



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE  
MÉXICO  
FACULTAD DE MEDICINA  
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO**

**HOSPITAL DE ONCOLOGIA CENTRO MEDICO  
NACIONAL SIGLO XXI**

**CARACTERIZACION MOLECULAR Y RESULTADOS DEL  
TRATAMIENTO DE PACIENTE CON DIAGNOSTICO DE  
ADENOCARCINOMA PULMONAR ETAPA IV EN DOS  
HOSPITALES DE REFERENCIA EN MÉXICO: ESTUDIO DE  
COHORTE RETROSPECTIVA**

**TESIS**

QUE PARA OBTENER EL:  
**GRADO DE ESPECIALISTA EN ONCOLOGIA MEDICA**

PRESENTA:  
**EDUARDO SANCHEZ ROMAN**  
HOSPITAL DE ONCOLOGIA CENTRO MEDICO NACIONAL SIGLO XXI  
INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL

INVESTIGADOR RESPONSABLE  
DR. RAÚL ROGELIO TREJO ROSALES.  
HOSPITAL DE ONCOLOGIA CENTRO MEDICO NACIONAL SIGLO  
XXI  
INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL

CIUDAD DE MÉXICO, 14 DE SEPTIEMBRE DEL 2022





Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**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.

### **Investigador principal de Centro Médico Nacional Siglo XXI**

Dr. Raúl Rogelio Trejo Rosales (investigador responsable). Médico internista, Oncólogo médico y Neumólogo Oncólogo. Investigador asociado B. Médico adscrito de Oncología Médica. Hospital de Oncología. Centro Médico Nacional Siglo XXI. Instituto Mexicano del Seguro Social.

### **Investigadores asociados de Centro Médico Nacional Siglo XXI**

Dr. Odilón Félix Quijano Castro (investigador asociado). Jefe de Enseñanza. Hospital de Oncología. Centro Médico Nacional Siglo XXI.

Dr. Samuel Rivera Rivera (investigador asociado). Jefe de servicio de Oncología Médica. Hospital de Oncología. Centro Médico Nacional Siglo XXI.

Dra. Celene Maritza Peña Campos (investigador asociado). Médico adscrito de Radiología. Hospital de Oncología. Centro Médico Nacional Siglo XXI.

Dr. Jazmin de Anda (investigador asociado). Médico adscrito de Patología. Hospital de Oncología. Centro Médico Nacional Siglo XXI.

Dr. Eduardo Sánchez Román (investigador asociado). Médico residente de primer año. Hospital de Oncología. Centro Médico Nacional Siglo XXI.

### **Investigadores del Instituto Nacional de Cancerología**

Dr. Oscar Gerardo Arrieta Rodríguez (investigador asociado). Jefe de la Unidad de Oncología Torácica. Instituto Nacional de Cancerología.

### **Versión 1.1**

#### **Sitio donde se realizará la investigación en el IMSS.**

**Unidad Médica de Alta Especialidad, Hospital de Oncología** del Centro Médico Nacional Siglo XXI, Instituto Mexicano del Seguro Social.

Avenida Cuauhtémoc 330, Colonia Doctores, C.P. 06720 Del. Cuauhtémoc, Distrito Federal. Teléfono (55) 56 27 69 00 extensiones 22784

## **UBICACIÓN Y CONTACTO DE COLABORADORES EN EL HOSPITAL DE ONCOLOGÍA, CENTRO MÉDICO NACIONAL SIGLO XXI**

- Raúl Rogelio Trejo Rosales. Subdirección médica, Hospital de Oncología, Centro Médico Nacional Siglo XXI. Contacto: 56276900 ext 22784. Correo electrónico: [rexiboro@gmail.com](mailto:rexiboro@gmail.com) (Investigador principal)
- Samuel Rivera Rivera. Hospital de Oncología, Centro Médico Nacional Siglo XXI. Contacto: 56276900 ext 22784. Correo electrónico: [samuelri13@yahoo.com](mailto:samuelri13@yahoo.com). (Investigador asociado).
- Dr Odilón Félix Quijano Castro. Hospital de Oncología, Centro Médico Nacional Siglo XXI. Contacto: 56276900 ext 22784. Correo electrónico: [felix.quijano5@gmail.com](mailto:felix.quijano5@gmail.com)
- Dra Jazmin de Anda. Hospital de Oncología, Centro Médico Nacional Siglo XXI. Contacto: 56276900 ext 22784. Correo electrónico: [fa\\_candanedo@yahoo.com.mx](mailto:fa_candanedo@yahoo.com.mx)
- Dra Celene Maritza Campos. Hospital de Oncología, Centro Médico Nacional Siglo XXI. Contacto: 56276900 ext 22784. Correo electrónico: [maritza\\_pcampos@outlook.com](mailto:maritza_pcampos@outlook.com).
- Dr Eduardo Sánchez Román. Hospital de Oncología. Centro Médico Nacional Siglo XXI. Contacto: 56276900 ext 22784. Correo electrónico: [1eduar.san@gmail.com](mailto:1eduar.san@gmail.com).

