgado J y cols., aproximadamente el 38,7% de los pacientes con cáncer de pulmón examinados tenía una asociación con la exposición al humo de leña, la mayoría de ellos mujeres que viven en zonas rurales. En este estudio, también se encontró que el tipo histológico de adenocarcinoma estaba presente en el 46,7% de estos pacientes<sup>13</sup>.

## DIAGNÓSTICO Y CLASIFICACIÓN

### Histología

El CB se divide histológicamente en dos grandes grupos: cáncer pulmonar de células pequeñas (CPCP) y el cáncer pulmonar de células no pequeñas (CPCNP). El CPCNP es la variante histológica más común y constituye del 80 al 85% de los casos de cáncer pulmonar. El CPCNP se subdivide a su vez en tres subtipos histológicos que toman el nombre del tipo de células en dónde se desarrolla el cáncer: carcinoma de células escamosas (también llamado carcinoma epidermoide), adenocarcinoma y carcinoma de células grandes <sup>7</sup>.

### Estatificación

La estadificación clínica del CB se realiza con base en el TNM, que evalúa el tamaño tumoral, la extensión ganglionar (ej. ganglios hiliares mediastínicos) y la diseminación a distancia (ej. hígado, glándulas suprarrenales, médula ósea y cerebro). Una estadificación precisa es fundamental para planear el tratamiento más adecuado para cada paciente. En la siguiente tabla 3 podemos ver la clasificación TNM y los estadios del CPCNP en el momento del diagnóstico según la Asociación Americana contra el Cáncer (AJCC) <sup>3</sup>.

**Tabla 3. Estatificación TNM del Carcinoma Broncogénico**

Tumor primario (T)	Descripción
Tx	Células neoplásicas presentes en secreciones pero no visibles en la Rx de tórax y mediante la broncoscopia
To	Sin evidencia del tumor primario
T1	Tumor de hasta 3 cm de diámetro rodeado de parenquima pulmonar sano o pleura visceral sin compromiso del bronquio lobar
T2	Tumor de más de 3 cm de diámetro o que invade la pleura visceral; tiene asociada atelectasia o neumonitis obstructiva hasta el hilio. Extensión distal máxima de hasta 2 cm de la carina.
T3	Tumor de cualquier tamaño que comprometa la pared torácica, el diafragma, la pleura mediastínica o el pericardio y sin afectar los vasos o vísceras vecinas, o tumor a menos de 2 cm de la carina
T4	Tumor de cualquier tamaño que comprometa grandes vasos vecinos o la carina. Presencia de derrame pleural neoplásico

Ganglios linfáticos regionales (N)	Descripción
N0	No se demuestra compromiso ganglionar
N1	Metástasis en ganglios peribronquiales, hiliar homolateral o ambos
N2	Metástasis en el mediastino homolateral y /o ganglios linfáticos subcarinales
N3	Metástasis en ganglios mediastínicos contralaterales, hiliar contralateral y escaeno o supraclavicular homolateral y/o contralateral
Metástasis (M)	Descripción
M0	Sin metástasis a distancia demostrables
M1	Con metástasis a distancia demostrable
Estadio	Descripción
IA	T1N0M0
IB	T2N0M0
IIA	T1N1M0
IIB	T2N1M0, T3N0M0
IIIA	T3N1M0, T(1-3)N2M0
IIIB	T4N(0-3)M0, T(1-4)N3M0
IV	T(cualquier)N(cualquier)M1

## TRATAMIENTO ESTÁNDAR

El tratamiento estandarizado del CB depende del tipo histológico y estadio clínico. A continuación se describen las opciones terapéuticas disponibles estandarizadas para el tratamiento del CB.

### Cirugía

El tratamiento quirúrgico es de elección para el estudio temprano de la enfermedad (I Y II); La lobectomía y la linfadenectomía es el proceder mínimo que se debe realizar con carácter oncológico y menor morbilidad y mortalidad asociada; otros tipos de resecciones incluyen a la neumonectomía, bilobectomía y resección en cuña <sup>3,14-15</sup>.

En los estadios I y II siempre está indicada la cirugía, en el estadio IIIa la cirugía ha demostrado que prolonga la supervivencia a 5 años del 10 % al 20% siempre que la resección quirúrgica sea completa. En los estadios IIIb y IV no está indicada, con una excepción: aquellos casos con metástasis cerebral única y tumor torácico resecable, pudiendo conseguir en estos pacientes una supervivencia a 5 años de hasta el 25%. A veces, al diagnóstico la neoplasia se presenta con un nódulo único en cada pulmón y el tratamiento debe considerar el de peor pronóstico o el tumor más avanzado. La cirugía se puede efectuar con criterio paliativo en los casos de hemoptisis, abscesación o presencia de dolor intratable. Los resultados de la cirugía han mejorado en la última década, con menor del 4% de morbilidad y aproximadamente 30% de recidiva locales. Numerosos ensayos han utilizado la quimioterapia o radioterapia neoadyuvante en pacientes con compromiso ganglionar (N2), pudiendo ser posteriormente resecado el 50% de los tratados<sup>3</sup>.

### Radioterapia

Puede ser una alternativa de la cirugía cuando ésta presenta excesivo riesgo. Se puede obtener un control local en el 60% de los pacientes con estadio III y una supervivencia del 20% a 5 años. La dosis habitual aplicada es de 50-60 Gy. Una segunda utilidad de la radioterapia es la paliativa en la enfermedad avanzada, como terapéutica anti-álgica, cuando existe atelectasia, en los casos de hemoptisis y en el síndrome de la vena cava superior<sup>3,15,18</sup>.

La radioterapia cerebral profiláctica reduce el riesgo de presentar metástasis cerebrales y se asocia a un aumento significativo de la supervivencia del 5% a tres años; parece que la mejor indicación consiste en dosis totales de 3000 cGy administradas en 10 fracciones luego de completada la quimioterapia y dentro de los 3 a 5 meses del diagnóstico<sup>3,18</sup>.

### Quimioterapia

Está indicada en los estadios IIIb y IV. La mayoría de las recaídas son por metástasis a distancia, constituyendo ésta una fuerte razón para el uso de quimioterapia pre o postoperatoria<sup>3</sup>. En teoría, la quimioterapia postoperatoria debería eliminar las micrometástasis ocultas y mejorar la supervivencia. Generalmente se usan regímenes basados en cisplatino, y de segunda línea se sugiere el uso de etopósido; Otros agentes activos serían: vincristina, paclitaxel, docetaxel, vinorelbina, gemcitabina, vindesina, ciclofosfamida, entre otros. Las combinaciones de dos o tres drogas activas producen 80-90% de respuesta con 10-50% de respuestas completas, dependiendo del estadio<sup>3,18</sup>.



## PERFIL MOLECULAR DEL CÁNCER BRONCOGÉNICO

El cáncer pulmonar, al igual que muchas otras neoplasias deriva de una acumulación gradual de anomalías genéticas que transforman el epitelio bronquial benigno en tejido neoplásico. Estas anomalías, se adquieren por la interacción sinérgica entre a) la exposición a agentes neumo-oncológicos y b) la susceptibilidad individual del huésped a estos agentes. Las mutaciones en los oncogenes o genes conductores, es relevante, debido a que las mutaciones derivadas de un oncogen "conductor" conducen a la activación constitutiva de proteínas de señalización mutantes que inducen y mantienen la tumorigénesis<sup>16</sup>.

Las mutaciones se pueden encontrar en todas las histologías del CB (incluyendo adenocarcinoma, carcinoma de células escamosas (SCC) y el carcinoma de células grandes) y en diferentes grupos poblacionales (ej. Fumadores, no fumadores). Sin embargo, se ha reportado que la prevalencia de cada una de estas mutaciones difiere entre poblaciones, en función de características demográficas, como relacionadas con exposición a diferentes agentes oncogénicos (ej. Tabaquismo, humo de leña) y del tipo histológico. En los pacientes fumadores, por ejemplo, la mutación del gen K-ras supone la alteración genética más frecuente encontrada en alrededor del 35% de los pacientes, seguida por la mutación en el EGFR (15%). En tanto, en población no fumadora, la mutación del EGFR se presenta en cerca del 50% de los pacientes caucásicos con CB<sup>16,17,19</sup>.

Lo anterior, además de sugerir la existencia de diferentes vías patogénicas en el desarrollo del CB, da pauta para el estudio de subconjuntos poblacionales en función del perfil de mutaciones del tejido tumoral. A continuación se describirán los oncogenes que se encuentran mutados con mayor frecuencia, así como su asociación con la respuesta a terapias dirigidas contra el factor de crecimiento epidérmico (EGFR).

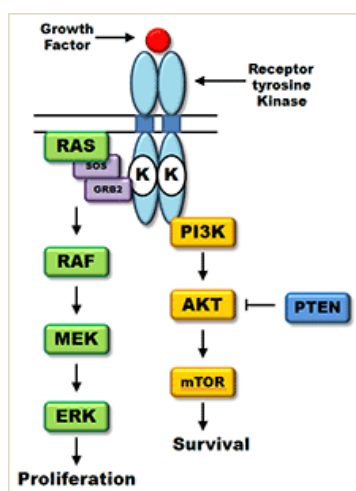
### EL ONCOGÉN DEL VIRUS DEL SARCOMA DE RATA KIRSTEN (KRAS)

El oncogen KRAS (homólogo al oncogén del virus del sarcoma de rata Kirsten), pertenece a las proteínas RAS, las cuales son pequeñas GTPasas que activan a la gnaosina de trifosfato al desplazar el fosfato del fosfo-inositol bifosfato. Las proteínas Ras son mediadores centrales de la señalización río abajo del receptor del factor de crecimiento y por lo tanto son críticos para la proliferación celular, la supervivencia y la diferenciación. El KRAS puede activar varios efectores corriente abajo, incluyendo la vía PI3K-AKT-mTOR, que está implicada en la supervivencia celular, y de la vía RAS-RAF-MEK-ERK, que está implicado en la proliferación celular (Figura 4)<sup>20</sup>.

El oncogen K-RAS ha sido implicado en la patogénesis de varios tipos de cáncer. La activación de mutaciones en el gen RAS resultado en la activación constitutiva de la RAS GTPasa, incluso en ausencia de señalización del factor de crecimiento. El resultado es una señal de proliferación sostenida dentro de la célula<sup>19</sup>.

Aproximadamente el 15-30% de los pacientes con adenocarcinoma de pulmón tiene tumores con mutaciones en el oncogeno KRAS. Las mutaciones en el oncogeno KRAS son comunes en el carcinoma de células escamosas<sup>19,20</sup>. En la mayoría de los casos, estas mutaciones son mutaciones de sentido erróneo que introducen una sustitución de aminoácido en la posición 12, 13, o 61. El resultado de estas mutaciones es la activación constitutiva de las vías de señalización KRAS.

**Figura 4.** Esquema de las vías de MAPK y PI3K . Factor de crecimiento de unión al receptor de los resultados de la tirosina quinasa en la activación de la vía de señalización MAPK ( RAS- RAF- MEK- ERK) y de la vía PI3K (PI3K - AKT - mTOR) . La letra " K " dentro del esquema denota el dominio tirosina quinasa.



En la gran mayoría de los casos, las mutaciones KRAS se encuentran en los tumores negativos para las mutaciones de EGFR o ALK; en otras palabras, las mutaciones de KRAS suelen ser mutuamente excluyentes tanto con las mutaciones en EGFR como los arreglos en ALK. Por lo tanto, la mutación KRAS define un subconjunto molecular distinto de la enfermedad. Las mutaciones KRAS se encuentran con mayor frecuencia en pacientes fumadores y con menor frecuencia en los no fumadores y son menos comunes en Asia del Este vs. pacientes de EE.UU. o Europa<sup>21-25</sup>.

El papel de KRAS, ya sea como un factor pronóstico o predictivo en el CB se desconoce en este momento. Muy pocos ensayos prospectivos aleatorizados han completado utilizando KRAS como un biomarcador para estratificar opciones terapéuticas en la enfermedad metastásica. Sin embargo, algunos estudios sugieren que las mutaciones en el oncogeno KRAS son predictores negativos de la respuesta a los inhibidores de tirosina quinasa<sup>32</sup>. Dichos estudios son resumidos en la tabla 4, en ella se observa que la tasa de respuesta a medicamentos como gefitinib o erlotinib en pacientes mutados va del 0 al 5% mientras que en pacientes no mutados esta va del 7 al 30%<sup>24</sup>.

**Tabla 4.** Resumen de los principales estudios evaluando el valor predictivo de la mutación en el oncogén K-ras con respecto a la quimioterapia basada en Gefitinib o Erlotinib

Autor	Medicamento	Prevalencia de pacientes con mutación en K-Ras	Tasa de respuesta en mutados	Tasa de respuesta en no mutados
Jackman <sup>26</sup>	Erlotinib	17% (6/35)	0%	14%
Zhu <sup>27</sup>	Erlotinib	17% (20/176)	5%	10%
Miller <sup>25</sup>	Elotinib	29% (18/62)	0%	30%
Massarelli <sup>28</sup>	Elotinib/Gefitinib	30% (16/54)	0%	7%
Hirsch <sup>29</sup>	Gefitinib	16% (36/102)	1%	7%
Hirsh <sup>30</sup>	Gefitinib	9% (12/140)	0%	8%
Han <sup>31</sup>	Gefitinib	15% (9/60)	0%	27%

#### Factor de crecimiento hepatocítico (HGF)

El factor de crecimiento de hepatocitos (HGF) es un factor de crecimiento que demuestra capacidad e importante habilidad para promover la reparación del tejido y la regeneración de varios órganos posterior al daño. El HGF ejerce sus efectos biológicos a través de su receptor transmembranal (c-Met) con actividad de cinasa de tirosina<sup>33</sup>.

El ligando c-MET, participa tanto en la resistencia intrínseca y adquirida a los inhibidores del EGFR<sup>33</sup>. Las células tumorales y mesenquimales son responsables del aumento de la producción de HGF, dando lugar a paracrina y / o la activación de c -MET autocrina. Este eje genera resistencia a la ITC reversibles al perpetuar la señalización a través de MAPK / ERK y PI3K vías / AKT. En tumores inicialmente con mutaciones en el EGFR mutado y sensibles, una amplificación focal del protooncogen c -MET sea asociado con resistencia terapéutica a los inhibidores de tirosincinasa reversibles<sup>33,16</sup>.

#### Quinasa de linfoma anaplásico (ALK)

La quinasa de linfoma anaplásico (ALK) es un receptor tirosina quinasa que es aberrante en una variedad de tumores, incluyendo el CB. Todas las fusiones de ALK involucran al dominio de la tirosina cinasa ALK<sup>34-37</sup>. La prevalencia de esta anomalía molecular es generalmente baja; estudios en diferentes países han mostrado un promedio de 3,8% con una amplia variación que van desde 0,4% a 13,4%. Hasta la fecha, la prevalencia global en grandes series no seleccionada llevado a cabo en las poblaciones de Asia (4,2%) y occidental (3,4%) parece similar<sup>38,39-40</sup>. Sin embargo, la prevalencia del reordenamiento de ALK puede ser tan alta como 13% -18% en pacientes seleccionados<sup>35,36</sup>. Así, dentro de las características clínico-patológicas asociadas con una mayor frecuencia de re-ordenamientos de ALK se encuentran aquellos pacientes jóvenes, no fumadores, o bien con un tabaquismo ligero (<20 cigarrillos/día), que presentan una histología de adenocarcinoma y en particular con un subtipo histológico sólido-, micro papilar-, papilar-o en anillo de

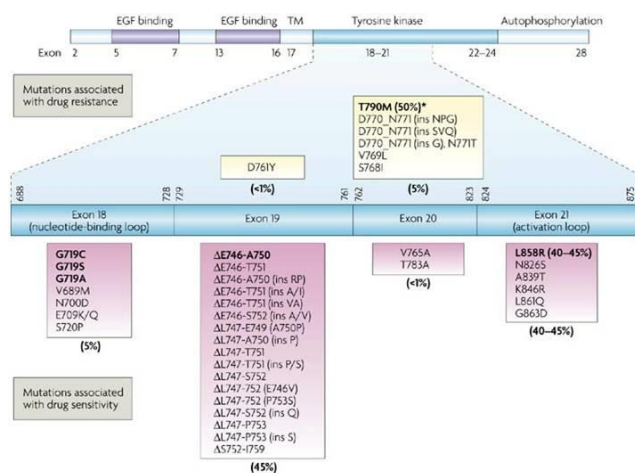
sello. La presencia de ALK se considera generalmente que ser mutuamente excluyentes para EGFR y KRAS mutaciones <sup>34-37,45-47</sup>; Sin embargo, las fusiones ALK pueden coexistir con otras mutaciones asociadas con el cáncer pulmonar, pero estos dobles-hits moleculares son raros <sup>37</sup>. Finalmente, los rearrreglos en ALK se han asociado con una mala respuesta a los ITC <sup>42-47</sup>.

### Receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR)

El receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR) es un miembro de la familia erbB de receptores transmembrana de tirosin-quinasa, dentro de los cuales se incluyen: erbB1 (HeR-1 o eGFR), erbB2 (o Her-2/neu), erbB3 (o HeR-3) y el erbB4 (o HeR-4). En el siguiente esquema se muestra al EGFR (Figura 5). El EGFR es una glicoproteína transmembrana de 170 Kd de peso molecular que posee un dominio extracelular, una porción transmembrana y un componente intracelular; este receptor se encuentra en la membrana celular como monómero inactivo y cuando se produce la unión del ligando con el componente extracelular se genera una dimerización con algún receptor homónimo (homodimerización), o bien una unión pareada con otro miembro de la superfamilia erbB, (heterodimerización). Algunos de los ligandos endógenos conocidos que pueden activar el eGFR son el tGF- $\alpha$  (*transforming growth factor alfa*), el HB-GF (*heparin-binding growth factor*), la betacelulina y la epirregulina <sup>10,16</sup>.

La dimerización del EGFR produce una fosforilación cruzada del carbonoterminal del residuo de la tirosina que se encuentra en el dominio intracelular. Esta fosforilación origina una cascada de señales de transducción intracelulares que incluyen las vías MAPK (*Ras/mitogen-activated protein kinase*) y Pi3-K/Akt (*phosphatidylinositol-3-kinase/Akt*), generando reacciones intracelulares en serie que se traducen en un incremento de la proliferación celular, en la movilidad, adhesión, invasión tisular, bloqueo de la apoptosis y resistencia a la quimioterapia. La expresión del EGFR es común en diversos tejidos epiteliales normales, no obstante, se encuentra elevada en numerosos tumores sólidos. Se ha estimado que del 15 al 80% de los CPCNP presentan sobreexpresión del EGFR, de estos 40% demuestran amplificación del gen, y entre el 15% y 30%, exhiben mutaciones en los exones 18 a 21 <sup>16</sup> (Figura 5).

**Figura 4b.** Esquema de la prevalencia y localización de las variantes de mutación en el receptor del factor de crecimiento epidermoide.



Fuente: Sharma et al., Nature Reviews Cancer 2007 <sup>17</sup>

## INHIBIDORES DE TIROSINA CINASA (ITC)

Durante la última década, se ha hecho evidente que los pacientes con CB pueden ser agrupados en subconjuntos más específicos en función del perfil de mutaciones del tumor a nivel molecular.

El EGFR juega un considerable papel en la carcinogénesis y su sobreexpresión ha sido relacionada con enfermedad avanzada y peor pronóstico. Las mutaciones que afectan al dominio tirosin-quinasa solo se han descrito en el CPCNP, y las más frecuentes se encuentran en el exón 19 y en el exón 21<sup>18</sup>. Estas mutaciones se determinan en tejido tumoral introducido en parafina y están especialmente asociadas con el subtipo adenocarcinoma, sobre todo los bronquioloalveolares, y con las mujeres de origen oriental y no fumadoras. Los pacientes con estas mutaciones tienen alta probabilidad de responder a las terapias anti-EGFR. Actualmente, los fármacos de este grupo con los que se tiene más experiencia son el Erlotinib y el Gefitinib; ambos inhiben de forma reversible la actividad catalítica del receptor, interrumpen la transducción de la señal de crecimiento y producen un efecto antitumoral. Son los que más estrechamente se han asociado con la respuesta parcial o mejoría clínica de los pacientes con mutaciones en el gen EGFR<sup>48-49</sup>.

En un ensayo clínico aleatorizado fase II se demostró que los pacientes tratados con Erlotinib se asociaron con una supervivencia libre de progresión mayor que aquellos tratados con quimioterapia (QT) en primera o segunda línea de tratamiento ( $p=0,001$ ). Del mismo modo la tasa de respuesta global con Erlotinib fue mayor en comparación con la tasa de respuesta global en los pacientes tratados con quimioterapia, sobre todo en los no fumadores. Este fue el primer estudio que confirmó que un anti-EGFR prolonga la supervivencia después de QT de primera o segunda línea, y su uso clínico fue aprobado en Estados Unidos en 2004<sup>49</sup>.

En nuestro medio, la mutación del gen del EGFR se observa en aproximadamente el 15% de los CPCNP. Alrededor del 75% de los casos con esta mutación responden al tratamiento con Erlotinib/Gefitinib, mientras que entre los no mutados solo responde el 10%. Sin embargo, casi todos los pacientes inicialmente respondedores acaban desarrollando progresión de la enfermedad<sup>48-49</sup>. Las causas de esta resistencia adquirida a los fármacos anti-EGFR no son del todo conocidas, pero parecen implicados diferentes mecanismos, como mutaciones secundarias del EGFR o amplificación del oncogén MET.

El Afatinib es un fármaco reciente, es un inhibidor irreversible de la familia de receptores ErbB y bloquea de forma irreversible el EGFR (ErbB1) y al resto de miembros relevantes de la familia de receptores ErbB, los cuales desempeñan un papel esencial en el crecimiento y la diseminación de los cánceres más agresivos y los asociados a una elevada mortalidad<sup>25</sup>. A diferencia de otros compuestos cuya acción es reversible, la unión covalente, y por tanto irreversible, de Afatinib proporciona un bloqueo duradero, selectivo y completo de la familia de receptores ErbB, por lo que puede dar lugar a un beneficio terapéutico distinto<sup>50-51</sup>.

En las tablas 5 y 6 se resumen los resultados de ocho ensayos aleatorios que comparan la el efecto de la quimioterapia contra agentes dirigidos EGFR (por ejemplo, gefitinib, erlotinib o afatinib) en la supervivencia libre de

progresión (Tabla 5) y en la supervivencia global (Tabla 6) en pacientes portadores de mutaciones del EGFR. En ellas, se observa que los ITC se asociaron con un beneficio mayor en la supervivencia libre de progresión (tabla 5) , sin modificar la supervivencia global (Tabla 6) en pacientes con mutación en EGFR<sup>52-59</sup>.

**Tabla 5.** Comparación en el tiempo de supervivencia libre de progresión (SLP) en pacientes con mutación en EGFR vs. Quimioterapia basada en platinos. (Revisión de 8 ensayos clínicos controlados).

Estudio(referencia)	Supervivencia libre de progresión (meses)			
	ITC EGFR TKI	Quimioterapia basada en Platinos	HR	Valor p
IPASS [62]	9.5	6.3	0.48	<0.001
NEJ002 [61]	10.8	5.4	0.30	<0.001
WTOG 3405 [53]	9.2	6.3	0.49	<0.001
OPTIMAL [56]	13.1	4.6	0.16	<0.001
EURTAC [57]	9.7	5.2	0.37	<0.001
LUX-Lung 3 [60]	11.1	6.9	0.58	<0.001
LUX-Lung 6 [59]	11.0	5.6	0.28	<0.001

**Tabla 6.** Comparación en el tiempo de supervivencia global (SG) en pacientes con mutación en EGFR vs. Quimioterapia basada en platinos. (Revisión de 8 ensayos clínicos controlados).

Estudio (referencia)	Supervivencia Global (meses)			
	EGFR TKI	Quimioterapia basada en platinos	HR	Valor p
IPASS [62]	21.6	21.9	1.00	0.99
NEJ002 [61]	30.5	23.6	NR	0.31
WTOG 3405 [53]	30.9	NR	1.64	0.21
OPTIMAL [56]	22.6	28.8	1.06	0.68
EURTAC [57]	19.3	19.5	1.04	0.87
LUX-Lung 3 [60]	NR	NR	1.12	0.60
LUX-Lung 6 [59]	22.1	22.2	0.95	0.76

## Justificación

El cáncer de pulmón de células no pequeñas (CPCNP), sigue teniendo un mal pronóstico. El impacto positivo de la quimioterapia se ve limitado por el desarrollo de resistencia intrínseca y adquirida, que se manifiesta clínicamente por progresión temprana y respuestas transitorias. Los regímenes actuales de quimioterapia tienen una eficacia limitada; con un modesto beneficio en términos de supervivencia y conllevan una toxicidad significativa que da lugar a que muchos pacientes no puedan recibir este tratamiento, incluso en el marco de terapia de primera línea. Por lo tanto, hay una gran necesidad de proporcionar a los pacientes agentes menos tóxicos, como las novedosas terapias dirigidas, con el potencial de mejorar la eficacia y mantener una buena calidad de vida con una baja toxicidad.

El Afatinib (BIBW 2992) es un inhibidor irreversible del Receptor del Factor de Crecimiento Epidérmico tipo I/II (EGFR/HER2) que ha mostrado beneficios como agente único en pacientes pre-tratados que han progresado a pesar de la quimioterapia basada en platino, con toxicidad mínima en comparación con la quimioterapia. Actualmente también está siendo evaluado como tratamiento de primera línea en CPCNP avanzado y mutaciones del receptor del factor de crecimiento Epidérmico (EGFR), con promisorios resultados preliminares de eficacia. En un estudio fase II de un brazo se usó BIBW 2992 en pacientes con adenocarcinoma pulmonar y con mutaciones del EGFR, se demostró el beneficio clínico definitivo brindado por el inhibidor del EGFR irreversible BIBW 2992 en pacientes con cáncer de pulmón.

En resumen, durante la última década, el pronóstico del CB ha mejorado gracias a la aparición de nuevos fármacos que han mejorado la supervivencia de la enfermedad avanzada. Sin embargo, es evidente la necesidad de mejorar la tanto la eficacia de estos tratamientos, como la definición de subgrupos pronósticos. Una alternativa promisoriosa para alcanzar dicho objetivo, es el desarrollo de factores pronósticos y predictivos incorporando marcadores biológicos. El objetivo de estos últimos, es ayudar a definir el pronóstico individual de grupos clínicos a fin de definir aquellos pacientes que pueden requerir otros tratamientos y asignar tratamientos más eficaces en función del perfil genético. El Afatinib (BIBW 2992) al ser una terapia novedosa y menos tóxica plantea un desafío con el fin de determinar de delimitar la subpoblación a beneficiar con esta nueva terapia y con ello optimizar los recursos destinados al paciente oncológico.

## Pregunta de Investigación

¿Qué relación existe entre la expresión del EGFR, HER2 (número de copias) y HGF con la tasa de respuesta en individuos con cáncer de células no pequeñas tratados con BIBW 2992?

## Objetivo General

Describir la relación entre los factores demográficos, clínicos y moleculares (la expresión del EGFR, HER2 y HGF) con la tasa de respuesta en individuos con cáncer de células no pequeñas tratados con un Afatinib (BIBW 2992), un inhibidor de tirosinasa irreversible dual.

## OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Describir población estudiada con base en factores demográficos, clínicos y de respuesta terapéutica con BIBW 2992
- Describir la población estudiada con base en la frecuencia y distribución de las mutaciones en EGFR, HER2 y HGF
- Analizar la relación entre factores demográficos y clínicos con la supervivencia libre de progresión en individuos con cáncer de células no pequeñas tratados con BIBW 2992.
- Analizar la relación entre la expresión del EGFR, HER2 (número de copias) y HGF con la supervivencia libre de progresión en individuos con cáncer de células no pequeñas tratados con BIBW 2992.



## Metodología

### DISEÑO

Ensayo clínico fase II, longitudinal, prospectivo.

### POBLACIÓN DE ESTUDIO

Se incluyeron 66 pacientes con CPCNP desde Enero 2012 a Junio 2014 provientes de la unidad de Oncología Torácica del Instituto nacional de Cancerología (INCan).

### CRITERIOS DE INCLUSIÓN

1. Diagnóstico de cáncer pulmonar de células no pequeñas (etapas IIIB o IV) no operable, localmente avanzado, recurrente o metastásico, histológica o citológicamente documentado.
2. Enfermedad medible
3. 18 años de edad o mayores.
4. Una evaluación con respecto a la clasificación del estado funcional (ECOG, por sus siglas en inglés) de 0-3
5. Expectativa de vida al menos de 12 semanas.
6. Pacientes con cáncer pulmonar de células no pequeñas avanzado, etapas IIIB/IV que hayan recibido, cuando menos, un ciclo de quimioterapia sistémica estándar basada en platinos de primera o segunda línea y se haya documentado falla a dicho tratamiento.
7. No son admisibles más de 2 regímenes previos de quimioterapia. Los pacientes deben haberse recuperado de cualquier efecto tóxico y deben haber transcurrido cuando menos de 2 semanas desde la última dosis antes de su registro (14 días para vinorelbine y otros alcaloides de la vinca o gemcitabina). Los pacientes que en opinión del investigador se encuentren plenamente recuperados de cirugía por 4 semanas como mínimo, también pueden ser considerados para el estudio. Los pacientes deben haberse recuperado de cualquier toxicidad grave (CTC  $\leq$  1) causada por cualquier terapia previa.
8. Recuento de granulocitos  $\geq 1.5 \times 10^9/L$  y recuento de plaquetas  $> 100 \times 10^9/L$ .
9. Bilirrubina sérica debe estar  $\leq 1.5$  del límite normal superior.
10. AST y/o ALT  $\leq 2$  ULN (ó  $\leq 5 \times$  ULN cuando sea claramente atribuible a la presencia de metástasis hepáticas).
11. Creatinina sérica  $\leq 1.5$  (ULN) o depuración de creatinina  $\geq 60$  ml/min.
12. Capacidad para cumplir con los procedimientos del estudio y del seguimiento.
13. Prueba de embarazo negativa dentro de las 72 horas previas al inicio de la terapia en todas las mujeres en edad reproductiva.

14. Empleo de al menos un método anticonceptivos eficaz en todos los pacientes con potencial reproductivo.
15. Consentimiento informado por escrito (firmado) de participación en el estudio.

#### CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

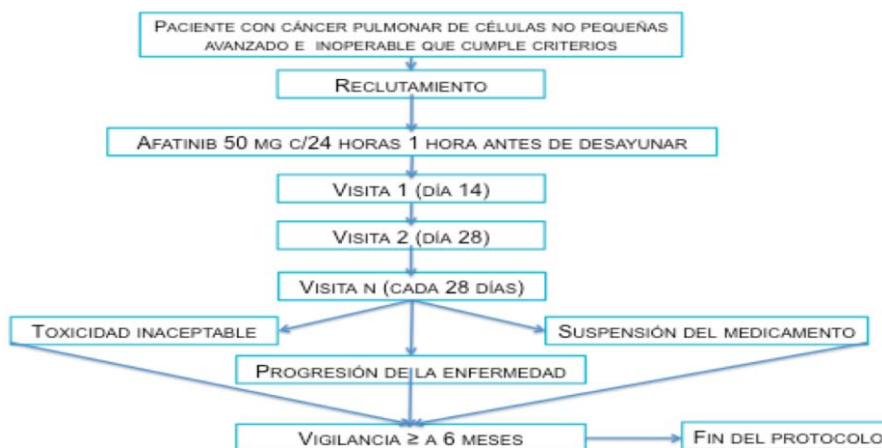
Los pacientes que cumplieron con cualquiera de estos criterios de exclusión no fueron incluidos.

1. Padecer cualquier enfermedad sistémica inestable (incluyendo infección activa, hipertensión grado 4, angina inestable, insuficiencia cardiaca congestiva, enfermedad hepática, renal o metabólica).
2. Tratamiento previo con terapia sistémica antitumoral con inhibidores de EGFR (Inhibidores de Tirosina-Cinasa).
3. Cualquier otra patología maligna dentro de los 5 años previos (excepto para carcinoma *in situ* del cuello uterino o cáncer de piel de tipo basocelular tratados adecuadamente).
4. Se excluyen a pacientes con metástasis cerebrales o compresión de la médula espinal de diagnóstico reciente y/o que no hayan sido tratados definitivamente con cirugía y/o radiación; se admiten aquellos pacientes con metástasis en SNC o compresión de médula espinal previamente diagnosticadas y tratadas, con evidencia de enfermedad estable (clínicamente estable en los estudios de imagen) por un mínimo de 2 meses.
5. Cualquier anomalía oftalmológica significativa, especialmente síndrome severo de sequedad de ojos, queratoconjuntivitis sicca, síndrome de Sjögren, queratitis severa por exposición y cualquier otro trastorno que pueda incrementar el riesgo de lesión epitelial de córnea. No se recomienda el uso de lentes de contacto durante el estudio. La decisión de continuar con el uso de lentes de contacto debe ser discutida con el oncólogo encargado del tratamiento del paciente y con el oftalmólogo.
6. Pacientes que no puedan tomar medicación oral, que requieran nutrición intravenosa, que hayan sido sometidos a procedimientos quirúrgicos previos que afecten la absorción, o que presenten úlcera péptica activa.
7. Mujeres en período de lactancia.
8. Falla al seguimiento de las normas del protocolo.
9. Pérdida del seguimiento del paciente.
10. Toxicidad inaceptable ( $\geq$ Grado 3 en al menos 2 ocasiones).
11. Progresión de la enfermedad documentada.

## PROCEDIMIENTOS

Los procedimientos del estudio están esquematizados en la Figura 3 y son descritos a continuación.

**Figura 5.** Diagrama de flujo de la selección, reclutamiento y seguimiento de los pacientes



## TERAPIA CON AFATINIB

### Asignación a grupos de tratamiento

Todos los pacientes recibieron Afatinib (BIBW 2992) en dosis de 50mg por día en ciclos de 28 días hasta la progresión de la enfermedad, toxicidad irreversible o muerte.

### Rescates y procedimientos terapéuticos adicionales

A continuación se describen los procedimientos llevados a cabo para el control de los efectos adversos del Afatinib (Tabla 7). Cabe señalar, que dado el contexto clínico (terapia de reciente aparición) no existen procedimientos estandarizados, por lo que la atención consistió en la atención sintomática de los mismos.

**Tabla 7.** Procedimientos de rescate ante algún evento adverso derivado de la terapia con Afatinib

Grado y Tipo de Efecto Adverso	1ra Ocasión	2da Ocasión	3ra Ocasión
Cualquier efecto adverso CTCAE $\geq 3$	40mg	30mg	Exclusión
Deterioro de función renal CTCAE $> 2$ (Elevación de creatinina, proteinuria, disminución de la filtración glomerular más del 50% del basal).	40mg	30mg	Exclusión
Diarrea CTCAE $\geq 3$ , a pesar de medicamentos antidiarréicos e hidratación	40mg	30mg	Exclusión
Diarrea CTCAE $\geq 2$ por 48 horas o más horas consecutivas, a pesar del tratamiento antidiarréico e hidratación.	40mg	30mg	Exclusión
Náusea/Vómitos CTCAE $\geq 3$ a pesar de tratamiento antiemético e hidratación.	40mg	30mg	Exclusión
Náusea/Vómitos CTCAE $\geq 2$ por 7 o más días consecutivos, a pesar de tratamiento antiemético e hidratación.	40mg	30mg	Exclusión
Exantema o Acné CTCAE $\geq 3$ a pesar de cuidados óptimos de soporte (hasta antibióticos sistémicos)	40mg	30mg	Exclusión

Las pacientes en edad reproductiva emplearon anticonceptivos durante el estudio (Anticonceptivos hormonales y métodos de barrera doble). En hombres se recomendó el uso de geles espermicidas y preservativos. Las pacientes al entrar al estudio, requieren una prueba de embarazo negativa, antes de iniciar el tratamiento. En la tabla 7, se resumen las recomendaciones a seguir en caso de confirmar un embarazo.

**Tabla 8.** Recomendaciones en caso de que la participante se encuentre embarazada.

Tiempo de Embarazo	Acción o Plan
Antes del inicio del estudio	Eliminación inmediata del estudio.
Durante el tratamiento (estudio)	Suspender tratamiento y continuar el embarazo hasta su término y reportar complicaciones del parto. Cualquier situación que ocasione interrupción del embarazo debe ser reportada.
Durante el seguimiento (ya recibió el tratamiento)	Continuar embarazo hasta su término y reportar complicaciones.
A los 28 días de haber concluido el tratamiento	Continuar embarazo hasta su término y reportar complicaciones.

### Seguimiento y recolección de datos clínicos

- 1) Escrutinio/Inclusión: Es un proceso sencillo y rápido, la información necesaria para decidir si ingresa o no el paciente al programa está disponible para el clínico el día que decida ingresarlo al protocolo. Se requiere EKG 12 derivaciones, evaluación de FEVI (GGO o ECOTT), laboratorios (BH, QS, PFH y EGO), debe demostrarse el no uso reciente de medicamentos posiblemente tóxicos. Debe firmarse el consentimiento informado y llenar la base de datos de cada paciente y que incluya:
- 2) Datos demográficos (Sexo, F. nacimiento y raza), historia de toxicomanías y del CPCNP (fecha Dx histológico), sitio de tumor primario, número y localización de metástasis, TNM, cirugías previas por su problema pulmonar, aplicación previa de quimioterapia o inhibidores de tirosina-cinasa (EGFR), Historia clínica general, estado funcional actual, exploración física breve, prueba de embarazo en orina.
- 3) Visitas de Evaluación de seguridad: El día del reclutamiento, el día 14 (2 semanas), el día 28 y en adelante cada 28 días. Abierto a más visitas si es necesario en cada caso particular. En estas visitas se debe realizar una breve Exploración física con las constantes vitales, un EKG de 12 derivaciones (cada 12 semanas), así como

medición de FEVI (MUGA o ECOTT), también cada 12 semanas. Monitorización de efectos adversos medidos por CTCAE (reportes de efectos, hospitalizaciones, tratamientos de emergencia, medicamentos nuevos, estado general), Obtener el apego a los regímenes terapéuticos, recolectar los frascos de medicamento vacíos. Y finalmente estudios de laboratorio.

- 4) Terminación del ensayo y Seguimiento: En el momento que el paciente deja de tomar dicho medicamento, se da por terminado su reclutamiento. Debe asegurarse que se tenga su estado funcional, una exploración física breve, constantes vitales, EKG 12 derivaciones final, estudiar un ECOTT o Gamagrama cardiaco, recolectar los datos de toxicidad y terminar de recolectar los frascos de medicamentos vacíos.

## DETERMINACIÓN DE PRUEBAS MOLECULARES

### Evaluación del número de copias del gen de HER-2 por FISH

La sonda de DNA específica para el locus del gen HER-2 en el cromosoma 17q11.2 se marcó directamente con el fluoróforo Q12, mientras que la sonda que va dirigida contra la secuencia de DNA presente en la región satélite localizada en el centrómero del cromosoma 17 (CEP17; 17p11.1) se marcó con el fluoróforo "Spectrum Green".

Se obtuvieron cortes histológicos de 10  $\mu$ M, los cuales se hibridaron con una alícuota (5 $\mu$ L) de cada una de las sondas marcadas. Se colocó un cubreobjetos sobre las laminillas y se selló en los bordes. Las preparaciones fueron colocadas en una cámara de hibridación para desnaturalizar el DNA a 73°C durante 5 minutos y posteriormente hibridarlo con las sondas a 37°C durante 16 horas. Después de la hibridación, se eliminó el cubreobjetos por flotación por inmersión. Las laminillas se incubaron en amortiguador de citrato salino estándar (CSE) con 0,3% de Nonidet P-40 a temperatura ambiente y posteriormente fueron incubadas en buffer SSC con 0,3% NP-40 a 73°C durante 2 minutos. Las laminillas se secaron al aire en una cámara oscura. Los núcleos fueron teñidos con DAPI y las muestras fueron analizadas por microscopia de fluorescencia.

### Determinación de mutaciones en los genes de EGFR

Para este estudio se evaluó la presencia de mutaciones en EGFR pacientes con CPCNP. Las muestras tumorales, fijadas en formalina y embebidas en parafina, que se utilizan para el diagnóstico histológico de los pacientes, se obtuvieron del servicio de Patología.

### Extracción de ADN

El ADN se obtuvo a partir de dos cortes de 10  $\mu$ m de la muestra tumoral embebida en parafina, los cuales fueron colocados en un tubo Eppendorf de 1.5 ml y que se incubaron con 500  $\mu$ l de n-Octano (SIGMA) a 50°C por 30 min y posteriormente se centrifugaron a 12,000 RPM por 3 min, repitiendo este paso hasta eliminar completamente la parafina. El botón del tejido se lavó dos veces con 500  $\mu$ l de etanol absoluto y dos veces más con etanol al 70%,

centrifugando en cada lavado a 12,000 rpm por 3 min, después del último lavado, se dejó secar el botón a 50°C y se adicionó entre 100-200 µl de buffer de lisis (tris-HCl 50mmol/L, EDTA 1mmol/L y tween-20 al 0.5%) y 40 µg de proteinasa K. Las muestras se incubaban toda la noche a 37°C, finalmente se inactivó la proteinasa K a 90°C por 10 min y se centrifugó a 12,000 RPM por 10 min recuperando el sobrenadante en un tubo limpio. El ADN se cuantificó por espectrofotometría y fue almacenado a -20°C.

#### Amplificación de EGFR y K-RAS por PCR (Reacción en Cadena de la Polimerasa) y Secuenciación

Se hizo la amplificación por PCR de los exones 19, 20 y 21 del EGFR con el fin de detectar mutaciones. Para los ensayos de PCR se utilizarán oligos específicos para los exones 19, 20 y 21 de EGFR y para la región 5' de KRAS. La reacción de PCR se hizo en un volumen total de 20 µl que contienen 100 ng de ADN, 1 µmol/L de cada oligonucleotido, 2 µl de buffer de PCR 10X (10 mmol/L de tris-HCl (pH 8.3), 40 mmol/L KCl, 2 mmol/L MgCl<sub>2</sub>), 200 µmol/L de cada desoxinucleótido (dNTPs) y 0.5 µl de Taq Polimerasa (Applied Biosystems). La reacción se llevó a cabo en un termociclador 2400 (Applied Biosystems) con las siguientes condiciones de temperaturas/tiempos: Desnaturalización inicial a 94°C por 5 min seguida de 40 ciclos de amplificación con desnaturalización a 94°C por 30 s, alineamiento a 58°C por 30 s y extensión a 72°C por 30 s y finalmente una extensión de 5 min a 72°C. La amplificación se verificará por electroforesis en geles de agarosa al 2%.

Los productos de amplificación obtenidos por PCR fueron purificados mediante el uso de columnas de purificación para productos de PCR (QIAGEN). Al menos 3 amplificaciones independientes de K-RAS por cada muestra de tejido fueron analizados por secuenciación directa por ambos lados (sentido y antisentido). Los productos de PCR para la secuenciación debían tener las siguientes condiciones de concentración y pureza:

1. Cantidad de ADN. La cantidad de ADN que se requería para preparar una reacción de secuencia era fundamental, por ello fue importante cumplir con las siguientes concentraciones de acuerdo con el tipo de
2. Templado de ADN que se deseaba secuenciar:

Templado de ADN a secuenciar	Cantidad por micro-litro
Producto de PCR	
100-500 pb	30-50mg
500-1000 pb	50-80 mg
1000-2000 pb	80-150 mg
>2000 pb	150-200 mg
ADN de cadena simple (ssDNA)	50-100 mg

3. Pureza del ADN. La pureza del ADN a partir del cual se preparará la reacción de secuenciación debía cumplir con un cociente de absorbancia de A 260/280 entre 1.7 a 1.9. Por lo que se verificó la calidad y cantidad del producto de PCR por electroforesis en un gel de agarosa con después de la purificación antes de la secuenciación.
4. Oligos para la secuenciación. Se usó un volumen de 5 µl de cada oligo a una concentración de 5 pmol/µl por cada muestra para secuenciar.

Los electroferogramas que se obtuvieron de la secuenciación fueron analizados para la detección de mutaciones en el programa DNAsis, comparando con la secuencia de EGFR y K-RAS con base en el Genbank.