Dirección: Hospital de Oncología, Centro Médico Nacional Siglo XXI. Avenida Cuauhtémoc 330, Colonia Doctores, CP 06720. Delegación Cuauhtémoc, Distrito Federal. Teléfono (55) 56 27 69 00 extensiones 22784

## **Ubicación y contacto de colaboradores en el Instituto Nacional de Cancerología**

- Oscar Gerardo Arrieta Rodríguez. Jefe de la Unidad de Oncología Torácica. Correo electrónico: [oscararrietaincan@gmail.com](mailto:oscararrietaincan@gmail.com). (Investigador asociado)

Dirección Instituto Nacional de Cancerología. Avenida San Fernando 22, Belisario Domínguez Secc 16, 14080 Ciudad de México, Ciudad de México

## **RESUMEN ESTRUCTURADO**

**Caracterización molecular y resultados del tratamiento de paciente con diagnóstico de Adenocarcinoma pulmonar etapa IV en dos Hospitales de referencia en México: Estudio de cohorte retrospectiva.**

### **Investigador principal de Centro Médico Nacional Siglo XXI**

Dr. Raúl Rogelio Trejo Rosales (investigador responsable). Médico internista, Oncólogo médico y Neumólogo Oncólogo. Investigador asociado B. Médico adscrito de Oncología Médica. Hospital de Oncología. Centro Médico Nacional Siglo XXI. Instituto Mexicano del Seguro Social.

### **Investigadores asociados de Centro Médico Nacional Siglo XXI**

Dr Odilón Félix Quijano Castro (investigador asociado). Jefe de Enseñanza. Hospital de Oncología. Centro Médico Nacional Siglo XXI.

Dr Samuel Rivera Rivera (investigador asociado). Jefe de servicio de Oncología Médica. Hospital de Oncología. Centro Médico Nacional Siglo XXI.

Dra Celene Maritza Peña Campos (investigador asociado). Médico adscrito de Radiología. Hospital de Oncología. Centro Médico Nacional Siglo XXI.

Dr Jazmin de Anda (investigador asociado). Médico adscrito de Patología. Hospital de Oncología. Centro Médico Nacional Siglo XXI.

Dr Eduardo Sánchez Román (investigador asociado). Médico residente de primer año. Hospital de Oncología. Centro Médico Nacional Siglo XXI.

### **Investigadores del Instituto Nacional de Cancerología**

Dr. Oscar Gerardo Arrieta Rodríguez (investigador asociado). Jefe de la Unidad de Oncología Torácica. Instituto Nacional de Cancerología.

Número de centros participantes a nivel nacional: 2

Número de centros participantes a nivel internacional: 0

Número de centros participantes del IMSS: 1

### **ANTECEDENTES.**

El cáncer de pulmón (CP) es la neoplasia que ocasiona más muertes por cáncer en hombres y mujeres en cualquier grupo étnico alrededor del mundo. Clásicamente se ha descrito al cáncer pulmonar en base a las características morfológicas (células de aspecto glandular) y de inmunohistoquímica. Así, los grandes grupos histológicos incluyen el adenocarcinoma pulmonar, el carcinoma de células pequeñas, el carcinoma epidermoide y el carcinoma de células grandes. En las últimas décadas la genética tumoral ha permitido la reclasificación de CP, con base en mutaciones *key driver* específicas. Esto ha ampliado el panorama respecto al entendimiento del adenocarcinoma pulmonar y al abanico de posibilidades de tratamiento. La clasificación basada en la genética molecular ha probado en algunos estudios en CP elegir tratamientos dirigidos a blancos moleculares terapéuticos. En algunos casos esto se ha traducido en mejores tasas de respuesta y de supervivencia libre de progresión y supervivencia global. El desarrollo de la terapia blanco (TB) tiene como premisa que el CP es una enfermedad heterogénea, subcategorizada por mutaciones driver que predicen respuesta a TB. Las mutaciones más importantes por su frecuencia y por la disponibilidad de fármacos contra ellas son del Receptor del Factor de crecimiento epidermoide (EGFR) y de la Cinasa de linfoma anaplásico (ALK).