## PLAN DE ANÁLISIS

### Desenlaces clínicos

Los principales desenlaces clínicos a evaluar fueron la tasa de respuesta, la tasa de control de la enfermedad global, la sobrevida libre de progresión y la sobrevida global. En la tabla 9 se resume la definición operativa utilizada para evaluar estos desenlaces.

**Tabla 9.** Principales desenlaces clínicos a evaluar

Variable	Definición	Clasificación	Unidad de medida
Tasa de Respuesta o respuesta objetiva	La mejor respuesta registrada desde el comienzo del tratamiento hasta la progresión/recurrencia de la enfermedad. Para pacientes con status de respuesta parcial (RP) o respuesta completa (RC), los cambios en las medidas tumorales deberán ser confirmados mediante evaluaciones repetidas que deben realizarse no menos de 4 semanas después que se alcanzaron por primera vez los criterios de respuesta.	Razón	%
Control global u objetivo	Se define con la suma de Respuestas parciales, Respuestas completas y Enfermedad Estable, solo excluyendo la tasa de progresión. Todos estos se miden con los criterios RECIST 1.1	Razón	%
Supervivencia Libre de Progresión	Se define como el tiempo desde el comienzo del tratamiento hasta la fecha de la primera evidencia documentada de progresión (según los criterios RECIST) o la fecha de muerte por cualquier razón en ausencia de progresión de la enfermedad (PE). Para los pacientes que no hayan muerto o progresado al momento del análisis final, se utilizará la fecha del último contacto.	Razón	Meses
Supervivencia Global	La supervivencia global será determinada desde la fecha de inicio del tratamiento hasta la fecha de muerte, independientemente de la causa de la muerte. En los pacientes que no hayan muerto al momento del análisis final se utilizará la fecha del último contacto. Para graficar el tiempo para progresión y la supervivencia se utilizará la metodología de Kaplan-Meier.	Razón	Meses

## Análisis estadístico

Para fines descriptivos, los datos continuos se resumieron como medias aritméticas y las medianas con desviación estándar (SD) o rango. Las concentraciones séricas de HGF antes y después del tratamiento se compararon mediante la prueba de Wilcoxon-rank. La respuesta se evaluó por un radiólogo cegado al estudio utilizando criterios RECIST v1.1. Las tasas de respuesta fueron comparadas utilizando la prueba t de Student o U de Mann-Whitney (con base en la distribución normal o no de los datos determinada mediante la prueba de Kolmogorov-Smirnov). Los datos de las tablas de contingencia se analizaron mediante la prueba exacta de Fisher y la prueba de Chi-cuadrado.

La supervivencia global (SG) y la supervivencia libre de progresión (SLP) se evaluaron utilizando el método de Kaplan-Meier, mientras que las comparaciones entre los subgrupos se analizaron con rango logarítmico o la prueba de Breslow. Para el análisis de la supervivencia de la curva, se dicotomizaron todas las variables (por edad, se utilizó la mediana).

Para describir los factores asociados indirectamente con la respuesta terapéutica favorable a Afatinib se estimaron el riesgo y los intervalos de confianza al 95% mediante un modelo de riesgos proporcionales de Cox. El modelo fue ajustado por género y exposición a humo de leña y tabaquismo. Un valor de  $p < 0,05$  fue considerado estadísticamente significativo. Los datos se analizaron con el paquete estadístico SPSS.

## Resultados

### **CARACTERÍSTICAS GENERALES**

De enero 2012 a junio 2014, un total de sesenta y seis pacientes con adenocarcinoma de pulmón se reunió los criterios de inclusión y fueron incluidos en el estudio. Las características clínicas al momento del diagnóstico se muestran en la Tabla 10. La mayoría de los pacientes eran mujeres (66,7 %,  $n = 44$ ) y la edad media fue de 60,1 años ( $\pm 14,9$ ).



**Tabla 10.** Características clínicas basales (N=66)

<b>Variable</b>	<b>% (N)</b>
<b>Género</b>	
Femenino	66.7 (44/66)
Masculino	33.3 (22/66)
<b>Edad</b>	
Media ( $\pm$ DE)	60.1 (14.9) <sup>†</sup>
<b>Fumador</b>	
Si	60.6 (40/66)
No	39.4 (26/66)
<b>Índice Tabáquico</b>	
Mediana (RIC)	5.0 (1.1- 8.3)
<b>Exposición a humo de leña</b>	
Si	48.5 (32/66)
No	51.5 (34/66)
<b>Índice de Exposición a humo de leña</b>	
Mediana (RIC)	50.0 (22.0 – 105.0)
<b>Estadio clínico de la enfermedad al diagnóstico</b>	
IIIB	7.5 (5/66)
IV	92.5 (61/66)
<b>Desempeño funcional (ECOG)</b>	
0-1	92.4 (61/66)
2	7.6 (5/66)
<b>Esquema de quimioterapia previo</b>	
Cisplatino/Pemetrexed	9.1 (6/66)
Carboplatino/Paclitaxel	69.7 (46/66)
Carboplatino/Gemcitabina	7.6 (5/66)
Otro	13.6 (9/66)
<b>No. de Metástasis al diagnóstico</b>	
0-1	63.6 (42/66)
$\geq 3$	36.4 (24/66)

**Abreviaciones:** DE: Desviación estándar, ECOG :Clasificación de desempeño funcional con base en el "Eastern Cooperative Oncology Group";<sup>†</sup>Kolmogorov-Smirnov test p value.

## PERFIL MOLECULAR

La determinación del estado mutacional del EGFR no era obligatoria en el momento de la detección. Cincuenta pacientes (75,8 %) fueron positivos para mutaciones de EGFR. El 46% La delección en el Exon 19 (46%, n=23) y la inserción L858R del exón 21 ( 42 %, n = 21 ) fueron los tipos más comunes de las mutaciones de EGFR . La mutación de-novo T790M se detectó en 4 pacientes (8 %). Se identificaron 2 pacientes que llevan una inserción HER2 en marco en el exón 20. No se identificaron casos con aumento del número de copias del gen HER2 por FISH (Tabla 11).

**Tabla 11.** Características patológicas y moleculares (N=66)

<b>Histología</b>	
Adenocarcinoma	100 (66/66)
<b>Subtipo histológico</b>	
Sólido	9.1 (6/66)
Acinar	15.2 (10/66)
Micropapilar	7.6 (3/66)
Papilar	15.2 (10/66)
Lepídico	4.5 (3/66)
Adenoescamoso	3.0 (2/66)
<b>Mutación EGFR</b>	
<b>Positiva</b>	<b>(50/66)</b>
Exon 19 (Delección)	46.0 (23/50)
Exon 21 (L8585R)	42.0 (21/50)
Exon 21 (L861Q)	4.0 (2/50)
Exon 18 (Inserción)	8.0 (4/50)
Exon 20 (T790M)	8.0 (4/50)
Exon 20 (S768I)	2.0 (1/50)
<b>Mutación HER2</b>	
Positiva	1.5 (1/66)
Negativa	98.5 (65/66)
<b>Rearreglo ALK</b>	
<b>No. de pacientes evaluados</b>	15.5 (10/66)
Positiva	3.0 (2/66)
Negativa	12.1 (8/66)
<b>ACE</b>	
Mediana (RIC)	14.9 (3.9-154.5)
<b>HGF sérico pre-tratamiento</b>	
Mediana (RIC)	2511.8(2135.8)
<b>HGF sérico post-tratamiento</b>	
Mediana (RIC)	1738.0 (668.0-3334.0)

**Abreviaciones:** RIC:Rango inter-cuartílico EGFR: Receptor del factor de crecimiento epidérmico (Epidermal Growth Factor Receptor); ALK: Kinasa del linfoma anaplásico (Anaplastic Lymphoma Kinase); ACE: Antígeno caecinomembrionario (Carcinoembryonic antigen); HGF: Factor de crecimiento hepatocítico (Hepatocyte Growth Factor).

La mediana de la concentración sérica de HGF antes del tratamiento con afatinib fue 1678 pg / ml (Rango inter-cuartílico (RIC) 908,0-3.334,0) y de 1738.0 pg / ml (RIC 668,0-3.334,0), posterior al tratamiento. Se utilizó el valor de la mediana post- tratamiento (1738 pg / ml) como un punto de corte para la presencia de una reducción en el nivel de HGF en suero (Tabla 11).

## RESPUESTA TERAPÉUTICA CON AFATINIB

La respuesta global se logró en 39 pacientes (59,1 %). Las respuestas terapéuticas observadas fueron progresión de la enfermedad, enfermedad estable, respuesta parcial y respuesta completa en el 24,2 %, 27,3 % , 57,6 % y 1,5 %. Sólo un paciente presentó una respuesta completa. Entre los pacientes con mutación en el EGFR 48 (96,0 %) alcanzaron

una respuesta global. El porcentaje de pacientes con EGFR mutado que presentó progresión de la enfermedad, enfermedad estable, respuesta parcial y respuesta completa fue del 4%, 18%, 72% y 2%, respectivamente. El tratamiento con afatinib dio lugar a la enfermedad estable en los dos pacientes con HER2 exón 2.(Tabla 12).

**Tabla 12.** Respuesta terapéutica con Afatinib (N=66)

	Todos los pacientes	Pacientes con mutación
	% (N)	EGFR % (N)
Progresión de la enfermedad	24.2 (6/66)	4.0 (2/50)
Enfermedad estable	27.3 (18/66)	18.0 (9/50)
Respuesta parcial	57.6(38/66)	76.0 (38/50)
Respuesta completa	1.5 (1/66)	2.0 (1/50)
<b>Respuesta global</b>	<b>59.1 (39/66)</b>	<b>78.0 (39/50)</b>

Abreviaciones: EGFR,Receptor del factor de crecimiento epidérmico (Epidermal growth factor receptor)

## FACTORES ASOCIADOS CON LA RESPUESTA TERAPÉUTICA A AFATINIB

Los factores asociados con una respuesta terapéutica se muestran en la Tabla 13. Los pacientes no fumadores, con mutación en EGFR y con reducción en HGF tuvieron una probabilidad mayorde respuesta con afatinib.

## PERFIL TOXICOLÓGICO

El tratamiento con Afatinib tuvo un perfil de seguridad manejable, lo que es consistente con la experiencia de los ensayos anteriores. Los efectos adversos relacionados con el fármaco más frecuentes fueron diarrea ( 90,9 % ), seguida por la erupción acneiforme ( 66,7 % ) , mucositis ( 59.1 % ) , paroniquia ( 34,8 % ) y náuseas ( 22,7 % ) . La toxicidad gastrointestinal fue el efecto adverso severo (G3-4) más frecuente , con 33,3 % ( n = 22) de los pacientes que presentaron diarrea y 9,1 % ( n = 6) mucositis. El tercer efecto adverso G3-4 más frecuente fue la erupción cutánea (rash acneiforme) (7.6%).(Tabla 14).

**Tabla 13.** Características clínicas de los pacientes con base en la respuesta terapéutica con Afatinib

	Respuesta Terapéutica Global al Tratamiento con Afatinib		P
	Si N= 39 % (N)	No N=27 % (N)	
<b>Género</b>			
Femenino	61.4 (27/44)	38.6 (17/44)	0.595
Masculino	54.5 (12/22)	45.5 (10/22)	
<b>Edad (años), Mediana</b>			
< 60	62.1 (18/29)	37.9 (11/29)	0.663
≥60	56.8 (21/37)	43.2 (16/37)	
<b>Fumador</b>			
No	77.5 (31/40)	22.5 (9/40)	< 0.001
Si	30.8 (8/26)	69.2 (18/26)	
<b>Mutación en EGFR</b>			
No	0.0 (0/16)	100.0 (16/16)	< 0.001
Si	78.0 (39/50)	22.0 (11/50)	
<b>Desempeño funcional (ECOG)</b>			
0-1	59.0 (36/61)	41.0 (25/61)	0.966 <sup>†</sup>
2	60.0 (3/5)	40.0 (2/5)	
<b>ACE sérico al diagnóstico</b>			
Mediana (Rango)	5.01 (0.60-2160)	16.45 (1.41-1384)	0.398 <sup>§</sup>
<b>Nivel sérico de HGF antes del tratamiento</b>			
Mediana (Rango)	2863 (878-7703)	1550 (408-7793)	0.648 <sup>§</sup>
<b>Nivel sérico de HGF despues del tratamiento</b>			
Mediana (Rango)	1958 (498-5756)	1653 (208-4917)	0.648 <sup>§</sup>
<b>Disminución en el nivel sérico de HGF</b>			
Si	75.0 (24/32)	25.0 (8/32)	0.011
No	44.1 (15/34)	55.9 (19/34)	

Abreviations: S.D.: standard deviation, EGFR: Epidermal Growth Factor Receptor; ECOG: European Clinical Oncological Group; PS:Performance Status; CEA: Carcinoembryonic antigen; HGF: Hepatocyte Growth Factor; <sup>§</sup>Mann-Whitney U test p-Value, <sup>†</sup>:Fisher-exact test .

**Tabla 14.** Perfil de toxicidad clínica al tratamiento con Afatinib

	<b>Cualquier grado</b>	<b>Grado 3-4</b>
	<b>% (n/N)</b>	<b>% (n/N)</b>
<b>Rash acneiforme</b>	66.7 (44/66)	7.6 (5/66)
<b>Diarrea</b>	90.9 (60/66)	33.3. (22/66)
<b>Paroniquia</b>	34.8 (23/66)	1.5 (1/66)
<b>Mucositis</b>	59.1 (39/66)	9.1 (6/66)
<b>Xeroftalmia</b>	9.1 (6/66)	0.0 (0/66)
<b>Prurito</b>	7.6 (5/66)	0.0 (0/66)
<b>Náusea</b>	22.7 (15/66)	0.0 (0/66)
<b>Vómito</b>	24.2 (16/66)	0.0 (0/66)
<b>Astenia</b>	27.3 (18/66)	4.5 (3/66)
<b>Neutropenia</b>	3.0 (2/66)	0.0 (0/66)
<b>Anemia</b>	9.1 (6/66)	0.0 (0/66)
<b>Trombocitopenia</b>	0.0 (0/66)	0.0 (0/66)
<b>Neuropatía</b>	4.5 (3/66)	0.0 (0/66)

## **SOBREVIDA LIBRE DE PROGRESIÓN**

La mediana de la SLP fue 9,98 meses (IC 95 % 6,83-13,14 ) en todos los pacientes (Figura 6). Los pacientes no fumadores (15.11 [ 9,97-20,24 ] vs 5,48 meses [ 0,12-10,85 ] ;  $p = 0,002$  ) , expuestos al humo de leña (15.11 meses [ 7,15-23,07 ] vs. 8,90 [ 4,36-13,43 ]  $p = 0,019$  ) , con mutación en el EGFR ( 14.52 [ 10,87-18,87 ] frente a 1,84 meses [ 1,53-2,14 ] ;  $p < 0,001$  ) y aquellos con una reducción en el nivel de HGF ( 15.11 [ 2,94-27,30 ] frente a 6,50 meses [ 3,90 - 9,10 ] ;  $p = 0.005$  ) se asociaron significativamente con la mejora de la SLP (Tabla 15).

**Table 15.** Análisis univariado y multivariado de los factores asociados con la sobrevida libre de progresión en todos los pacientes

	Sobrevida libre de Progresión			
	Análisis Univariado		Análisis Multivariado	
	Mediana [IC al 95% ]	P	HR [95% CI]	P
	9.98 [6.83 – 13.14]			
<b>Género</b>				
Femenino	12.09 [7.04 – 17.14]			
Masculino	8.93 [3.61 – 14.26]	<b>0.176*</b>	2.35 [1.11 - 4.95]	<b>0.024</b>
<b>Edad(años), Mediana</b>				
< 60	11.86 [7.83 – 15.88]			
≥60	9.00 [4.58 – 13.41]	0.556		
<b>Fumador</b>				
No	15.11 [9.97 – 20.24]			
Si	5.48 [0.12 – 10.85]	<b>0.002*</b>	1.48 [0.70 – 3.16]	0.301
<b>Exposición a humo de leña</b>				
No	8.90 [4.36 – 13.43]			
Si	15.11 [7.15 - 23.07]	<b>0.019</b>		
<b>Mutación en EGFR</b>				
Si	14.52 [10.87 – 18.87]			
No	1.84 [1.53 – 2.14]	<b>&lt;0.001</b>	0.004 [0.00 – 0.033]	<b>&lt;0.001</b>
<b>Reducción en HGF</b>				
Si	15.11 [2.94 – 27.30]			
No	6.50 [3.90 – 9.10]	<b>0.005</b>	0.40 [0.18 – 0.87]	<b>0.021</b>
<b>Rash</b>				
Si	10.28 [6.44 – 14.12]			
No	9.00 [4.07 – 13.92]	0.745*		

Abreviaciones: EGFR: Receptor del factor de crecimiento epidérmico( Epidermal Growth Factor Receptor); HGF: Factor de crecimiento hepatocítico (Hepatocyte Growth Factor). \*: Prueba de Breslow .

Tras el análisis multivariante, sólo el género femenino, el estado positivo de mutación EGFR y la reducción en el nivel de HGF en suero (HR 0,40 [ 0,18 a 0,87 ] ; p = 0,021 ) se asociaron de manera estadísticamente significativa con la SLP (Tabla 14) . Entanto, en el analisis del subgrupo de pacientes con mutación en el EGFR, sólo la reducción sérica en el HGF se relacionó con una mejor SLP tanto en el analisis univariado, como en el multivariado (Tabla 16).

**Table 16.** Análisis univariado y multivariado de los factores asociados con la sobrevida libre de progresión en los pacientes con mutación en el receptor del factor del crecimiento epidérmico (EGFR).

	Sobrevida libre de progresión			
	Análisis univariado		Análisis multivariado	
	Mediana [IC al 95% ]	<i>P</i>	HR [95% CI]	<i>P</i>
<b>Género</b>				
Femenino	12.09 [7.04 – 17.14]			
Masculino	8.93 [3.61 – 14.26]	0.176*		
<b>Edad(años) ; Mediana</b>				
< 60	11.80 [8.33 – 15.38]			
≥60	15.11 [4.16 – 23.27]	0.908*		
<b>Fumador</b>				
No	15.11 [7.25 – 22.96]			
Si	9.00 [6.93 – 11.06]	0.104	1.97 [0.76 - 5.10]	0.158
<b>Expuesto a humo de leña</b>				
No	10.28 [7.25 – 13.31]			
Si	20.27 [10.80 - 29.73]	0.253*		
<b>Reducción sérica en HGF</b>				
Si	NR [NR]			
No	11.86 [8.26 – 15.45]	<b>0.042*</b>	0.36 [0.13 – 0.95]	<b>0.04</b>
<b>Rash</b>				
Si	15.11 [7.51 – 22.70]			
No	14.52 [8.59 – 20.44]	0.587*		

Abreviaciones: EGFR: Receptor del factor de crecimiento epidérmico (Epidermal Growth Factor Receptor); HGF: Factor de crecimiento hepatocítico (Hepatocyte Growth Factor). \*: Prueba de Breslow .

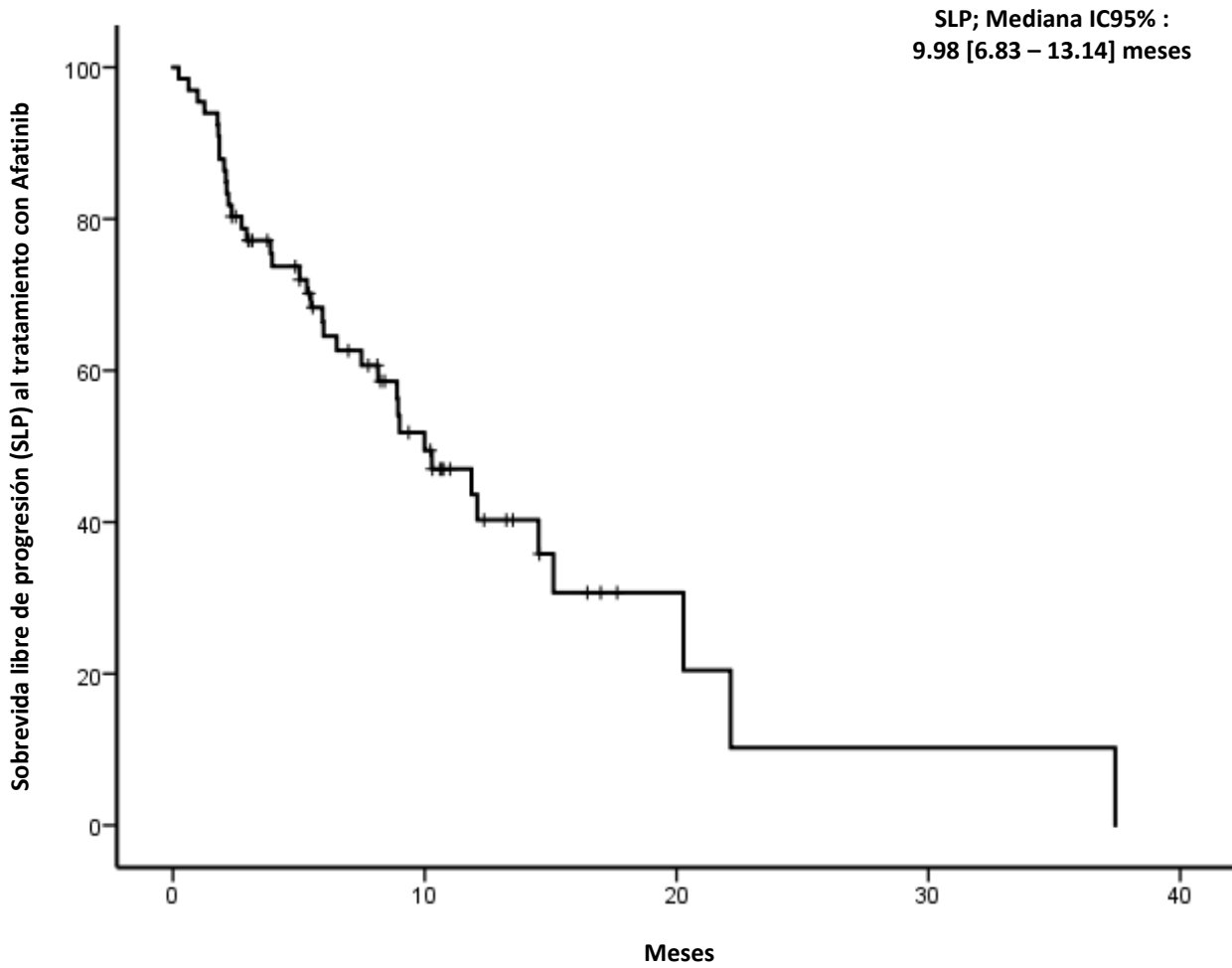
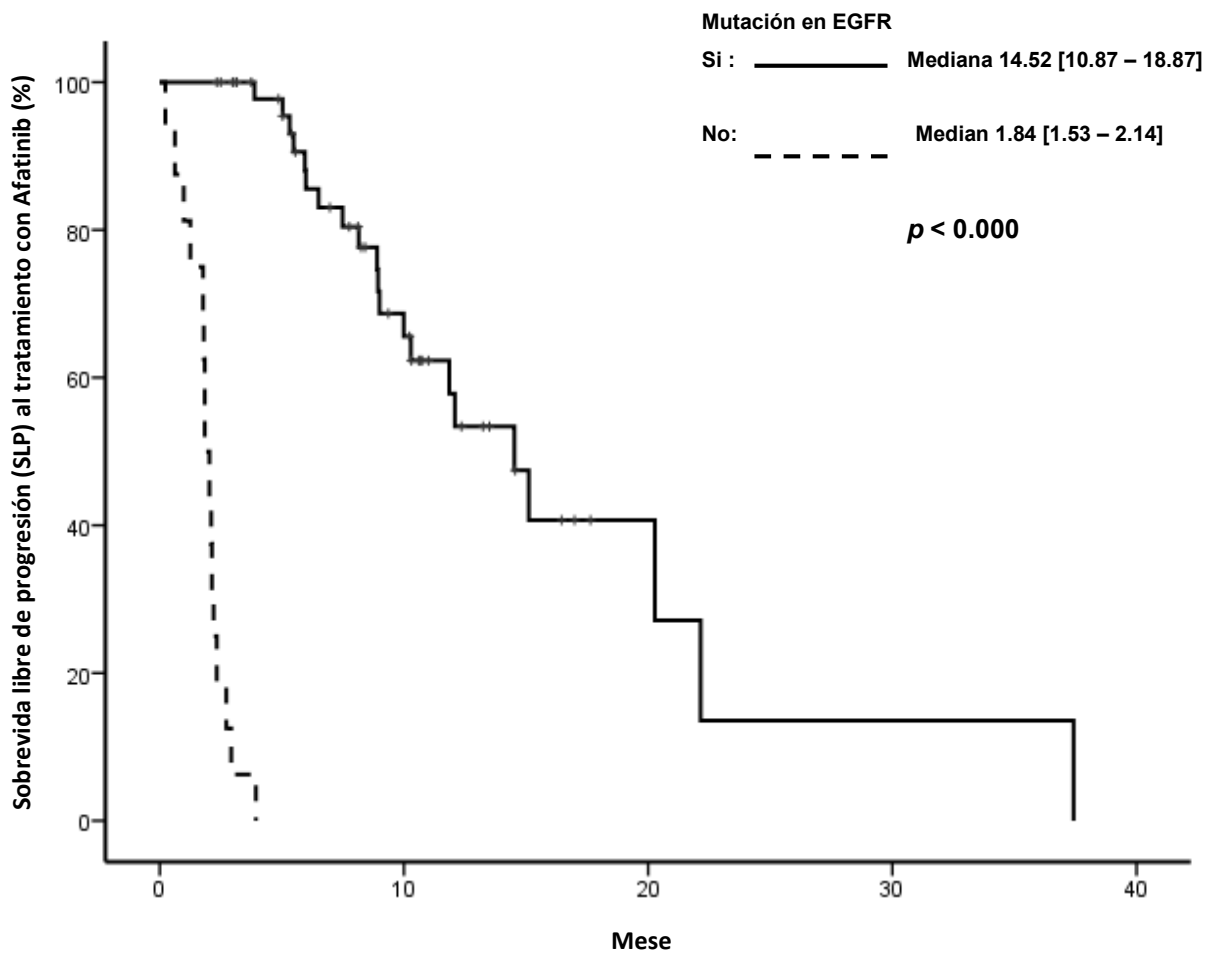


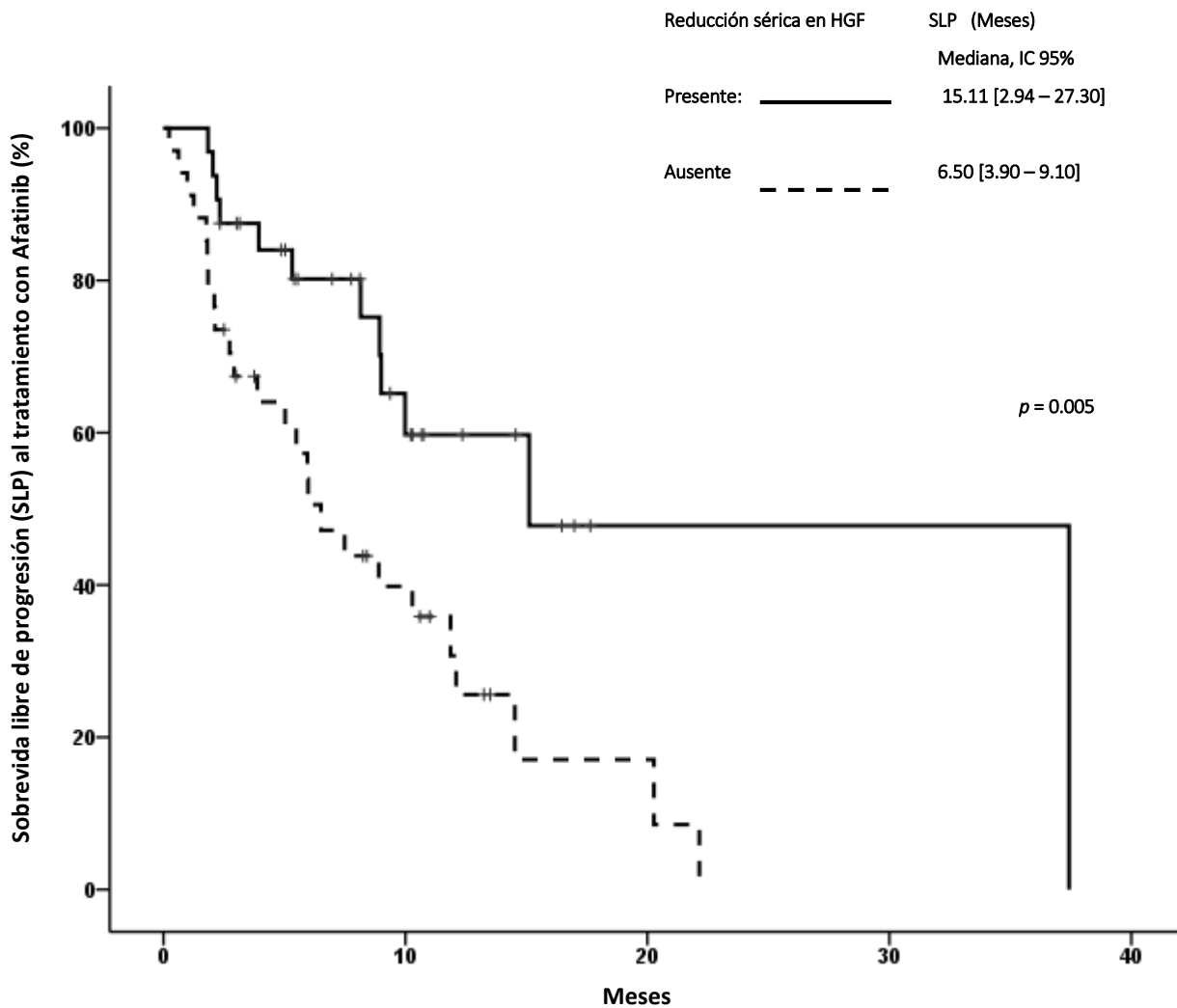
Figura 6. Sobrevida libre de progresión en los pacientes tratados con Afatinib



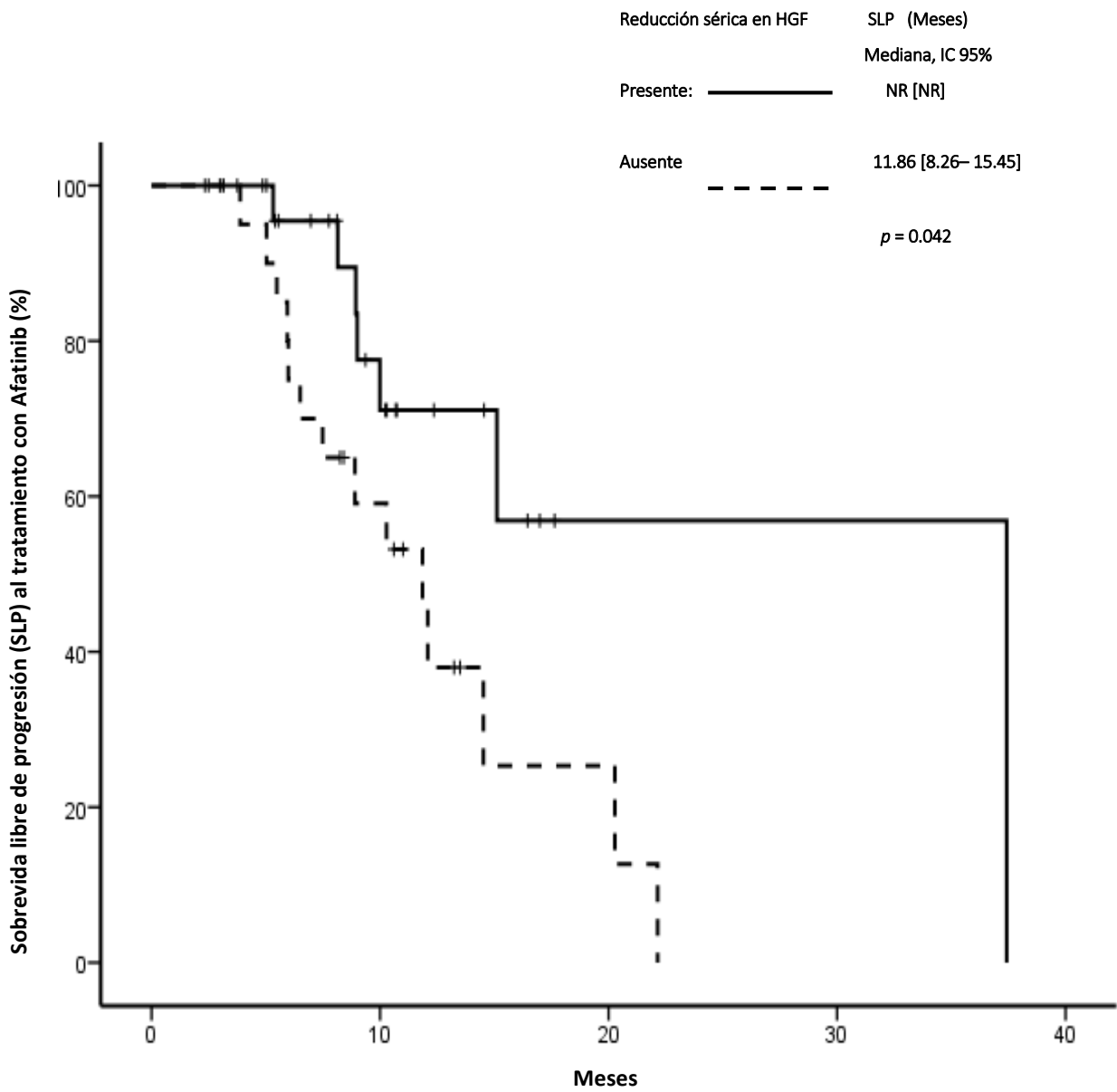


**Figura 7.** Sobrevida libre de progresión en los pacientes tratados con Afatinib según estado de mutado o no en

En los pacientes portadores de una mutación EGFR la mediana de SLP fue de 14,52 meses (IC 95 % 10,87-18,87) (Figura 7). En todos los pacientes, así como en el análisis de subgrupos de los pacientes portadores de la mutación en EGFR, el único factor asociado de forma independiente con una mejora de la SLP fue una reducción en el nivel de HGF en suero después del tratamiento con Afatinib. En la población total, la reducción en el HGF se asoció con una SLP mayor  $p=0.005$ (Figura 8). En los pacientes portadores de la mutación también se asoció con una SLP mayor (Figura 9).



**Figura 8.** Sobrevida libre de progresión en los pacientes tratados con Afatinib según si presentaron una reducción en la concentración sérica del Factor de crecimiento Hepatocítico (HGF) antes y después del tratamiento en todos los pacientes.



**Figura 9.** Sobrevida libre de progresión en los pacientes tratados con Afatinib según si presentaron una reducción en la concentración sérica del Factor de crecimiento Hepatocítico (HGF) antes y después del tratamiento los pacientes con mutación en EGFR.

La mediana de SG fue de 22,7 meses (IC 95%: 14,4-28,0) en todos los pacientes (Figura 10). La mediana de SG en los pacientes EGFR mutado fue 32,42 (IC 95 % 18,25-46,59 ) (Figura 11) . Los pacientes no fumadores ( 32,42 [ 18.5748.28 ] frente a 14,52 meses [ 7,85-21,18 ] p = 0,018 ) ; con mutación EGFR positiva ( 32,42 [ 18,25-46,59 ] frente a 15,27 meses [ 3,81-26,74 ] ; p = 0,039 ) y con una reducción en el nivel de HGF en suero ( NR vs 14,52 [ 7,79-21,25 ] ; p = 0,007 ) se relacionaron con una mejor SG (Tabla 16). La asociación entre una reducción en el nivel de HGF en suero y OS se mantuvo significativa tras el análisis multivariante (HR 0,31 [0,13 -0.71] p=0.006) (Figura 12).

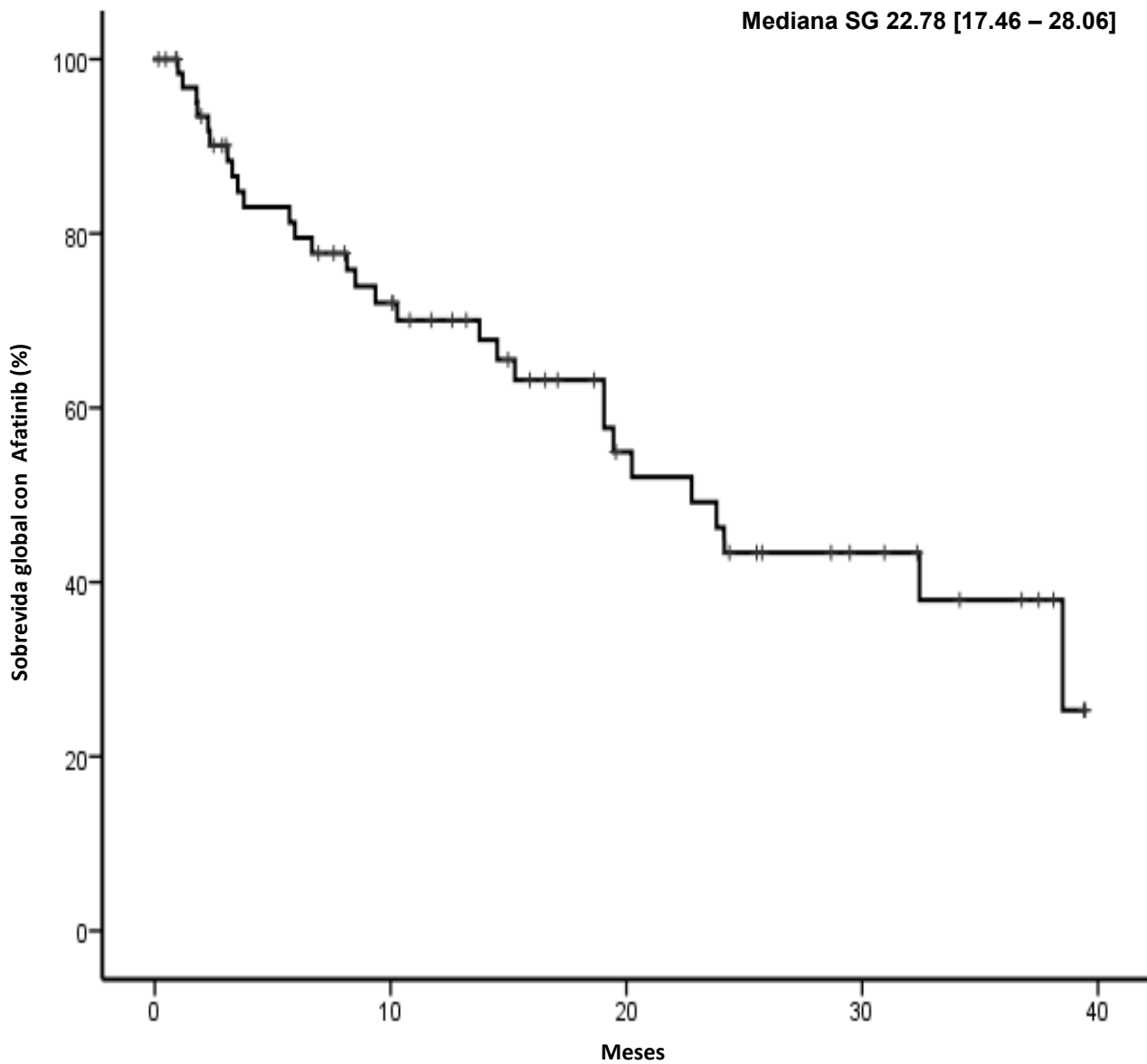
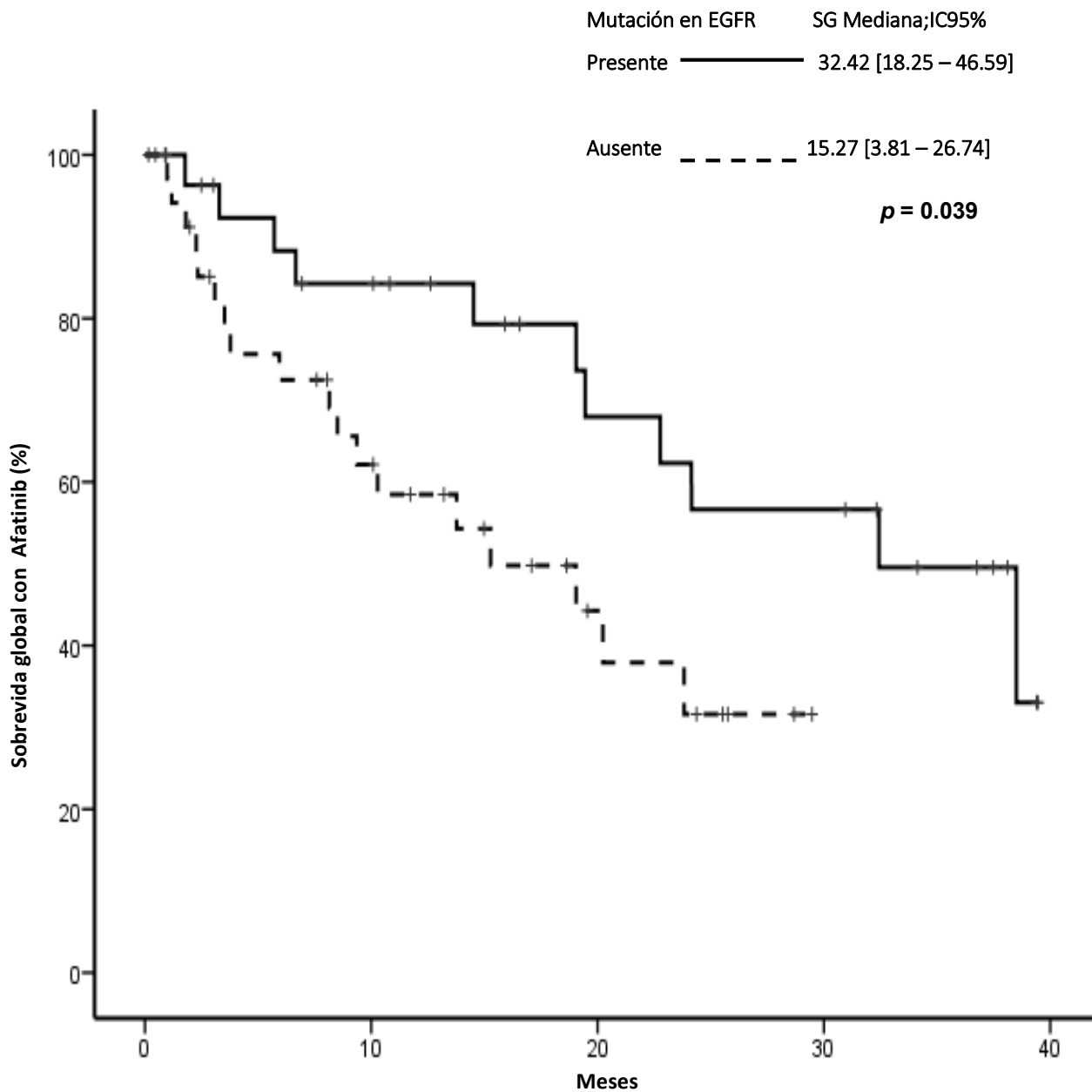
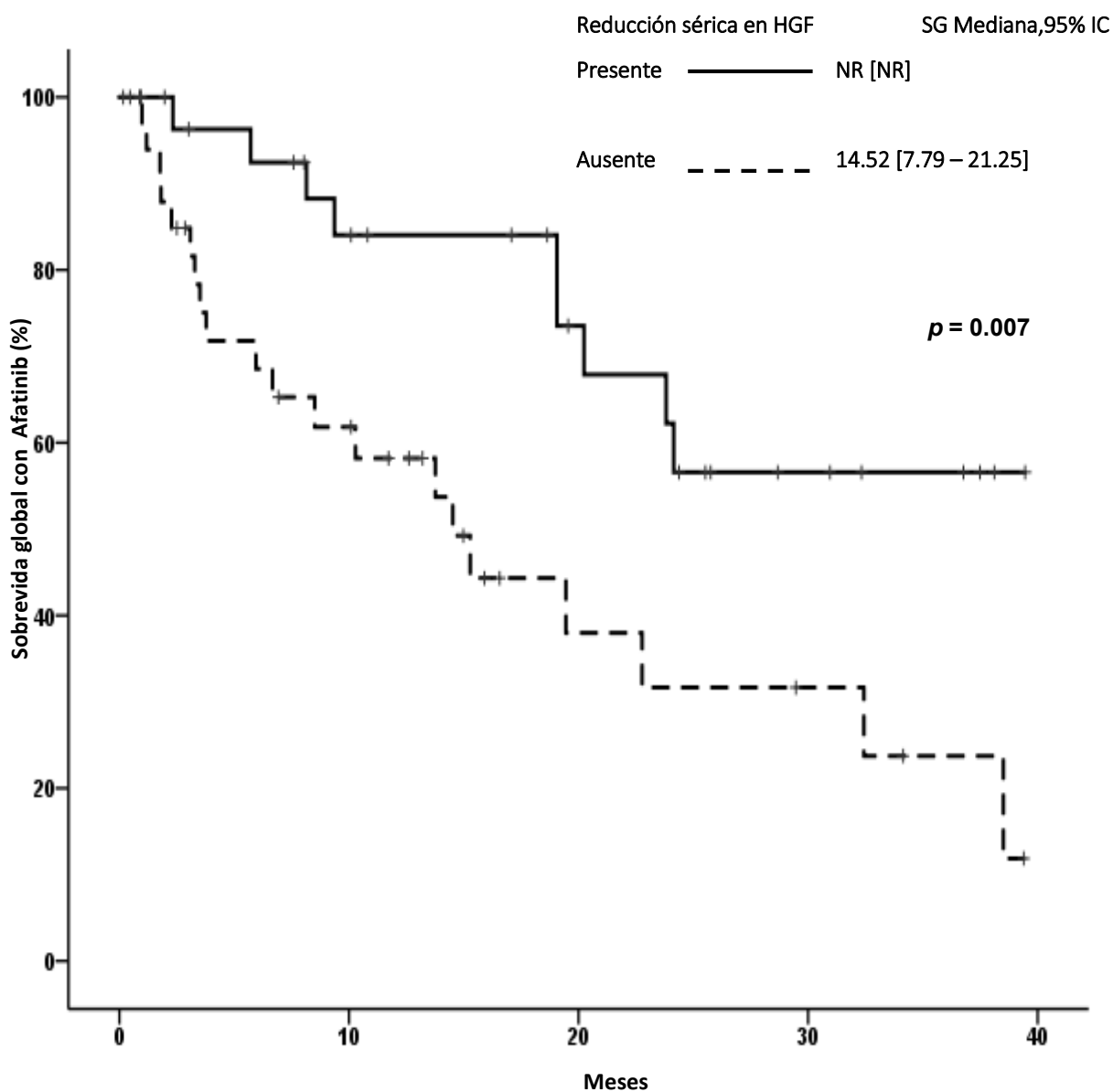