### **OBJETIVO PRIMARIO**

Determinar la frecuencia de mutación de EGFR y ALK en pacientes con cáncer de pulmón de células no pequeña de tipo adenocarcinoma metastásico (etapa IV) atendidos en Centro Médico Nacional Siglo XXI y en el Instituto Nacional de Cancerología en el periodo 2013 a 2018.

## MATERIAL Y MÉTODOS

Se trata de un estudio retrospectivo para medir la frecuencia de mutación de EGFR y ALK en CPCNP de tipo adenocarcinoma metastásico (etapa IV), además de los resultados del tratamiento con respecto a sobrevida global y supervivencia libre de progresión.

*Lugar donde se realizará el estudio.* El estudio se realizará en el Servicio de Oncología Médica, en el Hospital de Oncología, Centro Médico Nacional Siglo XXI, del Instituto Mexicano del Seguro Social, México. Además se incluirán pacientes del Instituto Nacional de Cancerología.

*Cálculo del tamaño de muestra.* Para el cálculo de tamaño de muestra se utilizó el programa Epiinfo versión 7, considerando una prevalencia de mutaciones en el gen EGFR del 35 %, un nivel de confianza del 90 % y un margen de error esperado del 5 % de acuerdo con el estudio de realizado en el Instituto Nacional de Cancerología por O Arrieta y colaboradores por lo que se requiere de un total de 246 pacientes.

### **CRITERIOS DE INCLUSIÓN, EXCLUSIÓN Y ELIMINACIÓN.**

**Criterios de inclusión.** Para ser incluidos en este estudio, los individuos con cáncer pulmonar metastásico de reciente diagnóstico que cumpla con los siguientes criterios al momento del enrolamiento:

1. Pacientes de 18 años de edad o mayores
2. Pacientes de ambos sexos
3. Cáncer de pulmón de células no pequeñas (NSCLC) confirmado histológicamente o citológicamente:
4. Enfermedad metastásica en estadio IV
5. Subtipo histológico de NSCLC de tipo adenocarcinoma
6. Pacientes asignados por el médico tratante a cualquier terapia (es decir, quimioterapia, agentes dirigidos, inmunoterapia) o cuidados paliativos.
7. Material suficiente para la determinación de las características moleculares de acuerdo con criterios establecidos por el equipo utilizado (Rotor gene Q QIAGEN en caso de mutaciones EGFR y VENTANA ALK (D5F3) CDx Assay en el caso de mutaciones ALK)

**Criterios de exclusión** 1.- Pacientes sin confirmación histológica de cáncer pulmonar. 2.- Pacientes con cáncer pulmonar de células pequeñas. 4.- Pacientes con un segundo primario

**Criterios de eliminación.** El estudio no tiene criterios de eliminación.

### **Descripción general del estudio**

Se trata de un estudio de cohorte retrospectiva en el cual se solicitará la revisión y aprobación del estudio por el Comité Nacional de Investigación por parte de los investigadores del IMSS. Nuestra institución es un centro de tercer nivel que realiza el diagnóstico de cáncer pulmonar. Esto es, a través de biopsia, estudio de tomografía computarizada y clasificación molecular. Se recolectará información sobre todos los pacientes, incluyendo las características demográficas, socioeconómicas, la historia médica/oncológica, la información clínica, los métodos de diagnóstico y los detalles patológicos. Se registran fechas de cirugía de cáncer de pulmón, fecha de diagnóstico histológico, fecha de inicio de tratamiento sistémico así como los tratamientos sistémicos utilizados (quimioterapia, terapia blanco e inmunoterapia).

**Análisis estadístico.** Las medidas de centro y dispersión (por ejemplo, media, mediana, desviación estándar y amplitud de percentil) se informarán para las variables continuas, y para las variables categóricas se informarán los resúmenes tabulados. Cuando las pruebas estadísticas son apropiadas, las variables continuas se compararán utilizando pruebas de T de Student, Wilcoxon, ANOVA o Kruskal-Wallis, según corresponda para la distribución de la variable y el número de grupos considerados. De manera similar, las variables categóricas se compararán usando la prueba de Chi-cuadrado o la prueba de Fisher.

**ASPECTOS ÉTICOS.** Se trata de un estudio riesgo mínimo. La información recabada estará resguardada por el Dr Rogelio Trejo Rosales. En ningún momento se divulgará el nombre de los pacientes. Sólo el equipo de investigación tendrá acceso a la información clínica y de patología así como a los resultados del estudio. Toda la información será tratada con la confidencialidad necesaria de acuerdo a los principios de bioética vigentes consignados en



la Ley General de Salud y la Declaración de Helsinki.