Figura 10. Sobrevivida global en los pacientes tratados con Afatinib

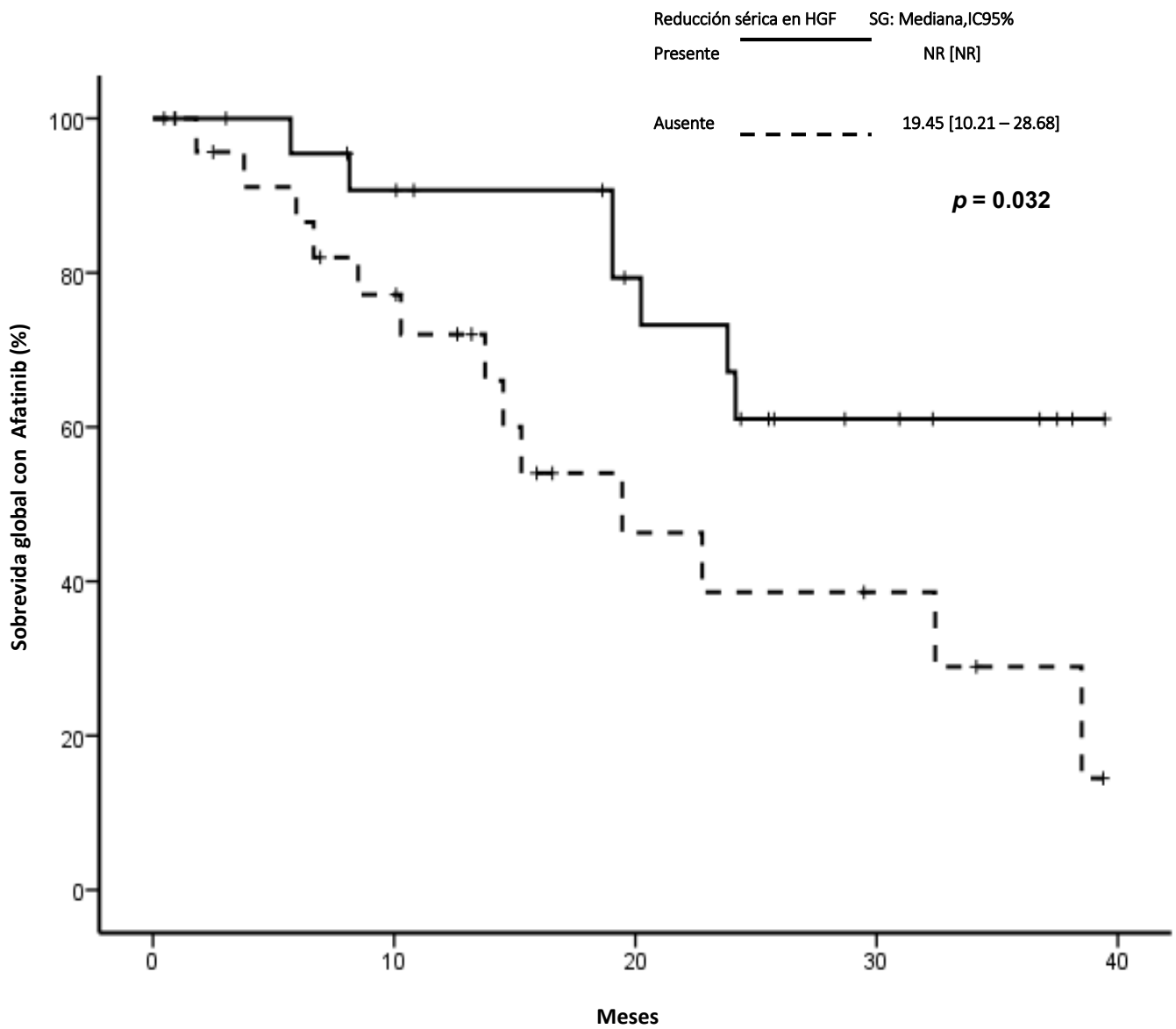


**Figura 11.** Sobrevida global en los pacientes tratados con Afatinib según estado de mutado o no en EGFR



**Figura 12.** Sobrevida global en los pacientes tratados con Afatinib según reducción o no en la concentración sérica en el factor de crecimiento hepatocítico (HGF) tras el tratamiento, en todos los pacientes.

La mediana de edad de 60 años y mayores ( 15.11 [ 4,16-23,27 ] vs 11,80 meses [ 8,33-15,38 ] ;  $p = 0,027$  ) ; WSE ( NR vs 19,05 [ 13,65-24,26 ] ;  $p = 0,039$  ) ; erupción ( 22.76 [ 16,23-29,29 ] vs 38,50 meses [ 17,68-59,32 ] ;  $p = 0,046$  ) y una reducción en el nivel de HGF en suero ( NR vs 19.45 meses [ 10.21-28.68 ] ;  $p = 0,032$  ) se asoció con una sobrevida global mayor en los pacientes con mutación en EGFR (Tabla 17) . Sólo una reducción en el nivel de HGF en suero permaneció como un factor significativo para la SG en población mutada para el EGFR tras el análisis multivariante (HR 0,34 [0.1-0.88];  $p=0.027$ ) (Figura 13).



**Figura 13.** Sobrevida global en los pacientes tratados con Afatinib según reducción o no en la concentración sérica En el factor de crecimiento hepatocítico (HGF) tras el tratamiento, en los pacientes con mutación en EGFR.

**Table 17.** Análisis univariado y multivariado de los factores asociados con la sobrevida global con Afatinib en todos los pacientes

<b>Sobrevida Global (SG)</b>				
	<b>Análisis Univariado</b>		<b>Análisis Multivariado</b>	
	<b>Mediana [IC al 95% ]</b>	<b>P</b>	<b>HR [95% CI]</b>	<b>P</b>
	22.78 [17.46 – 28.06]			
<b>Género</b>				
Femenino	23.81 [17.17 – 30.40]			
Masculino	4.57 [13.80 – 31.72]		0.781*	
<b>Fumador</b>				
No	32.42 [18.57 – 48.28]			
Si	14.52 [7.85 – 21.18]		1.21 [0.45 – 3.24]	0.703
<b>Exposición a humo de leña</b>				
No	19.05 [13.25 - 24.42]			
Si	31.97 [16.32 – 48.52]		0.160*	
<b>Mutación en EGFR</b>				
Si	32.42 [18.25 - 46.59]			
No	15.27 [3.81 – 26.74]		0.15 [0.62 – 0.40]	<b>0</b>
<b>Reducción en HGF</b>				
Si	NR [NR]			
No	14.52 [7.79 – 21.25]		0.31 [0.13 – 0.71]	<b>0.006</b>
<b>Rash</b>				
Si	38.50 [17.35 - 59.63]			
No	20.23 [12.50 - 27.60]		0.715	

Abreviaciones: EGFR: Receptor del factor de crecimiento epidérmico( Epidermal Growth Factor Receptor); HGF: Factor de crecimiento hepatocítico (Hepatocyte Growth Factor). \*: Prueba de Breslow .



**Tabla18.** Análisis univariado y multivariado de los factores asociados con la sobrevida global con Afatinib en los pacientes con mutación en el receptor del factor del crecimiento epidérmico (EGFR).

	Sobrevida Global (SG)			
	Análisis Univariado		Análisis Multivariado	
	Mediana [IC al 95% ]	P	HR [95% CI]	P
<b>Género</b>				
Femenino	22.14 [9.13 – 39.98]			
Masculino	NR [NR]	0.663*		
<b>Edad(años) ;</b>				
<b>Mediana</b>				
< 60	19.45 [11.71 – 27.18]			
≥60	38.50 [27.39 – 49.44]	<b>0.027*</b>		
<b>Fumador</b>				
No	38.50 [20.36 – 56.64]			
Si	22.76 [9.03 – 36.50]	0.203*	1.21 [0.45 – 3.24]	0.703
<b>Expuesto a humo de leña</b>				
No	19.05 [13.65 – 24.26]			
Si	NR [NR]	<b>0.039*</b>		
<b>Reducción sérica en HGF</b>				
Si	NR [NR]			
No	19.45 [10.21 – 28.68]	<b>0.032</b>	0.34 [0.13 – 0.88]	<b>0.027</b>
<b>Rash</b>				
Si	22.76 [16.23 – 29.29]			
No	38.50 [17.68 – 59.32]	<b>0.046*</b>		
Abreviaciones: EGFR: Receptor del factor de crecimiento epidérmico (Epidermal Growth Factor Receptor); HGF: Factor de crecimiento hepatocítico (Hepatocyte Growth Factor).				

## Discusión

Dada la alta prevalencia de mutación de EGFR en nuestros pacientes, el presente estudio resume los resultados de un ensayo clínico fase 2 para conocer la eficacia y toxicidad de un inhibidor de tirosina cinasa irreversible, el afatinib. En este estudio, los resultados sobre respuesta global, supervivencia libre de progresión y supervivencia global se hayan en concordancia con estudios aleatorizados de mayor escala como Lux Lung 6<sup>60</sup>.

Asimismo, nuestros resultados muestran que una reducción en el nivel de HGF en suero en pacientes con adenocarcinoma de pulmón avanzado tratados con afatinib podría servir como un biomarcador predictivo de respuesta terapéutica, sobre todo en aquellos que albergan mutaciones de EGFR. Las tasas de respuesta objetiva, SLP y la SG fueron mayores en los pacientes con una reducción en el nivel de HGF en suero.

El eje HGF -c-MET desempeña un papel central en la progresión del cáncer de pulmón y en la resistencia al tratamiento mediante la activación de la señalización aguas abajo a través de ERK / MAPK y PI3K / AKT y promover la invasividad de las células<sup>63</sup>. La sobreexpresión y / o amplificación de c-MET, así como la sobreexpresión de HGF, se ha informado en pacientes con CPNM en desarrollo de resistencia a EGFR - TKI reversible<sup>64</sup>. HGF se ha demostrado para inducir resistencia a gefitinib en células de adenocarcinoma de pulmón con mutaciones de EGFR mediante la restauración de la vía de señalización PI3K / AKT a través de la fosforilación de c-MET<sup>65</sup>. Además, HGF acelera el desarrollo de la amplificación de c-MET tanto in vitro como in vivo, la mediación de la resistencia a los inhibidores de EGFR cinasa causada por cualquiera de amplificación de c-MET o HGF producción autocrina<sup>66</sup>. HGF ha sido considerado como un marcador pronóstico candidato en diversos tumores malignos sólidos y hematológicos incluyendo cáncer de pulmón de células pequeñas<sup>67</sup>, el cáncer colorrectal<sup>68</sup>, carcinoma gástrico<sup>69</sup>, cáncer de próstata<sup>70</sup>, mieloma múltiple<sup>71</sup>, glioblastoma y meningioma<sup>72-74</sup>. Sin embargo, pocos estudios clínicos han examinado el valor predictivo de HGF con respecto a los resultados clínicos de los pacientes con CPNM tratados con terapias dirigidas.

En un estudio previo, un nivel de HGF alto pretratamiento se asoció con un pronóstico pobre a nivel clínico, incluyendo una tasa de respuesta tumoral y un tiempo de supervivencia menor, en pacientes tratados con la primera generación EGFR TKI, lo que sugiere que el nivel de HGF podría ser potencialmente útil para predecir la respuesta a gefitinib o erlotinib<sup>75</sup>. Por otra parte en el estudio de Umeguchi et al. se mostró que la evaluación de HGF en la sangre periférica podría ser útil para la vigilancia de la resistencia a EGFR - TKI<sup>76</sup>. Aunque algunas pruebas in vitro hechas en líneas celulares de adenocarcinoma apuntan hacia el hecho de que la secreción de HGF podría conferir resistencia a Afatinib<sup>77</sup>, se desconoce el valor predictivo de HGF en pacientes tratados con irreversible EGFR TKIs a nivel clínico.

Curiosamente, no hemos encontrado el nivel de HGF en suero pretratamiento que se asocia con la respuesta a afatinib , pero había una relación significativa entre la disminución de esos niveles y tanto la respuesta global y la supervivencia . De acuerdo con nuestros datos, un cambio en la concentración de HGF en suero después de comenzar el tratamiento con afatinib podría ser un marcador clínico potencialmente útil de la respuesta en el CPNM tratados con este fármaco y un objetivo potencialmente terapéutico para la resistencia mediada por HGFc -MET superar en NSCLC.

Debido al hecho de que tercera generación TKIs (AZD9291 <sup>78</sup> , rociletinib <sup>79</sup> ) han demostrado una resistencia altamente activa adquirida mediada por mutación EGFR T790M , la vía HGF - cMet va a surgir como un mecanismo relevante involucrado en el desarrollo de resistencia secundaria para EGFR - TKIs . HGF podría ser un biomarcador útil para identificar la activación de esta vía . Se necesitan más estudios sobre la relación entre los mecanismos no T790M y eficacia ITC irreversible.

Un número limitado de estudios en el CPNM han tratado de evaluar la actividad de los pan- inhibidores en pacientes con aberraciones HER2 . En un ensayo clínico fase II Kris et al. informaron que Dacomitinib un reciente ITC se asoció con una mediana en la tasa de respuesta objetiva de 3 meses en pacientes con CPCNP con mutación en HER2 y con una mediana en SG de 9 meses desde el inicio del tratamiento en estos mismos pacientes <sup>80</sup> . No hay respuestas se registraron en los cuatro pacientes con tumores HER2 - amplificado. En nuestro estudio hemos encontrado 2 pacientes portadores de HER2 exón 20 mutaciones y ninguno con la amplificación de HER2 , los cuales lograron enfermedad estable . Estos hallazgos sugieren que la presencia de mutaciones HER2 puede caracterizar a un subgrupo de pacientes con CPCNP que podrían beneficiarse de afatinib como una opción de tratamiento . Otros ensayos clínicos deberían evaluar el efecto de la ITC en esta población genómicamente definida.

Una limitación de nuestro estudio es el número relativamente pequeño de pacientes incluidos . Los ensayos clínicos utilizando ITC irreversibles en un mayor número de pacientes nos podrían proporcionar evidencia adicional sobre este tema mediante la inclusión de la medición del nivel de HGF en suero entre sus resultados. Además, no existe un umbral definido para un descenso en la concentración de HGF , y aunque nuestros resultados son estadísticamente y clínicamente significativa , es difícil afirmar que esto se aplica fácilmente a otras poblaciones de pacientes . Por último , a pesar de que la determinación de EGFR estado mutacional no era obligatorio para estar enrolado en este ensayo , la mayor prevalencia de pacientes EGFR mutado en nuestro estudio refleja la mayor incidencia de mutaciones de EGFR en población mexicana , siendo probablemente atribuido a ciertas características demográficas <sup>81-82</sup> .

## CONCLUSIONES

En nuestro estudio, la reducción de los niveles séricos de HGF se asoció de manera estadísticamente significativa con una mejora en la SLP, la TRG, y SG. La cuantificación de los niveles de HGF papel como biomarcador podría ayudar a la identificación de un subgrupo de pacientes con mayor probabilidad de responder a un tratamiento con un ITC irreversible como Afatinib. Hasta donde sabemos, este es el primer estudio que muestra el potencial de la reducción en los niveles séricos de HGF como un biomarcador. Esto podría conducir a prevenir la resistencias a afatinib y ofrecería potencialmente una oportunidad para brindar nuevas terapias dirigidas al eje HGF -c- Met.

## Bibliografía

1. Hayat MJ, Howlader N, Reichman ME, Edwards BK. Cancer statistics, trends, and multiple primary cancer analyses from the Surveillance, Epidemiology, and End Results (SEER) Program. *Oncologist*. 2007 Jan;12(1):20-37.
2. SEED (<http://seer.cancer.gov/statfacts/html/lungb.html>)
3. Guidelines, E. C. P. (2013). *Epidemiology of Lung Cancer 3rd ed* : American College of Chest Physicians Evidence-Based Clinical Practice Guidelines, (May), 1–29.
4. Powell, C. A., Halmos, B., & Nana-sinkam, S. P. (2013). Update in Lung Cancer and Mesothelioma 2012, 188, 157–166.
5. Ferlay J, Soerjomataram I, Dikshit R, Eser S, Mathers C, Rebelo M, Parkin DM, Forman D, Bray F. Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012. *Int J Cancer*. 2015 Mar 1;136(5):E359-86.
6. [http://www.inegi.org.mx/prod\\_serv/contenidos/espanol/bvinegi/productos/integracion/sociodemografico/mujeresyhombres/200MyH\\_2009\\_1.pdf](http://www.inegi.org.mx/prod_serv/contenidos/espanol/bvinegi/productos/integracion/sociodemografico/mujeresyhombres/200MyH_2009_1.pdf)
7. Stewart, D. J. (n.d.). Lung Cancer.
8. Carmona, R. E. (2013). Asbestosis y mesotelioma pleural maligno, 56, 5–17.
9. Alberg AJ<sup>1</sup>, Nonemaker J. Who is at high risk for lung cancer? Population-level and individual-level perspectives. *Semin Respir Crit Care Med*. 2008 Jun;29(3):223-32.
10. Nguyen, K. H., Kobayashi, S., & Costa, D. B. (2009). comprehensive review Acquired Resistance to Epidermal Growth Factor Receptor Tyrosine Kinase Inhibitors in Non – Small-Cell Lung Cancers Dependent on the Epidermal Growth Factor Receptor Pathway. *Clinical Lung Cancer*, 10(4), 281–289.
11. Berghmans, T., Paesmans, M., Lalami, Y., Louviaux, I., Luce, S., Mascaux, C., Meert, a P., et al. (2002). Activity of chemotherapy and immunotherapy on malignant mesothelioma: a systematic review of the literature with meta-analysis. *Lung cancer (Amsterdam, Netherlands)*, 38(2), 111–21. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12399121>
12. Thun, M., Peto, R., Boreham, J., & Lopez, A. D. (2012). Stages of the cigarette epidemic on entering its second century Stages of the cigarette epidemic on entering its second century, 96–101.
13. Permuthey, J., & Sellers, T. A. (2009). *Cancer Epidemiology*. (M. Verma, Ed.), 472.
14. Maziak, D. E., Gagliardi, A., Haynes, A. E., Mackay, J. a, & Evans, W. K. (2005). Surgical management of malignant pleural mesothelioma: a systematic review and evidence summary. *Lung cancer (Amsterdam, Netherlands)*, 48(2), 157–69.
15. Machac, J., Krynycky, B., & Kim, C. (2002). Peptide and antibody imaging in lung cancer. *Seminars in nuclear medicine*, 32(4), 276–92.
16. Sequist, L. V, Bell, D. W., Lynch, T. J., & Haber, D. a. (2007). Molecular predictors of response to epidermal growth factor receptor antagonists in non-small-cell lung cancer. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology*, 25(5), 587–95.
17. Sharma et al., Epidermal growth factor receptor mutations in lung cancer *Nature Reviews Cancer* 2007. Mar 7 (3), 169–81.
18. Part, E. P., Longchampt, E., Wislez, M., Coudert, B., Daniel, C., Chetaille, B., Michiels, S., et al. (n.d.). Impact of Systematic EGFR and KRAS Mutation Evaluation on Progression-Free Survival and Overall Survival in Patients with Advanced Non – Small-Cell Lung Cancer Treated by Erlotinib in a French Prospective Cohort, 7, 1490–1502.
19. Majem, M., & Pallarès, C. (2013). An update on molecularly targeted therapies in second- and third-line treatment in non small cell lung cancer: focus on EGFR inhibitors and anti-angiogenic agents. *Clinical & translational oncology : official publication of the Federation of Spanish Oncology Societies and of the National Cancer Institute of Mexico*, 15(5), 343–57.
20. Arrieta O, Cardona AF, Martín C, Más-López L, Corrales-Rodríguez L, Bramuglia G, Castillo-Fernandez O, Meyerson M, Amieva Rivera E, Campos-Parra AD, Carranza H, Gómez de la Torre JC, Powazniak Y, Aldaco-Sarvide F, Vargas C, Trigo M, Magallanes Maciel M, Otero J, Sánchez-Reyes R, Cuello M. 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 May;10(5):838-43.
21. Brose MS<sup>1</sup>, Volpe P, Feldman M, Kumar M, Rishi I, Gerrero R, Einhorn E, Herlyn M, Minna J, Nicholson A, Roth JA, Albelda SM, Davies H, Cox C, Brignell G, Stephens P, Futreal PA, Wooster R, Stratton MR, Weber BL. BRAF and RAS mutations in human lung cancer and melanoma. *Cancer Res*. 2002 Dec 1;62(23):6997-7000.
22. Riely GJ<sup>1</sup>, Kris MG, Rosenbaum D, Marks J, Li A, Chitale DA, Nafa K, Riedel ER, Hsu M, Pao W, Miller VA, Ladanyi M. Frequency and distinctive spectrum of KRAS mutations in never smokers with lung adenocarcinoma. *Clin Cancer Res*. 2008 Sep 15;14(18):5731-4.