## **RECURSOS E INFRAESTRUCTURA**

El estudio se llevará a cabo en el área de Oncología Médica. Se solicitarán las laminillas de revisión y/o bloques de parafina para el análisis al departamento de patología. para procesamiento de muestras se solicitara financiamiento a través de las convocatorias correspondientes del Instituto Mexicano del Seguro social. El análisis de resultados se realizará en el departamento de Oncología Médica.

**El análisis molecular se realizará utilizando el equipo propio la institución. El uso del equipo no tendrá costo alguno para la institución.**

El Centro Médico Nacional Siglo XXI es un centro de referencia nacional para la atención de pacientes con cáncer pulmonar. Se atienden en promedio 4 casos nuevos de cáncer pulmonar por semana, esto es, más de 200 casos anuales con éste diagnóstico. Como se describe más adelante, el cáncer pulmonar es una de las neoplasias más comunes en nuestro país.

El Hospital de Oncología Centro Médico Siglo XXI cuenta con los siguientes recursos:

- 1.- Consultorios
- 2.- Área de toma de muestras y laboratorio clínico
- 3.- Área de diagnóstico anatomopatológico.
- 4.- Área de diagnóstico imagenológico. Incluye
  - a) un equipo para tomografía axial computarizada
  - b) un equipo para resonancia magnética
  - c) 3 equipos para ultrasonografía
  - d) un equipo para diagnóstico por medicina nuclear
  - e) 5 equipos para el diagnostico por rayos X
5. Área para la realización de broncoscopía.

6.- Área para la preparación, administración y vigilancia de reacciones adversas de quimioterapia

7.- Área de radioterapia y radiocirugía.

a) 5 aceleración lineales

b) 1 Cyberknife

Resultados. Se realizó el análisis de un total de 1243 pacientes en los que el antecedente de tabaquismo fue positivo en un 47.7% (n= 665) con índice tabáquico medio de 14.5 paquetes/año (0.1 a 100 paquetes/año). Determinamos el antecedente a exposición de humo de leña siendo positivo en el 22.1% (n= 275) de los pacientes con un índice de exposición variable (2 a 700 horas/año). El adenocarcinoma fue la histología más frecuente en 81.7 % de los casos (n=1015). La etapa clínica al momento del diagnóstico correspondió en un 89.3% de los pacientes a EC IV (n=1110).

El estatus de EGFR, ALK y KRAS fue determinado en el grupo de pacientes con Adenocarcinoma. El estatus para EGFR, ALK, KRAS fue positivo en 18.7%, 2% y 0.1%. El 52.8% de los casos en los que se estudió PD-L1 fue positivo. La expresión mayor al 50 % estuvo presente en 51.06 % (24 casos). La presencia de mutación EGFR fue mayoritariamente en pacientes mujeres (23.8% vs 14% OR 1.9 IC95% 1.39 – 2.61 p<0.0001), en pacientes con tabaquismo negativo (23.8% vs 14% OR 1.69 IC 95% 1.31 – 2.2 p<0.001) y en aquellos con exposición a humo de leña (19.1% vs 11.1% OR de 1.89 IC 95% 1.25 - 2.58 p=0.004). El tratamiento que recibieron los pacientes con Quimioterapia en 63% (n=784), terapia blanco molecular con TKI anti EGFR 8.05% (n=105), terapia contra PDL1 en 1.7% (n=22), mejores cuidados de soporte en 17.9% (n=223), sin diferencias significativas en SLP y SG.

Conclusiones.

Encontramos asociación al desarrollo de adenocarcinoma pulmonar con tabaquismo, humo de leña. Además con respecto al perfil mutacional, se demuestra un porcentaje de expresión menor EGFR. Además, obtenemos información importante sobre factores de riesgo, corroborando mayor expresión en mujeres, la ausencia de tabaquismo en pacientes con mutación y la relación positiva entre exposición a humo de leña y el gen mutado. No se

encontraron diferencias entre los grupos frente a la positividad de la mutación en Sobrevida global o Sobrevida Libre de progresión.

### **EXPERIENCIA DEL GRUPO**

El Dr Rogelio Trejo es médico especialista en Oncología Médica y Neumólogo oncólogo. Es investigador asociado B en el Instituto Mexicano del Seguro Social. Es miembro de Latin America Oncology Group y ha participado en otros estudios retrospectivos con dicho grupo colaborativo. El Dr. Trejo Rosales, es investigador asociado B en el Instituto Mexicano del Seguro social y ha participado previamente en la medición de respuesta a tratamiento sistémico en pacientes con neoplasias torácicas dentro de protocolos prospectivos.

El Dr Samuel Rivera Rivera es el jefe de servicio de Oncología Médica, Centro Médico Nacional Siglo XXI. Tiene amplia experiencia en estudios clínicos de carácter retrospectivo y prospectivo.

La Dra. Celene Maritza Peña Campos, Médico Adscrito al Servicio de Radiología e Imagen del Hospital de Oncología, Centro Medico Nacional Siglo XXI cuenta con amplia experiencia en el uso de RECIST.

La Dra Jazmin de Anda es patóloga adscrito al Servicio de Patología de Centro Médico Nacional Siglo XXI y tiene experiencia en el diagnóstico de cáncer pulmonar por patología. Tiene experiencia en estudios retrospectivos previos.

El Dr Odilón Félix Quijano Castro es Coordinador de Educación en el Hospital de Oncología, Centro Médico Nacional Siglo XXI. Tiene una maestría en Ciencias y amplia experiencia en estudios clínicos de carácter retrospectivo y prospectivo.

El Dr Oscar Arrieta tiene un doctorado en ciencias médicas. Realizará la recolección de datos de pacientes con Cáncer de Pulmón en el Instituto Nacional de Cancerología. Tiene amplia experiencia en estudios prospectivos y retrospectivos.

El Dr Eduardo Sánchez Román es residente de primer año de Oncologia Médica y se encargará de la recolección de información. Tiene experiencia en el manejo clínico de pacientes con cáncer pulmonar.

## **ABREVIATURAS**

CP. Cáncer de pulmón

CED. Captura Electrónica de Datos

ECOG. Eastern Cooperative Oncology Group

FU. Seguimiento

IMSS. Instituto Mexicano del Seguro Social

IT. Inmunoterapia

LA. América Latina.

NSCLC. Cáncer de pulmón de células no pequeñas (no microcitico)

OS. Supervivencia global

TB. Terapia blanco

EGFR. Receptor de factor de crecimiento epidérmico.

ALK. Cinasa de Linfoma anaplásico.

## ÍNDICE GENERAL

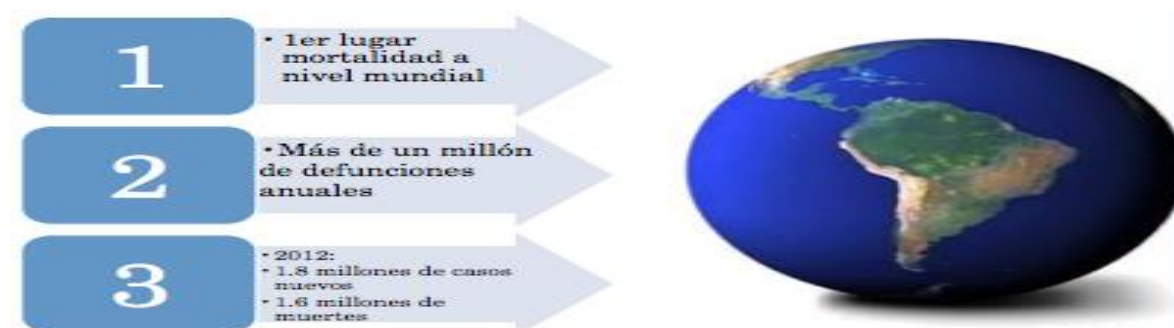
RESUMEN ESTRUCTURADO .....	4
ABREVIATURAS .....	11
ÍNDICE GENERAL.....	12
ANTECEDENTES.....	14
JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO.....	39
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA .....	40
PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN .....	40
HIPÓTESIS NULA .....	41
HIPÓTESIS ALTERNA .....	41
OBJETIVOS. ....	42
OBJETIVO PRIMARIO.....	42
OBJETIVOS SECUNDARIOS .....	42
MATERIAL Y MÉTODOS.....	43
1.- Diseño del estudio.....	43
a) Universo de trabajo .....	43
b) Muestra de trabajo.....	43
c) Tamaño de la muestra .....	43
d) Tipo de muestreo .....	43
2.- Descripción general del estudio .....	43
Procesamiento de las muestras.....	45
Plataforma, manufactura y metodología según mutación .....	46
3.- Criterios de inclusión y exclusión. ....	50
Criterios de inclusión .....	50
Criterios de exclusión .....	50
5. Definición de variables .....	51
Análisis estadístico.....	54
ASPECTOS ÉTICOS .....	56
Riesgos del estudio .....	56
Beneficios .....	56