23. Sun Y<sup>1</sup>, Ren Y, Fang Z, Li C, Fang R, Gao B, Han X, Tian W, Pao W, Chen H, Ji H. Lung adenocarcinoma from East Asian never-smokers is a disease largely defined by targetable oncogenic mutant kinases. *J Clin Oncol*. 2010 Oct 20;28(30):4616-20.
24. Riely GJ<sup>1</sup>, Ladanyi M. KRAS mutations: an old oncogene becomes a new predictive biomarker. *J Mol Diagn*. 2008 Nov;10(6):493-5.
25. Riely GJ<sup>1</sup>, Marks J, Pao W. KRAS mutations in non-small cell lung cancer. *Proc Am Thorac Soc*. 2009 Apr 15;6(2):201-5.
26. Miller, VA, Riely, GJ, Zakowski, MF, Li, AR, Patel, JD, Heelan, RT, Kris, MG, Sandler, AB, Carbone, DP, Tsao, A, Herbst, RS, Heller, G, Ladanyi, M, Pao, W, and Johnson, DH. Molecular characteristics of bronchioloalveolar carcinoma and adenocarcinoma, bronchioloalveolar carcinoma
27. Jackman, DM, Yeap, BY, Lindeman, NI, Fidias, P, Rabin, MS, Temel, J, Skarin, AT, Meyerson, M, Holmes, AJ, Borras, AM, Freidlin, B, Ostler, PA, Lucca, J, Lynch, TJ, Johnson, BE, and Janne, PA. Phase II clinical trial of chemotherapy-naïve patients > or = 70 years of age treated with erlotinib for advanced non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol*. 2007; 25: 760–766
28. Zhu, CQ, da Cunha Santos, G, Ding, K, Sakurada, A, Cutz, JC, Liu, N, Zhang, T, Marrano, P, Whitehead, M, Squire, JA, Kamel-Reid, S, Seymour, L, Shepherd, FA, and Tsao, MS. Role of KRAS and EGFR as biomarkers of response to erlotinib in National Cancer Institute of Canada Clinical Trials Group Study BR. 21. *J Clin Oncol*. 2008; 26: 4268–4275
29. Massarelli, E, Varella-Garcia, M, Tang, X, Xavier, AC, Ozburn, NC, Liu, DD, Bekele, BN, Herbst, RS, and Wistuba, II. KRAS mutation is an important predictor of resistance to therapy with epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitors in non-small-cell lung cancer. *Clin Cancer Res*. 2007; 13: 2890-2896.
30. Hirsch, FR, Varella-Garcia, M, Bunn, PA Jr, Franklin, WA, Dziadziuszko, R, Thatcher, N, Chang, A, Parikh, P, Pereira, JR, Ciuleanu, T, von Pawel, J, Watkins, C, Flannery, A, Ellison, G, Donald, E, Knight, L, Parums, D, Botwood, N, and Holloway, B. Molecular predictors of outcome with gefitinib in a phase III placebo controlled study in advanced non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol*. 2006; 24: 5034–5042
31. Hirsch, FR, Varella-Garcia, M, Cappuzzo, F, McCoy, J, Bemis, L, Xavier, AC, Dziadziuszko, R, Gumerlock, P, Chansky, K, West, H, Gazdar, AF, Crino, L, Gandara, DR, Franklin, WA, and Bunn, PA Jr. Combination of EGFR gene copy number and protein expression predicts outcome for advanced non-small-cell lung cancer patients treated with gefitinib. *Ann Oncol*. 2007; 18:752–760.
32. Han, SW, Kim, TY, Jeon, YK, Hwang, PG, Im, SA, Lee, KH, Kim, JH, Kim, DW, Heo, DS, Kim, NK, Chung, DH, and Bang, YJ. Optimization of patient selection for gefitinib in non-small cell lung cancer by combined analysis of epidermal growth factor receptor mutation, K-ras mutation, and Akt phosphorylation. *Clin Cancer Res*. 2006; 12: 2538-2544.
33. Pao, W, Wang, TY, Riely, GJ, Miller, VA, Pan, Q, Ladanyi, M, Zakowski, MF, Heelan, RT, Kris, MG, and Varmus, HE. KRAS mutations and primary resistance of lung adenocarcinomas to gefitinib or erlotinib. *PLoS Med*. 2005; 2: e17
34. Christensen JG, Zhou HY, Arango ME et al. Cyto-reductive antitumor activity of PF-2341066, a novel inhibitor of anaplastic lymphoma kinase and c-Met, in experimental models of anaplastic large-cell lymphoma. *Mol Cancer Ther* 2007, 6:3314-22).
35. Choi YL<sup>1</sup>, Takeuchi K, Soda M, Inamura K, Togashi Y, Hatano S, Enomoto M, Hamada T, Haruta H, Watanabe H, Kurashina K, Hatanaka H, Ueno T, Takada S, Yamashita Y, Sugiyama Y, Ishikawa Y, Man H. Identification of novel isoforms of the EML4-ALK transforming gene in non-small cell lung cancer. *Cancer Res*. 2008 Jul 1;68(13):4971-6. doi: 10.1158/0008 5472.CAN-07-6158.
36. Rikova K<sup>1</sup>, Guo A, Zeng Q, Possemato A, Yu J, Haack H, Nardone J, Lee K, Reeves C, Li Y, Hu Y, Tan Z, Stokes M, Sullivan L, Mitchell J, Wetzel R, Macneill J, Ren JM, Yuan J, Bakalarski CE, Villen J, Kornhauser JM, Smith B, Li D, Zhou X, Gygi SP, Gu TL, Polakiewicz RD, Rush J, Comb MJ. Global survey of phosphotyrosine signaling identifies oncogenic kinases in lung cancer. *Cell*. 2007 Dec 14;131(6):1190-203.
37. Soda M<sup>1</sup>, Choi YL, Enomoto M, Takada S, Yamashita Y, Ishikawa S, Watanabe H, Kurashina K, Hatanaka H, Bando M, Ohno S, Ishikawa Y, Aburatani H, Niki T, Sohara Y, Sugiyama Y, Mano H. Identification of the transforming EML4-ALK fusion gene in non-small cell lung cancer. *Nature*. 2007 Aug 2;448(7153):561-6. Epub 2007 Jul 11
38. Takeuchi K<sup>1</sup>, Choi YL, Togashi Y, Soda M, Hatano S, Inamura K, Takada S, Ueno T, Yamashita Y, Satoh Y, Okumura S, Nakagawa K, Ishikawa Y, Mano H. KIF5B-ALK, a novel fusion oncokinase identified by an immunohistochemistry-based diagnostic system for ALK positive lung cancer. *Clin Cancer Res*. 2009 May 1;15(9):3143-9. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-08-3248. Epub 2009 Apr 21.
39. Solomon B, Varella-Garcia M and Camidge, D.R. ALK gene rearrangements: a new therapeutic target in molecularly defined subset of non-small cell lung cancer. *J Thorac Oncol* 2009; 4: 1450-1454.
40. Rodig SJ, Mino-Kenudson M, Dacic S et al. Unique clinicopathologic features characterize ALK-rearranged lung adenocarcinoma in the western population. *Clin Cancer Res* 2009; 15: 5216- 5223.
41. Shaw AT, Yeap BY, Mino-Kenudson M et al. Clinical Features and outcome of patients with non-small-cell lung cancer who harbor EML4-ALK. *J Clin Oncol* 2009; 27: 4247-4253.
42. Nishino M, Klepeis VE, Yeap BY et al. Histologic and cytomorphic features of ALK-rearranged lung adenocarcinomas. *Mod Pathol* 2012; 25(11): 1462-72.
43. Boland JM, Erdogan S, Vasmatazis G et al. Anaplastic lymphoma kinase immunoreactivity correlates with ALK gene rearrangement

and transcriptional up- regulation in non-small cell lung carcinomas. *Hum Pathol* 2009; 40: 1152- 1158

44. Inamura K, Takeuchi K, Togashi Y et al. EML4-ALK fusion is linked to histological characteristics in a subset of lung cancer. *J. Thorac Oncol* 2008; 3: 13-17.
45. Wong DW, Leung EL, So KK, et al. The EML4-ALK Fusion Gene Is Involved in Various Histologic Types of Lung Cancers From Non smokers With Wild-type EGFR and KRAS. *Cancer* 2009; 15(8): 1723-1733.
46. Takahashi T, Sonobe M, Kobayashi M et al. Clinicopathologic features and outcome of patients with non-small cell lung cancer who harbor EML4-ALK. Fusion gene. *Ann Surg Oncol* 2010; 17: 889-97.
47. Koivunen JP, Mermel C, Zejnullahu K et al. EML4-ALK fusion gene and efficacy of an ALK kinase inhibitor in lung cancer. *Clin Cancer Res* 2008; 14: 4275-4283
48. Kwak EL, Beng YJ, Camidge DR et al. Anaplastic lymphoma kinase inhibition in non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med* 2010, 363: 1693-703).
49. Brugger, W., & Thomas, M. (2012). EGFR-TKI resistant non-small cell lung cancer (NSCLC): new developments and implications for future treatment. *Lung cancer (Amsterdam, Netherlands)*, 77(1), 2–8. doi:10.1016/j.lungcan.2011.12.014
50. Majem M<sup>1</sup>, Pallarès C. An update on molecularly targeted therapies in second- and third-line treatment in non-small cell lung cancer : focus on EGFR inhibitors and anti-angiogeni agents. *Clin Transl Oncol*. 2013 May;15(5):343-57.
51. Dunto, R. T., & Keating, G. M. (2013). Afatinib : First Global Approval, 1503–1515.
52. Grève, J. De, Teugels, E., Geers, C., Decoster, L., Galdermans, D., Mey, J. De, Everaert, H., et al. (2012). Lung Cancer Clinical activity of afatinib ( BIBW 2992 ) in patients with lung adenocarcinoma with mutations in the kinase domain of HER2 / neu , *Lung Cancer*, 76(1), 123–127. doi:10.1016/j.lungcan.2012.01.008
53. Mok TS, Wu YL, Thongprasert S, Yang CH, Chu DT, Saijo N, Sunpaweravong P, Han B, Margono B, Ichinose Y, Nishiwaki Y, Ohe Y, Yang JJ, Chewaskulyong B, Jiang H, Duffield EL, Watkins CL, Armour AA, Fukuoka M. Gefitinib or carboplatin-paclitaxel in pulmonary adenocarcinoma *N Engl J Med*. 2009 Sep 3;361(10):947-57. doi: 10.1056/NEJMoa0810699.
54. Mitsudomi T, Morita S, Yatabe Y, Negoro S, Okamoto I, Tsurutani J, et al. Gefitinib versus cisplatin plus docetaxel in patients with non-small-cell lung cancer harbouring mutations of the epidermal growth factor receptor (WJTOG3405): an open label, randomise phase 3 trial *Lancet Oncol* 2010;11: 121–8
55. Maemondo M, Inoue A, Kobayashi K, Sugawara S, Oizumi S, Isobe H, et al. Gefitinib or chemotherapy for non-small-cell lung cancer with mutated EGFR. *N Engl J Med* 2010;362:2380–8
56. Han JY, Park K, Kim SW, Lee DH, Kim HY, Kim HT, Ahn MJ, Yun T, Ahn JS, Suh C, Lee JS, Yoon SJ, Han JH, Lee JW, Jo SJ, Lee JS. First SIGNAL: first-line single-agent irressa versus gemcitabine and cisplatin trial in never-smokers with adenocarcinoma of the lung. *J Clin Oncol*. 2012 Apr 1;30(10):1122-8. doi: 10.1200/JCO.2011.36.8456.
57. Zhou C, Wu YL, Chen G, Feng J, Liu XQ, Wang C, Zhang S, Wang J, Zhou S, Ren S, Lu S, Zhang L, Hu C, Hu C, Luo Y, Chen L, Ye M, Huang J, Zhi X, Zhang Y, Xiu Q, Ma J, Zhang L, You C. 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 Aug;12(8):735-42. doi: 10.1016/S1470-2045(11)70184-X.
58. Rosell R, Carcereny E, Gervais R, Vergnenegre A, Massuti B, Felip E, Palmero R, Garcia-Gomez R, Pallares C, Sanchez JM, Porta R, Cobo M, Garrido P, Longo F, Moran T, Insa A, De Marinis F, Corre R, Bover I, Illiano A, Dansin E, de Castro J, Milella M, Reguart N, Altavilla G, Jimenez U, Provencio M, Moreno MA, Terrasa J, Muñoz-Langa J, Valdivia J, Isla D, Domine M, Molinier O, Mazieres J, Baize N, Garcia Campelo R, Robinet G, Rodriguez-Abreu D, Lopez-Vivanco G, Gebbia V, Ferrera-Delgado L, Bombaron P, Bernabe R, Bearz A, Artal A, Cortesi E, Rolfo C, Sanchez-Ronco M, Drozdowskyj A, Queralt C, de Aguirre I, Ramirez JL, Sanchez JJ, Molina MA, Taron M, Paz-Ares L. 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 Mar;13(3):239-46.
59. Sequist LV, Yang JC, Yamamoto N, O'Byrne K, Hirsh V, Mok T, Geater SL, Orlov S, Tsai CM, Boyer M, Su WC, Bannouna J, Kato T, Gorbunova V, Lee KH, Shah R, Massey D, Zazulina V, Shahidi M, Schuler M. Phase III study of afatinib or cisplatin plus pemetrexed in patients with metastatic lung adenocarcinoma with EGFR mutations. *J Clin Oncol*. 2013 Sep 20;31(27):3327-34. doi: 10.1200/JCO.2012.44.2806.
60. Wu YL, Zhou C, Hu CP, Feng J, Lu S, Huang Y, Li W, Hou M, Shi JH, Lee KY, Xu CR, Massey D, Kim M, Shi Y, Geater SL. 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 Feb;15(2):213-22. doi: 10.1016/S1470-2045(13)70604
61. Kato T, Yoshioka H, Okamoto I, Yokoyama A, Hida T, Seto T, Kiura K, Massey D, Seki Y, Yamamoto N. Afatinib versus cisplatin plus pemetrexed in Japanese patients with advanced non-small cell lung cancer harboring activating EGFR mutations: Subgroup analysis of LUX-Lung 3. *Cancer Sci*. 2015 Jun 19.

62. Miyauchi E, Inoue A, Kobayashi K, Maemondo M, Sugawara S, Oizumi S, Isobe H, Gemma A, Saijo Y, Yoshizawa H, Hagiwara K, Nukiwa T; North-East Japan Study Group. Efficacy of chemotherapy after first-line gefitinib therapy in EGFR mutation-positive advanced non-small cell lung cancer-data from a randomized Phase III study comparing gefitinib with carboplatin plus paclitaxel (NEJ002). *Jpn J Clin Oncol*. 2015 Jul;45(7):670-6.
63. Yang JC, Wu YL, Chan V, Kurnianda J, Nakagawa K, Saijo N, Fukuoka M, McWalter G, McCormack R, Mok TS. Epidermal growth factor receptor mutation analysis in previously unanalyzed histology samples and cytology samples from the phase III Iressa Pan-ASia Study (IPASS). *Lung Cancer*. 2014 Feb;83(2):174-81. doi: 10.1016/j.lungcan.2013.11.021. Epub 2013 Dec 1.
64. Blumenschein GR, Jr., Mills GB, Gonzalez-Angulo AM. Targeting the hepatocyte growth factor-cMET axis in cancer therapy. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology*. 2012;30(26):3287-96. doi:10.1200/JCO.2011.40.3774.
65. Passiglia F, Van Der Steen N, Raez L, Pauwels P, Gil-Bazo I, Santos E et al. The role of cMet in non-small cell lung cancer resistant to EGFR-inhibitors: did we really find the target? *Current drug targets*. 2014;15(14):1284-92.
66. Yano S, Wang W, Li Q, Matsumoto K, Sakurama H, Nakamura T et al. Hepatocyte growth factor induces gefitinib resistance of lung adenocarcinoma with epidermal growth factor receptor-activating mutations. *Cancer research*. 2008;68(22):9479-87. doi:10.1158/0008-5472.CAN-08-1643.
67. Turke AB, Zejnullahu K, Wu YL, Song Y, Dias-Santagata D, Lifshits E et al. Preexistence and clonal selection of MET amplification in EGFR mutant NSCLC. *Cancer cell*. 2010;17(1):77-88. doi:10.1016/j.ccr.2009.11.022.
68. Takigawa N, Segawa Y, Maeda Y, Takata I, Fujimoto N. Serum hepatocyte growth factor/scatter factor levels in small cell lung cancer patients. *Lung cancer*. 1997;17(23):211-8.
69. Toiyama Y, Miki C, Inoue Y, Okugawa Y, Tanaka K, Kusunoki M. Serum hepatocyte growth factor as a prognostic marker for stage II or III colorectal cancer patients. *International journal of cancer Journal international du cancer*. 2009;125(7):1657-62. doi:10.1002/ijc.24554.
70. Tanaka K, Miki C, Wakuda R, Kobayashi M, Tonouchi H, Kusunoki M. Circulating level of hepatocyte growth factor as a useful tumor marker in patients with early-stage gastric carcinoma. *Scandinavian journal of gastroenterology*. 2004;39(8):754-60. doi:10.1080/00365520410005973.
71. Gupta A, Karakiewicz PI, Roehrborn CG, Lotan Y, Zlotta AR, Shariat SF. Predictive value of plasma hepatocyte growth factor/scatter factor levels in patients with clinically localized prostate cancer. *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research*. 2008;14(22):7385-90. doi:10.1158/1078-0432.CCR-075110.
72. Seidel C, Borset M, Turesson I, Abildgaard N, Sundan A, Waage A. Elevated serum concentrations of hepatocyte growth factor in patients with multiple myeloma. The Nordic Myeloma Study Group. *Blood*. 1998;91(3):806-12.
73. Garcia-Navarrete R, Garcia E, Arrieta O, Sotelo J. Hepatocyte growth factor in cerebrospinal fluid is associated with mortality and recurrence of glioblastoma, and could be of prognostic value. *Journal of neuro-oncology*. 2010;97(3):347-51. doi:10.1007/s11060-0090037-8.
74. Arrieta O, Garcia E, Guevara P, Garcia-Navarrete R, Ondarza R, Rembao D et al. Hepatocyte growth factor is associated with poor prognosis of malignant gliomas and is a predictor for recurrence of meningioma. *Cancer*. 2002;94(12):3210-8. doi:10.1002/cncr.10594.
75. Martinez-Rumayor A, Arrieta O, Guevara P, Escobar E, Rembao D, Salina C et al. Coexpression of hepatocyte growth factor/scatter factor (HGF/SF) and its receptor cMET predict recurrence of meningiomas. *Cancer letters*. 2004;213(1):117-24. doi:10.1016/j.canlet.2004.04.026.
76. Kasahara K, Arai T, Sakai K, Matsumoto K, Sakai A, Kimura H et al. Impact of serum hepatocyte growth factor on treatment response to epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitors in patients with non-small cell lung adenocarcinoma.



- Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research. 2010;16(18):4616-24. doi:10.1158/1078-0432.CCR-10-0383.
77. Umeguchi H, Sueoka-Aragane N, Kobayashi N, Nakamura T, Sato A, Takeda Y et al. Usefulness of plasma HGF level for monitoring acquired resistance to EGFR tyrosine kinase inhibitors in non-small cell lung cancer. *Oncology reports*. 2015;33(1):391-6. doi:10.3892/or.2014.3560.
78. Kang XH, Wang LF, Cao F, Fan FT, Xu ZY. [Tumor microenvironment elicits primary resistance to afatinib through HGF secretion]. *Zhonghua zhong liu za zhi [Chinese journal of oncology]*. 2013;35(10):732-6.
79. Janne PA, Yang JC, Kim DW, Planchard D, Ohe Y, Ramalingam SS et al. AZD9291 in EGFR inhibitor-resistant non-small-cell lung cancer. *The New England journal of medicine*. 2015;372(18):1689-99. doi:10.1056/NEJMoa1411817.
80. Sequist LV, Soria JC, Goldman JW, Wakelee HA, Gadgeel SM, Varga A et al. Rocicetinib in EGFR-mutated non-small-cell lung cancer. *The New England journal of medicine*. 2015;372(18):1700-9. doi:10.1056/NEJMoa1413654.
81. Kris MG, Camidge DR, Giaccone G, Hida T, Li BT, O'Connell J et al. Targeting HER2 aberrations as actionable drivers in lung cancers: phase II trial of the pan-HER tyrosine kinase inhibitor dacomitinib in patients with HER2-mutant or amplified tumors. *Annals of oncology : official journal of the European Society for Medical Oncology / ESMO*. 2015;26(7):1421-7. doi:10.1093/annonc/mdv186.
82. Arrieta O, Cardona AF, Federico Bramuglia G, Gallo A, Campos-Parra AD, Serrano S et al. Genotyping non-small cell lung cancer (NSCLC) in Latin America. *Journal of thoracic oncology : official publication of the International Association for the Study of Lung Cancer*. 2011;6(11):1955-9. doi:10.1097/JTO.0b013e31822f655f.
83. Arrieta O, Cardona AF, Martin C, Mas-Lopez L, Corrales-Rodriguez L, Bramuglia G 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). *Journal of thoracic oncology : official publication of the International Association for the Study of Lung Cancer*. 2015;10(5):838-43. doi:10.1097/JTO.0000000000000481.