RECURSOS, FINANCIAMIENTO Y FACTIBILIDAD .....	59
Recursos humanos:.....	59
Recursos físicos.....	59
Recursos económicos .....	61
Factibilidad .....	61
RESULTADOS.....	62
CONCLUSIONES.....	66
BIBLIOGRAFÍA. ....	67

## ANTECEDENTES

### Tendencias epidemiológicas en cáncer de pulmón

El cáncer de pulmón (CP) es la neoplasia que ocasiona más muertes por cáncer en hombres y mujeres en cualquier grupo étnico alrededor del mundo. Un 25 % de las muertes por cáncer son atribuibles a esta entidad. La probabilidad de desarrollar CP en pacientes entre 60 y 69 años de edad, mujeres y hombres es de 1 en 54 y 1 en 70 personas, respectivamente, mientras que en pacientes de más de 70 años, la probabilidad aumenta a 1 en 16 y 1 en 21 personas, respectivamente, con lo que claramente la neoplasia se relaciona con la edad (Figura 1) (1).

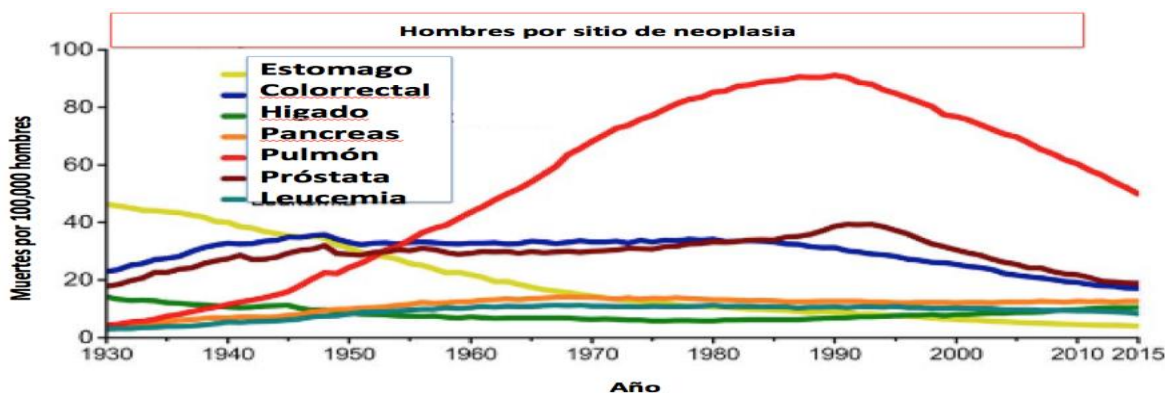


**Figura 1. Generalidades de la trascendencia actual del CP**

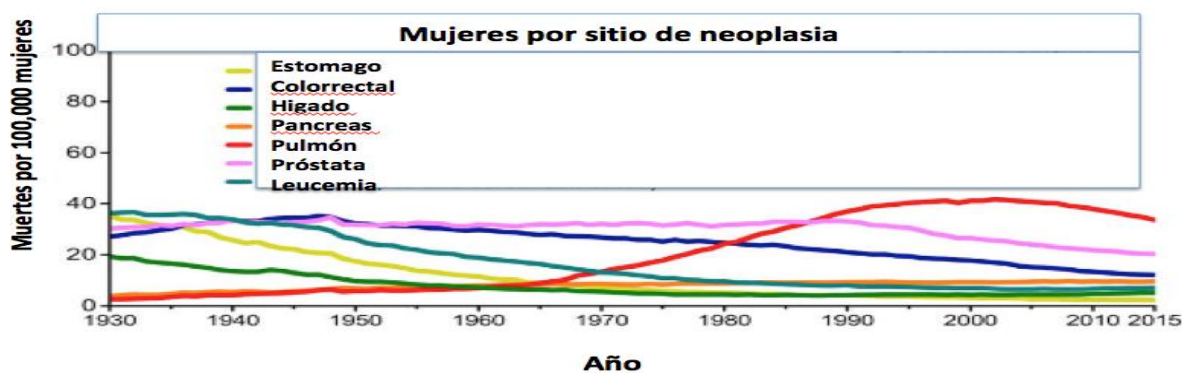
La incidencia del CP depende de variables como la edad, el género, etnia, el estado socioeconómico y la ubicación geográfica (2). Las tasas de incidencia han disminuido en las últimas décadas, lo cual es más notorio en el sexo masculino comparado con el femenino, lo cual refleja diferencias históricas en el consumo y cese del hábito tabáquico en ambos sexos. (3, 4). Existen diferencias raciales en la etapa al diagnóstico, con más etapas avanzadas en personas de raza negra cuando se comparan con personas de raza blanca.

*Etapas avanzadas de cáncer pulmonar*

En contraste con otras neoplasias, la mortalidad por cáncer de pulmón ha tenido un descenso lento. En gran medida el mal pronóstico de la enfermedad está dado por la elevada frecuencia con que es diagnosticada esta enfermedad en etapas avanzadas. La tasa de supervivencia a 5 años del 5-18 %. Cuando se comparan hombres y mujeres se observa un descenso dispar en las tasas de mortalidad por cáncer de pulmón: en hombres el descenso entre 1990 a 2015 fue del 45 % y del 19 % entre 2002 y 2015 en mujeres, debido a disminución del hábito tabáquico (2). Puede observarse en la gráfica 1 y 2 que la tasa de muerte por cáncer de pulmón en hombres aumentó de forma persistente en el siglo XX. A principios de la década de 1990 mostró un decremento anual de aproximadamente 1.5 %.



Gráfica 1. Mortalidad por cáncer de pulmón en hombres de 1930 a 2015. Tomado de Cancer Statistics. 2009. CA Cancer J Clin 2009; 59;225-249





**Gráfica 2. Mortalidad por cáncer de pulmón en mujeres de 1930 a 2015. Tomado de Cancer Statistics. 2009. CA Cancer J Clin 2009; 59;225-249**

En un estudio mexicano de 2012 realizado por Meneses y cols, se evidenciaron mayores tasas de mortalidad en los estados del norte del país, en contraste con los estados del sur, diferencia atribuible a los patrones del hábito tabáquico (5).

## **FACTORES DE RIESGO**

### **El papel del tabaquismo**

El CP es una enfermedad prevenible en la mayoría de los casos. El 61.2 % de casos con cáncer de pulmón ocurre en ex fumadores, mientras que el 20.9 % de los pacientes diagnosticados es un fumador actual. Sin embargo, el 17.9 % de los casos de CP se presentan en personas que nunca fumaron (6). La asociación del CP con el hábito tabáquico fue establecida en 1964 por el Surgeon General's Report, con un impacto favorable en salud pública. La prevalencia de tabaquismo en hombres disminuyó de 51 % a 21.6 % en 2014 en Estados Unidos. En mujeres la disminución fue de 33.3 a 16.5 %. Aún con ello, se estima que 1,300 millones de personas alrededor del mundo fuman (8,9). Esta adicción tiene un comportamiento descendiente en países desarrollados, sin embargo se mantiene o incluso ha aumentado en países en vías de desarrollo. (4). Se han caracterizado más de 8000 compuestos en el tabaco y el humo que este produce, de los cuales 70 son clasificados como carcinógenos según la International Agency for Research on Cancer. Los más importantes son los hidrocarburos aromáticos policíclicos, las aminas aromáticas, las nitrosaminas volátiles, aldehídos e hidrocarburos volátiles, metales (níquel, arsénico y cromo), el radioelemento  $^{210}\text{Po}$  y otros elementos orgánicos. La pieza clave en las carcinogénesis por tabaco son los aductos de ADN formados. Éstos habitualmente son eliminados por los sistemas enzimáticos reparadores de bases de ADN. Sin embargo, si estos son ineficientes

o sobrepasados, los aductos de ADN ocasionan codificación errónea, con mutación de genes supresores tumorales como TP53, RASSF1A y FHIT. En este proceso también pueden intervenir algunos epigenéticos que favorecen la transformación maligna (10).