## ANEXO 1. Descripción de actividades durante la maestría

### Colaboración realizada dentro del proyecto de tesis durante la maestría

**Descripción:** Al ingresar a la maestría me incorporé al trabajo operativo dentro del protocolo “Factores asociados a la respuesta terapéutica con Afatinib” .Durante el primer semestre de la maestría participé en varios cursos teórico-prácticos a fin de conocer las normas de seguridad y conducta dentro de un laboratorio. De particular interés fue mi participación en el curso teórico-práctico de capacitación para el uso del instrumento LightCycler 480 II. Llevado a cabo en las instalaciones del Instituto Nacional de Cancerología los días 19 al 21 de Noviembre 2013, con un total de 30 horas, esto me permitió conocer y profundizar mi conocimiento en la técnica de reacción en cadena de la polimerasa y colaborar en el procesamiento de las muestras de PCR para detectar las mutaciones en el EGFR y K-RAS mediante un kit.

Posteriormente, participé en la revisión de los expedientes electrónicos a fin de llevar a cabo la captura de datos relevantes para el estudio en cuestión. Posteriormente participé en la creación, limpieza y análisis estadístico de la base de datos. Finalmente colaboré en la redacción del escrito final y en la redacción de un artículo enviado a Targeted Oncology.

En la siguiente tabla, se encuentran desglosadas las actividades llevadas a cabo para la realización de este trabajo. Cabe señalar, que dado que el trabajo en sí tiene mayores alcances, yo no participé en todas las actividades del mismo, por lo cual en la tabla se señala con un símbolo (X) aquellas actividades dentro de las cuales colaboré durante mi maestría.

Listado de actividades		
1	Escritura del protocolo/Actualización del protocolo en ClinicalTrials.gov	x
2	Reclutamiento de los pacientes	
3	Administración del medicamento	
4	Seguimiento	Visitas para evaluar la toxicidad clínica del Afatinib
5	Evaluación de respuesta terapéutica	
		Revisión de expedientes y captura de datos
		Asistencia a curso de entrenamiento para realizar PCR
	Recolección de datos clínicos	Determinación de mutación de EGFR y KRAS con el KIT
		Determinación de HER-2
		Determinación de re-arreglos de ALK
6		Determinación de HGF
7	Elaboración, revisión y limpieza de base de datos	x
8	Análisis estadístico de los datos	x
9	Escritura de tesis	x
		Manuscrito
		Figuras y Tablas
	Escritura de artículo para publicación	Redacción de carta al editor
		Subir en línea el artículo
10		Redacción de carta de respuesta a los revisores

## Colaboración realizada en otros proyectos durante la maestría

### Descripción:

- Durante la maestría, también colaboré en el desarrollo de otros proyectos, principalmente con actividades relacionadas con la escritura de 7 artículos publicados en revistas indexadas. En la siguiente tabla se desglosan en columna los títulos de los artículos publicados y se señalan con un símbolo (x) aquellas actividades en las cuales participé para la publicación de cada uno de estos artículos (**Anexo 3**).

Artículo	Actividades		
Arrieta O, Ramírez-Tirado LA, Báez-Saldaña R, Peña-Curiel O, Soca-Chafre G, Macedo-Perez EO. Different mutation profiles and clinical characteristics among Hispanic patients with non-small cell lung cancer could explain the "Hispanic paradox" . Lung Cancer. 2015 Aug 22.	Base de Datos	Captura de datos	
		Elaboració, revisión y limpieza de base de datos	
		Análisis estadístico de la base de datos	
	Manuscrito	Introducción	x
		Métodología	x
		Resultados	x
		Discusión	x
		Subir artículo a la revista	x
		Redacción de carta de respuesta a los revisores	x
	Arrieta O, Anaya P, Morales-Oyarvide V, Ramírez-Tirado LA, Polanco AC. Cost-effectiveness analysis of EGFR mutation testing in patients with non-small cell lung cancer (NSCLC) with gefitinib or carboplatin-paclitaxel. Eur J Health Econ. 2015 Sep 4.	Protocolo	Inclusión de pacientes
Intervención-Seguimiento clínico			
Pruebas moleculares			
Base de Datos		Captura de datos	
		Elaboració, revisión y limpieza de base de datos	
		Análisis estadístico de la base de datos	
Manuscrito		Introducción	
		Métodología	
		Resultados	x
		Discusión	x
	Subir artículo a la revista	x	
	Redacción de carta de respuesta a los revisores	x	
Cruz-Rico G, Avilés-Salas A, Segura-González M, Espinosa-García AM, Ramírez-Tirado LA, Morales-Oyarvide V, Rojas-Marín C, Cardona AF, Arrieta O. Diagnosis of EML4-ALK Translocation With FISH, Immunohistochemistry, and Real-time Polymerase Chain Reaction in Patients With Non-Small Cell Lung Cancer. Am J Clin Oncol. 2015 Aug 11.	Protocolo	Inclusión de pacientes	
		Intervención-Seguimiento clínico	
		Pruebas moleculares	
	Base de Datos	Captura de datos	x
		Elaboració, revisión y limpieza de base de datos	x
		Análisis estadístico de la base de datos	x
	Manuscrito	Introducción	x
		Métodología	x
		Resultados	x
		Discusión	x
	Subir artículo a la revista	x	
	Redacción de carta de respuesta a los revisores	x	

Artículo	Actividades		
Arrieta O, De la Torre-Vallejo M, López-Macías D, Orta D, Turcott J, Macedo-Pérez EO, Sánchez-Lara K, Ramírez-Tirado LA, Baracos VE. Nutritional Status, Body Surface, and Low Lean Body Mass/Body Mass Index Are Related to Dose Reduction and Severe Gastrointestinal Toxicity Induced by Afatinib in Patients With Non-Small Cell Lung Cancer. Oncologist. 2015 Aug;20(8):967-74.	Protocolo	Inclusión de pacientes	
		Intervención-Seguimiento clínico	
		Pruebas moleculares	
	Base de Datos	Captura de datos	
		Elaboració, revisión y limpieza de base de datos	x
		Análisis estadístico de la base de datos	x
	Manuscrito	Introducción	
		Métodología	
		Resultados	x
		Discusión	x
Subir artículo a la revista			
Redacción de carta de respuesta a los revisores	x		
Arrieta O, Vega-González MT, López-Macías D, Martínez-Hernández JN, Bacon-Fonseca L, Macedo-Pérez EO, Ramírez-Tirado LA, Flores-Estrada D, de la Garza-Salazar J. Randomized, open-label trial evaluating the preventive effect of tetracycline on afatinib induced-skin toxicities in non-small cell lung cancer patients. Lung Cancer. 2015 Jun;88(3):282-8.	Protocolo	Inclusión de pacientes	
		Intervención-Seguimiento clínico	
		Pruebas moleculares	
	Base de Datos	Captura de datos	
		Elaboració, revisión y limpieza de base de datos	x
		Análisis estadístico de la base de datos	x
	Manuscrito	Introducción	
		Métodología	x
		Resultados	x
		Discusión	x
Subir artículo a la revista		x	
Redacción de carta de respuesta a los revisores	x		
Barrera L, Montes-Servín E, Barrera A, Ramírez-Tirado LA, Salinas-Parra F, Bañales-Méndez JL, Sandoval-Ríos M, Arrieta Ó. Cytokine profile determined by data-mining analysis set into clusters of non-small-cell lung cancer patients according to prognosis. Ann Oncol. 2015 Feb;26(2):428-35.	Protocolo	Inclusión de pacientes	
		Intervención-Seguimiento clínico	
		Pruebas moleculares	
	Base de Datos	Captura de datos	
		Elaboració, revisión y limpieza de base de datos	
		Análisis estadístico de la base de datos	x
	Manuscrito	Introducción	
		Métodología	x
		Resultados	x
		Discusión	x
Subir artículo a la revista		x	
Redacción de carta de respuesta a los revisores	x		
Arrieta O, Medina LA, Estrada-Lobato E, Ramírez-Tirado LA, Mendoza-García VO, de la Garza-Salazar J. High liposomal doxorubicin tumour tissue distribution, as determined by radiopharmaceutical labelling with (99m)Tc-LD, is associated with the response and survival of patients with unresectable pleural mesothelioma treated with a combination of liposomal doxorubicin and cisplatin. Cancer Chemother Pharmacol. 2014 Jul;74(1):211-5.	Protocolo	Inclusión de pacientes	
		Intervención-Seguimiento clínico	
		Pruebas moleculares	
	Base de Datos	Captura de datos	
		Elaboració, revisión y limpieza de base de datos	
		Análisis estadístico de la base de datos	
	Manuscrito	Introducción	x
		Métodología	x
		Resultados	x
		Discusión	x
Subir artículo a la revista		x	
Redacción de carta de respuesta a los revisores	x		

- Asimismo, colaboré en la redacción del protocolo: Estudio fase ii que compara nitroglicerina concurrente con radioterapia vs radioterapia sola en metástasis cerebrales, análisis de sobrevida, calidad de vida, función cognitiva y progresión tumoral (**Fondo:** S0008 **Convocatoria:** S0008-2014-1/**Solicitud:** 00000000233647) que fuer sometidos al Fondo Sectorial en CONACyT y del cual se obtuvo una respuesta favorable.

- Participé con la presentación de artículos en algunas sesiones clínicas llevadas a cabo los días lunes por la unidad de Oncología Torácica en el Instituto Nacional de Cancerología
- Participé con la presentación del protocolo de mi tesis en las sesiones básicas llevadas a cabo los días jueves por la unidad de Oncología Torácica en el Instituto Nacional de Cancerología
- Participé en congresos y cursos (**ver Anexos 1, 2**).
- Finalmente, durante el último semestre de la maestría, realicé una estancia de investigación en la universidad de Oxford, Inglaterra, con una duración de 6 meses, en Nuffield Department of Population Health a cargo del Dr. Jonathan Emberson y la MSc LouisaGnatiuc (Anexos 4 A-C).

## Anexo 2. Resumen técnico sobre la determinación de mutaciones de EGFR

## RESUMEN

Para correr el kit de EGFR se hacen 2 corridas, la primera detecta las condiciones de las muestras, estas deben cumplir que tras correr el vial control con la muestra se debe amplificar el exon 2 ( que en este caso presenta analogía con los genes constitutivos y tiene la misma función) . Este debe amplificar siempre y la ventana de seguridad queda en el intervalo de 2 a 31 ciclos, con ello aseguramos la sensibilidad y especificidad de la prueba, de lo contrario, se sacrifica la sensibilidad, y en ese caso habría que concentrar la muestra.

Al momento de centrifugar la muestra basta con 2 minutos a 1500 rpm.

CT 26.26 - 30.95.

Mastermix= 2.5 taq DNA Pol y .05 ctrol.

**Usuario= admin Clave= LightCycler480**

New experiment→herramientas→detection formats→EGFR→excitación 465 / 510 →533/610 amarillo→rojo618/660(emisión ). 533/680→ FAM. Son entonces 4 detecciones. → Close

Programa Volumén de reacción 25 Temperatura 95 grados

Tiempo 15 minutos Ciclos 40 ( cuantificación ) PCR→ 95x 30", 60 x 20" ( alineación de fluorescencia en single durante la hibridación), 72x20". En el control sólo los primeros dos filtros. Rampa para enfriar 4.4 , para calentar 2.2.

Subset → sample analysis → marcar el área cargada Nombrar= PC - NTC - 67-23-66-69-1-28-65-68-70-9 PC = control + NTC= control negativo. Tiempo esperado= 1 hora con 40".

Múltiplex 640, 670, FAM y VIC. Para her2→ forma t 4 hydrolysis.

Ct < 23= diluir la muestra. Ajustarlo- ct. qPCR

La reacción en cadena de la polimerasa 3 pasos: desnaturalización, hibridación y ampliación ( logarítmica).

Diferencias entre ct y CP ( crossing point) debe garantizarse que llegue a la meseta. De no llegar a la meseta no se tiene valor. CP es después del ct, por eso ct es mayor (1.5 veces). El análisis se determina con base en el threshold ( que por definición se ubica arriba del ruido y estandarizado por la curva).

Ct > confiable. CP < confiable, depende de la experiencia dado que el umbral de ciclos es mediada por el usuario ( experiencia, curva).

Tampoco se usa la fluorescencia como parámetro por que todos intervienen en la fluorescencia. La fluorescencia puede afectar con mayor frecuencia la CP a diferencia del ct ( por que este no necesita llegar a la meseta).

El  $\Delta\Delta Ct$  es una diferencia del gen interés menos control.

Las sondas HybProbe

Son dos oligos marcados. Están hechos que cuando ocurre la alineación al estar cerca de 4 pb ocurre FRET ( fluorescence realignment energy transfer). Entonces una fluorescencia indirecta.

El contra: costo 14 mil , pero es lo más sensible.

Sondas tac man 7 mil.

Sonda simple probe Con qué hybride cambia la fluorescencia, trae un marcaje previo, pero si se unen entre ellos puede detectarse fluorescencia sin haberla.

Molecular bacons

Las scorpions Se separa el quencher del bloqueador. Depende de que encuentre la secuencia el que se abra la sonda.Genotipificación

Análisis melting → se asocian, se despegan. Discriminación alélica separar con base en el grado de amplificación, involucra 2 sondas. Aquí se pueden usar sondas taqman. HRM → basado en el melting. Es un agente intercalante diferente del que usa el melting.

Genotipificación: para mutaciones conocidas → sondas HybProbe, de hidrólisis o no marcadas con agente intercalante saturante (HRM).

Algunos agentes son: EvrGreen, Resolite.

Genotipificación x punto final → bien aceptado, enfoque básico, ensayos predefinidos comercialmente, sin necesidad de optimización, fácil uso (mezcla todo en uno, protocolo estándar, fácil interpretación). Pero → una mutación x ensayo, no para haplotipificación, falla con mutaciones inesperadas.

Curva melting → ensayos avanzados para más flexibilidad, ensayos disponibles o diseñados x software. Abierto para optimización individual, fácil de usar. Sofisticado, si haplotipificación, robusto para nuevas mutaciones.

Un análisis melting → similar a banda amplicón. Los desnaturalizo, lo hibrido.  $T_M$  es la temperatura fusión es distinta de la temperatura de hibridación. Se observa como picos, y la wild type se diferencia xq el que no tiene mutación

Es más estable, qx necesita más energía para abrirse y la mutada, se abre a menor temperatura x ser menos estable. Pero siempre se requiere control para genotipificar, es una evaluación cualitativa.

El resultado es una fx de la eficiencia para wild-type y para la mutación y luego los integra en un gráfico de dispersión. El control negativo es el punto de origen.

Gene scanning Es recorrer el gen a pie.

Otras técnicas → dHPLC, arreglos, espectrofotometría de masa.

Diferencia los grupos.

Gen scan Primer 60 grados y primer corto, elegir zona de estudio. BLAST y primers x HPLC.

El protocolo de touchdown sirve para evitar los dímeros e implica llevar el momento de la alineación 10 grados de temperatura x arriba de lo q requiere y una rampa de 1.1 grados para enfriar y además limitar el no de primers y además el diseño del primer para evitar estructuras secundarias.

si hay dímeros el negativo amplifica.

- 2.8 a 3 para T790M 8,9 -6.71 a 4 para Del 8,9 -2.41 a .90

- 4.61 a 1.4

Hex 530 Se ajusta el umbral ( threshold) en fx del negativo.

[www.universalprobelibrary.com](http://www.universalprobelibrary.com) Assay design center Automatic select an interno signaling assay

Reacción de HRM

Gen cyp2c9 60 grados

Heterocigoto Mutado Wild- type NTC

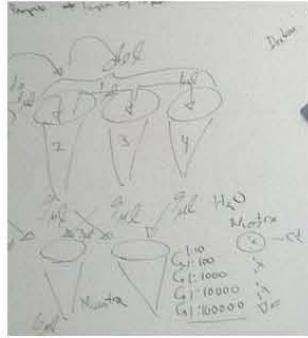
Preparar para 4.5 reacciones 2 micro litros de mg

.5 milimol 1 micro litro de los primers a 10 micro molar de concentración 2 micro litros de agua 10 Mastermix

New experiment from template → gene scanning



1) La teoría



2) Preparando el mastermix



3) Pipetear y llenar los pocillos

4) Centrifugar la placa y sellarla

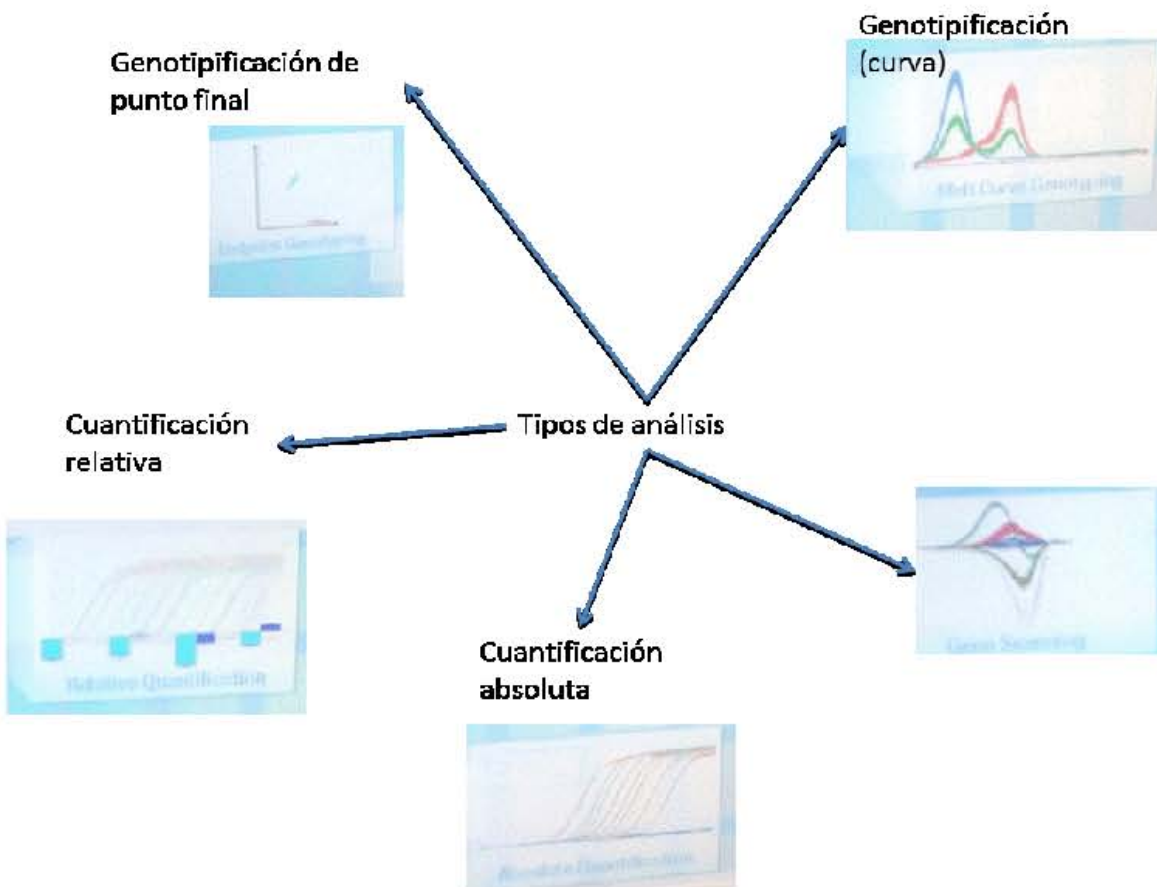
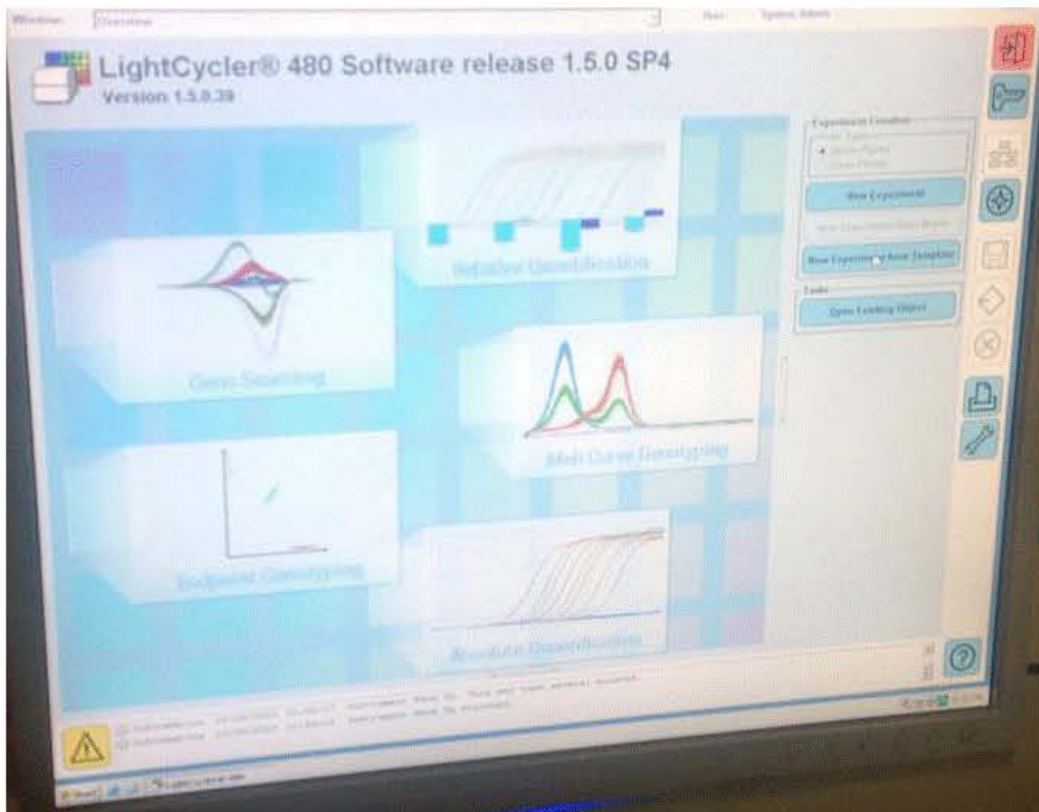


5) Encender el equipo

6) Sacar la charola y colocar la placa



# Pantalla inicial



## Anexo 3. Listado de cursos-congresos durante la maestría

## **CURSOS**

---

### No. DESCRIPCIÓN

---

- 1 Participación en el curso teórico-práctico de capacitación en el uso del instrumento LightCycler 480 II. Llevado a cabo en las instalaciones del Instituto Nacional de Cancerología los días 19 al 21 de Noviembre 2013, con un total de 30 horas.
- 2 Curso de capacitación en el manejo de residuos biológicos peligrosos. Llevado a cabo en las instalaciones del Instituto Nacional de Cancerología.
- 3 Curso de capacitación en el manejo de residuos químicos. Llevado a cabo en las instalaciones del Instituto Nacional de Cancerología.
- 4 Participación en el Curso de biología molecular y cáncer 2014. Llevado a cabo del 7 de Enero al 13 de Febrero del 2014. Llevado a cabo en las instalaciones del Instituto Nacional de Cancerología, con un total de 23 h.
- 5 Participación en le Taller: Control de calidad en citometría de flujo (Cytometric Bead Array) Llevado a cabo el 29 Abril 2014 en el centro de entrenamiento BD Biosciences, Cuautitlán, Edo. de México.

---

## **CONGRESOS**

---

- 1 Asistencia al XXI Congreso de Nacional de Inmunología : 1er. Simposio Internacional sobre Inmunidad con la Asociación Latinoamericana de Inmunología (ALAI) celebrado del 6 al 10 de Mayo de 2014, Querétaro,Qro.

## Anexo 4. Productividad científica durante la maestría

1. Arrieta O, **Ramírez-Tirado LA**, Báez-Saldaña R, Peña-Curiel O, Soca-Chafre G, Macedo-Pérez EO Randomized, open-label trial evaluating the preventive effect of tetracycline on afatinib induced-skin toxicities in non-small cell lung cancer patients. *Lung Cancer*. 2015.
2. Cruz-Rico G, Avilés-Salas A, Segura-González M, Espinosa-García AM, **Ramírez-Tirado LA**, Morales-Oyarvide V, Rojas-Marín C, Cardona AF, Arrieta O. Diagnosis of EML4-ALK Translocation With FISH, Immunohistochemistry, and Real-time Polymerase Chain Reaction in Patients With Non-Small Cell Lung Cancer. *Am J Clin Oncol*. 2015 Aug 11.
3. Arrieta O, De la Torre-Vallejo M, López-Macías D, Orta D, Turcott J, Macedo-Pérez EO, Sánchez-Lara K, **Ramírez-Tirado LA**, Baracos VE. Nutritional Status, Body Surface, and Low Lean Body Mass/Body Mass Index Are Related to Dose Reduction and Severe Gastrointestinal Toxicity Induced by Afatinib in Patients With Non-Small Cell Lung Cancer. *Oncologist*. 2015 Aug;20(8):967-74. doi: 10.1634/theoncologist.2015-0058.
4. Arrieta O, Vega-González MT, López-Macías D, Martínez-Hernández JN, Bacon-Fonseca L, Macedo-Pérez EO, **Ramírez-Tirado LA**, Flores-Estrada D, de la Garza-Salazar J. Randomized, open-label trial evaluating the preventive effect of tetracycline on afatinib induced-skin toxicities in non-small cell lung cancer patients. *Lung Cancer*. 2015 Jun;88(3):282-8. doi: 10.1016/j.lungcan.2015.03.019.
5. Barrera L, Montes-Servín E, Barrera A, **Ramírez-Tirado LA**, Salinas-Parra F, Bañales-Méndez JL, Sandoval-Ríos M, Arrieta Ó. Cytokine profile determined by data-mining analysis set into clusters of non-small-cell lung cancer patients according to prognosis. *Ann Oncol*. 2015 Feb;26(2):428-35. doi: 10.1093/annonc/mdu549.
6. **Ramírez-Tirado LA**, Tirado-Gómez LL, López-Cervantes M. [Inequality in primary care interventions in maternal and child health care in Mexico]. *Rev Panam Salud Publica*. 2014 Apr;35(4):235-41.
7. Arrieta O, Medina LA, Estrada-Lobato E, **Ramírez-Tirado LA**, Mendoza-García VO, de la Garza-Salazar J. High liposomal doxorubicin tumour tissue distribution, as determined by radiopharmaceutical labelling with (99m)Tc-LD, is associated with the response and survival of patients with unresectable pleural mesothelioma treated with a combination of liposomal doxorubicin and cisplatin. *Cancer Chemother Pharmacol*. 2014 Jul;74(1):211-5. doi: 10.1007/s00280-014-2477-x.

## Anexo 5a. Constancia de asistencia como alumna de la Universidad de Oxford

ACADEMIC RECORDS OFFICE, STUDENT ADMINISTRATION,  
UNIVERSITY OF OXFORD

Examination Schools, High Street, Oxford, OX1 4BG  
aro@admin.ox.ac.uk



To whom it may concern

### **CONFIRMATION OF REGISTRATION AND STUDENT STATUS**

This document certifies the following information about the student's current status at the University of Oxford, as at 23 April 2015:

The student below is registered for the academic year 2014/15

College: No College

#### **Student details**

Student number:	856031	Title:	Miss
Surname:	Ramirez Tirado	First names(s):	Laura Alejandra
Date of Birth:	18 August 1987		

#### **Address details**

Term time address:	Home address:
7 Holley Crescent	Av. Taxquena 1818 J-33
Headington	Taxquena
Oxford	Coyoacan
OX3 8AW	Mexico City
	04280

#### **Programme of study details**

Programme title:	Recognised Student Programme - Public Health
Programme type:	Visiting, Recognised, Other
Type of attendance:	Full Time



## Anexo 5b. Reporte técnico de la estancia de investigación en la Universidad de Oxford



Programa de  
**MAESTRÍA y  
DOCTORADO** en  
Ciencias Médicas  
Odontológicas  
y de la Salud



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO (UNAM)**

**PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS MÉDICAS, ODONTOLÓGICAS Y DE LA SALUD (PMDCOS)**

---

**REPORT OF THE ACTIVITIES DURING THE RESEARCH STAY**

FIELD OF KNOWLEDGE: **HEALTH SCIENCES**

LEVEL: **MASTER**

DISCIPLINARY FIELD: **EPIDEMIOLOGY**

SEMESTER(s) ENTRY / EXIT: **2013-2/2015-1**

NAME: **LAURA ALEJANDRA RAMIREZ TIRADO**

ACCOUNT NUMBER: **30470235-8**

---

HOME TUTOR:

**ÓSCAR GERARDO ARRIETA RODRÍGUEZ**

HEAD OF THE DISCIPLINARY FIELD:

**MALAQUÍAS LÓPEZ CERVANTES**

ACADEMIC INSTITUTIONS:

**INSTITUTO NACIONAL DE CANCEROLOGÍA (INCan)  
FACULTAD DE MEDICINA (UNAM)**

PROJECT TITLE:

**CLINICAL AND MOLECULAR FACTORS ASSOCIATED TO THE THERAPEUTIC RESPONSE TO AN  
IRREVERSIBLE TYROSINE-KINASE INHIBITOR IN PATIENTS WITH NON-SMALL-CELL LUNG  
CANCER**

---

EXTERNAL TUTOR(S):

**LOUISA GNATIUC  
JONATHAN EMBERSON**

ACADEMIC INSTITUTION:

**OXFORD UNIVERSITY**

DEPARTMENT:

**NUFFIELD DEPARTMENT OF POPULATION HEALTH**

PERIOD:

**MARCH -MAY 2015**

PROJECT TITLE:

**MEXICO CITY PROSPECTIVE STUDY**

---

22 May 2015

## REPORT ON ACTIVITIES DURING THE RESEARCH STAY

### MEXICO CITY PROSPECTIVE STUDY"

#### INTRODUCTION

#### THE PROJECT

The "*Mexico City Prospective Study*" refers to the largest blood-based-cohort study in Latin America, it is carried out by Ministry of Health in Mexico in collaboration with the University of Oxford in England. The cohort includes 150,000 Mexican adults (50,000 men and 100,000 women) with an age of at least 35 years. During the first survey, which took place between 1998 and 2004, the information of all participants regarding to their a) socio-demographic characteristics, b) life-style, c) risk behaviour and d) self-reported health status was collected. In addition, anthropometric measurements and a venous blood sample of each participant were collected. The study aims to assess the risk factors known as well as possible new risk factors associated with the leading causes of death in Mexico.

#### MY COLLABORATION

As part of the research stay in the "*Nuffield Department of Population Health (NDPH)*" at Oxford University, I joined to the Mexico City Prospective Study team. My participation was the study of tobacco smoking and its association with the health-status among adults in Mexico City. To do this, I have taken a sequence of activities that I list and detailed in the following sections. Remarkably, all these activities were carried out under a weekly or bi-weekly coaching, one to one with my mentors, who have collaborated to my growth in a continuous and integral way.

#### LITERATURE REVIEW AND SYNTHESIS

As an initial step, I conducted a literature review of key papers regarding the project and its scope as well as to document how it has been conducted the assessment of the effects of tobacco smoking on the health of other population studies and in other times( **Annex 1** ).

#### RESEARCH QUESTION(s)

As a next step, I received the synthesis of the database to know the available information and the details of it. This allowed me to relate the main goal with the drafting of the research questions of interest to me as well as evaluating the feasibility to address each of these questions based on the information available (**Annex 2** ).

#### DATA ANALYSIS

*STATA course of self-directed online*

Later, I conducted an online self-directed course to review and consolidate my knowledge for data analysis with STATA (**Annex 3**). After finishing the course, I get a clearer idea of the objectives and the analysis to be performed with STATA. Subsequently, for the analysis of the data itself, I have carried out different activities:

- a) The creation of my database and my variables (**Annex 4**)
- b) The description of the data
- c) Acquired new skills for data analysis and learn how to perform the documentation of a research project by:
  - a. Performing a research documentation of an statistical analysis (**Appendix 5**)
  - b. Using new statistical packages for the generation of high quality graphics:
    - i. R
    - ii. Jasper (local statistical package, extension R) (**Annex 6**)

Achieved by:

One to one training during office hours with my mentor and other professionals who work at the *NDPH*

At home training employing the Oxford University WebLearn resources

- c. Deepening the knowledge and data management using STATA for:

The systematic generation of high-quality tables (**Annex7**)

The estimation of standardized values

Graph standardized estimates

Export data in different formats

d) Summarize of the data analysis performed

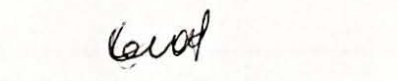
- ✓ Description of the baseline characteristics of the overall population
- ✓ Description of the baseline characteristics by gender and tobacco-smoking exposure (never, passive, former, current smokers)
- ✓ Estimate and plot the age-sex specific prevalence of tobacco-smoking exposure (never, passive, former, current smokers)
- ✓ Estimate the age-sex adjusted prevalence of tobacco-smoking exposure (never, passive, former, current smokers) by average monthly income and by years of education
- ✓ Estimate and plot the sex-specific prevalence of tobacco-smoking exposure (never, passive, former, current smokers) stratified on age by average monthly income and by years of education
- ✓ Estimate and plot the average age of onset regular tobacco smoking among different exposure levels to tobacco among current and former smokers by gender and birth decade
- ✓ Estimate and plot the tobacco consumption (measured as pack/years) among current smokers by gender and birth decade
- ✓ Estimate and plot the sex-specific prevalence of selected chronic diseases (diabetes mellitus, chronic respiratory disease, cardiovascular disease, renal disease, liver disease and cancer) stratified on age by tobacco smoking exposure (never, passive, former, current)
- ✓ Estimate and plot the sex-specific prevalence of selected chronic diseases (diabetes mellitus, chronic respiratory disease, cardiovascular disease, renal disease, liver disease and cancer) stratified on age by tobacco consumption (pack/years) among current smokers
- ✓ Estimate and plot the sex-specific prevalence of current smokers by the number of beverages of alcohol drank per occasion

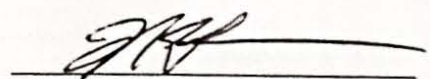
**RESEARCH ASSISTANCE**

Furthermore, as part of the re- survey to be carried out within the “Mexico City Prospective Study”, I helped in the translation from English to Spanish of manuals for the blood-sample collection and of the performance of spirometer measurements (Annex 8) which will be used in the fieldwork during the re- survey of the participants.

CONFERENCES ATTENDED		
Date	Expositor	Title
Tuesday 5 May	Professor Cathie Sudlow	Richard Doll Seminar – <i>UK Biobank: an update on the challenges and opportunities</i>
Tuesday 19 May	Lian Smeeth	Richard Doll Seminar – <i>Getting the best of medical health records</i>

  
 LAURA A. RAMIREZ TIRADO  
 Student

  
 LOUISA GNATIUC  
 External Tutor

  
 JONATHAN EMBERSON  
 External Tutor

## Anexo 5c. Reporte de evaluación emitido por la Universidad de Oxford

**GSS Report for  
Alejandra Ramirez Tirado  
for TT 2014/2015  
2014-2015**

User Name	User Type	Event Date	Event
Miss Alejandra Ramirez Tirado	Student	11-JUN-2015	Report Submitted
Miss Louisa Gnatiuc	Supervisor	28-JUN-2015	Report Submitted
Professor Sasha Shepperd	DGS		

**Self-assessment report for Alejandra Ramirez Tirado**

**Programme of Study:** VR\_PU1 - Recognised Student - Public Health

**How many times have you met with Miss Louisa Gnatiuc since your last report?** 13-20

**Has the Student raised any concerns about the progress of their course over the last reporting period?** No

Trinity Term : Self-assessment overall progress The "Mexico City Prospective Study" is the largest blood-based-cohort study in Latin America carried out by Ministry of Health in Mexico in collaboration with the "Nuffield Department of Population Health (NDPH)" at the University of Oxford who aim to assess the risk factors associated with the leading causes of death in Mexico. I am collaborating within this project by studying tobacco smoking & health-status among adults in Mexico City. For this purpose, I conducted different activities under a weekly or bi-weekly coaching, one to one with my mentor & with other professionals at the NDPH, collaborating to my growth in a continuous and integral way. First, I conducted a literature review of key papers regarding the project, its scope & the assessment of the effects of tobacco smoking on the health of other population studies. Then, I was given the synthesis of the database in order to relate the main goal with the drafting of the research questions of interest to me. Later, I conducted an online self-directed course to review and consolidate my knowledge for data analysis with STATA. Then, for the data analysis, I create & describe my database. Additionally, I acquired new skills for documenting & reporting my findings, performing the documentation of my research, using new statistical packages for the generation of high quality graphics (e.g. R & Jasper local-developed extension of R) & learning new commands for data management using STATA. The skills above were acquired by: # One to one training with my mentor and other professionals at the NDPH # Attending to workshops at NDPH(e.g.R2.Flexible high-quality plotting in observational studies: Using Jasper to create high quality plots, conducted by Matt Arnold on 27 May 2015) # At home training employing WebLearn resources such as: R-an Introduction, & STATA-Statistical data management # Self-conducted practices for estimating & plotting standardized values & for generating-exporting high-quality tables from STATA into different formats (e.g. excel, word) in a systematic way. Summarize of the data analysis performed # Description of the baseline characteristics of the overall population by gender and tobacco-smoking exposure (never, passive, former, current smokers) # Estimate and plot the age-sex specific prevalence of tobacco-smoking exposure # Estimate and plot the sex-specific prevalence of tobacco-smoking exposure stratified on age by average monthly income and by years of education # Estimate and plot the average age of onset regular tobacco smoking among different exposure levels to tobacco among current and former smokers by gender and birth decade # Estimate and plot the tobacco consumption (measured as pack/years) among current smokers by gender and birth decade # Estimate and plot the sex-specific prevalence of selected chronic diseases (diabetes mellitus, chronic respiratory disease, cardiovascular disease, renal disease, liver disease and cancer) stratified on age by tobacco smoking exposure and by tobacco consumption (pack/years) among current smokers # Estimate and plot the sex-specific prevalence of current smokers by intensity of alcohol consumption As part of the re-survey to be carried out within the project, I also helped

in the translation from English to Spanish of manuals for the blood-sample collection and of the performance of spirometer measurements which will be used in the fieldwork during the re-survey of the participants. CONFERENCES ATTENDED 5 May- Professor Cathie Sudlow UK Biobank: an update on the challenges & opportunities 19 May- Lian Smeeth: Getting the best of medical health records

**Training Attended:**

I acquired new skills for documenting & reporting my findings : -Learn new ways for approaching to the study of health on population studies -Learn to perform the documentation of a research -Learn how to generate systematic high quality publication tables from STATA -Learn new post-estimation commands for data analysis -Use new statistical packages for high quality plotting (These packages were R & Jasper) -Learn to use Bodleian Libraries and were acquired by: -One to one training with my mentor and other professionals at the NDPH -Attending to workshops at NDPH (e.g.R2.Flexible high-quality plotting in observational studies: Using Jasper to create high quality plots, conducted by Matt Arnold on 27 May 2015) -Attending online self-directed courses of Stata data analysis at NDPH -Attending to Richard Doll Seminars - At home training employing WebLearn resources such as: R-an Introduction, & STATA-Statistical data management -At home training employing Bodleian-Skills Web Resources

**Training Required:**

I would like to consolidate and deep my knowledge in the following areas: -Plotting with Jasper - Writing skills -Systematic literature reviews & meta-analysis And I would like to attend /continue attending to: -Richard Doll Seminars -Tought writing skills courses -Courses regarding the management of R and Stata

**Supervisor Reports**

**Miss Louisa Gnatiuc**

Concerns Raised: No

No of meetings with student since last report: 13-20

Alejandra is a visiting student working on the Mexico City Prospective Study, looking at tobacco and health. Her stay with us is a research placement, aiming at gaining research skills and experience with an Oxford based academic group. Alejandra has demonstrated outstanding determination and commitment in learning internal statistical methods and packages and she has successfully applied these to her research project. Her progress was good and according to plan. Alejandra demonstrated excellent capacity for studying and working independently, and has developed critical and epidemiological thinking that will serve her to undertaking a post-graduate degree, shall she decide to do so. Alejandra also assisted other students in the group with learning graphic skills, a remarkable proof of her mastering what she has learnt.

**Training Attended (completed by Miss Louisa Gnatiuc):**

Academic Writing (week 22nd-26th of June 2015)

**Training Required (completed by Miss Louisa Gnatiuc):**

in-house one-to-one training on how to estimate floated absolute risks using Cox proportional hazards will be provided

**DGS Comments**

**Professor Sasha Shepperd**

Professor Sasha Shepperd has not submitted any comments.

## Anexo 6.Historia académica





Universidad Nacional Autónoma de México

Secretaría General

Dirección General de Administración Escolar  
Subdirección de Asuntos Escolares del Posgrado



HISTORIA ACADÉMICA

Nombre del Alumno **RAMIREZ TIRADO LAURA ALEJANDRA** Clave **12 - 4096 -**  
 Número de Cuenta **304702358**  
 Posgrado **MAESTRIA EN CIENCIAS DE LA SALUD**

Periodo	Plantel	Asignatura	Nombre Asignatura	Grupo	Calif.	No. Folio
2014-1	12	67161	SEMINARIO DE INVESTIGACION I	MD05	9	123878824
2014-1	12	67168	BIOESTADISTICA BASICA	CS33	8	123878837
2014-1	12	67181	METODOS EPIDEMIOLOGICOS I	CS22	10	123878846
2014-1	12	67206	COLOQUIO DE INVESTIGACION I	CD01	AC	123878856
2014-1	12	67209	TRABAJO DE INVESTIGACION I	LD06	10	123878868
2014-1	12	67213	GENESIS Y FUNDAMENTO DEL PENSAMIENTO EPIDEMIOLOGICO	CS27	8	123878910
2014-1	12	67222	MODELOS NO LINEALES Y LONGITUDINALES	SP27	8	123878912
2014-1	12	67243	METODOLOGIA DE LA INVESTIGACION	SM13	10	123878925
2014-2	12	67162	SEMINARIO DE INVESTIGACION II	MD02	9	123892421
2014-2	12	67165	DOCENCIA EN CIENCIAS DE LA SALUD	CS03	10	123892431
2014-2	12	67207	COLOQUIO DE INVESTIGACION II	CD02	AC	123892447
2014-2	12	67210	TRABAJO DE INVESTIGACION II	LD02	10	123892452
2014-2	12	67215	MODELOS LINEALES	CS29	9	123892498
2014-2	12	67220	EPIDEMIOLOGIA APLICADA	SP25	9	123892501
2014-2	12	67252	GERENCIA DE PROGRAMAS Y SERVICIOS DE SALUD	MP05	10	123892515
2014-2	12	67270	INTRODUCCION A POLITICAS DE SALUD	SM24	10	123892553
2014-2	12	67823	PREPARACION Y REDACCION DE PRESENTACIONES Y PUBLICACIONES CIENTIFICAS	VS01	9	123892610
2015-1	12	67163	SEMINARIO DE INVESTIGACION III	MD03	9	123906636
2015-1	12	67188	ANALISIS DE SOBREVIDA	SP03	8	123906658
2015-1	12	67208	COLOQUIO DE INVESTIGACION III	CD03	AC	123906670
2015-1	12	67211	TRABAJO DE INVESTIGACION III	LD02	10	123906704
2015-2	12	67164	SEMINARIO DE INVESTIGACION IV	MD04	9	123927978
2015-2	12	67212	TRABAJO DE INVESTIGACION IV	LD02	10	123928035