## **Factores de riesgo para CP distintos al tabaco**

### *Exposición a biomasa, polución aérea y exposición a radón*

La evidencia indica que la exposición a biomasa está ligada al desarrollo de CP. En un metaanálisis realizado en población china en 2006 se encontró un OR de 2.12 (IC 1.81-2.47) para desarrollar CP en pacientes expuestos a biomasa. Un estudio realizado en el Instituto Nacional de Cancerología por Arrieta et al (11), relacionó la exposición a biomasa con adenocarcinoma con mutación de EGFR. La polución aérea es uno de los grandes problemas ecológicos de las sociedades modernas. El crecimiento urbano e industrial desmesurado, ha llevado a que los individuos que viven en grandes ciudades estén expuestos a altas concentraciones de contaminantes en su vida diaria. La concentración de estos contaminantes en el medio ambiente, entre los que se cuentan el ozono, dióxido de nitrógeno, dióxido de azufre y la materia particulada ó PM (particulate matter) depende del parque vehicular, las emisiones de fábricas y la dirección de las corrientes aéreas. Se estima que en nuestro país 38 mil personas murieron entre 2001 y 2005 por enfermedades relacionadas a la polución aérea (12). Según estimaciones de la OMS, la contaminación del aire causó 165 000 muertes por cáncer de pulmón a nivel mundial en 2004, de las cuales 108 000 fueron causadas por la contaminación del aire exterior (13). El estudio más importante, por tratarse de un estudio prospectivo, que busca una relación causal entre polución aérea y cáncer pulmonar es el estudio ESCAPE. Constituye un análisis de 17 cohortes europeas de 9 países europeos donde se analizaron niveles de PM10, PM2.5 y óxidos de nitrógeno. La cohorte completa, con más de 300 mil personas y 2095 casos de cáncer pulmonar, mostró una asociación estadísticamente significativa de cáncer pulmonar y PM10 (hazard ratio [HR] 1.22 [95% CI 1.03–1.45]. Para PM2.5 el HR fue de 1.18 (0.96–

1.46). No se encontró asociación con óxidos de nitrógeno. Este estudio retrospectivo evidenció una tendencia a la ausencia de mutaciones sensibilizantes en pacientes provenientes de zonas de alta polución medido por PM2.5 (14).

Otro factor de riesgo asociado a CP es la exposición a radón. Éste es un gas inerte producido de la desintegración del uranio y es una causa ambiental importante de CP. El radón está presente en el suelo, las rocas y las aguas subterráneas, y se puede acumular en los hogares. Los productos de desintegración del radón, el polonio 218 y el polonio 214 son capaces de emitir partículas alfa que son partículas de alta energía y alta masa que consta de dos protones y dos neutrones que causan mutaciones de bases de ADN y roturas de la cadena cromosómica lo cual está ligado a su potencial carcinogénico. No existe información sobre la relación de exposición a radón y mutaciones sensibilizantes (16).

### **1.3. CLASIFICACIÓN DEL CÁNCER DE PULMÓN**

El CP se clasifica en base a las características morfológicas y de inmunohistoquímica. La clasificación más ampliamente utilizada es la sugerida por la Organización Mundial de la Salud (11). En esta clasificación, los grupos histológicos incluyen:

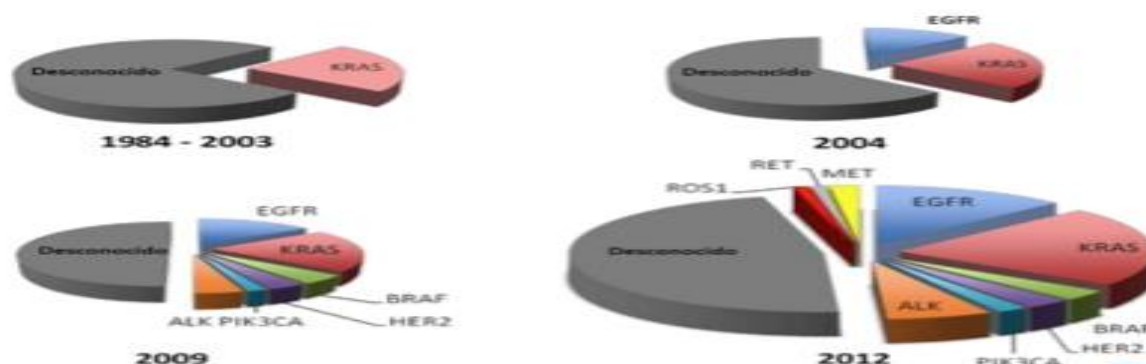
- Tumores epiteliales: adenocarcinoma pulmonar y carcinoma epidermoide.
- Tumores neuroendócrinos: carcinoma de células pequeñas, el carcinoma de células grandes y los tumores carcinoides.
- Carcinoma de células grandes
- Carcinoma adenoescamoso.
- Carcinomas sarcomatoides
- Carcinomas inclasificables
- Tumores mesenquimales
- Tumores linfociticos.

Las histologías epiteliales constituyen las más frecuentes y pueden agruparse para su estudio como carcinoma pulmonar de células no pequeñas (CPCNP o NSCLC por sus siglas en inglés).

Por inmunohistoquímica en los adenocarcinomas pulmonares suele observarse una neoplasia TTF1 (+), Napsina (+) que representan los marcadores más sensibles y específicos respectivamente, además de elevada frecuencia de CK7 +. Los carcinomas epidermoides son positivos para p40 y p63 (gráfica 3) (16).

### Subtipos moleculares del cáncer pulmonar de células no pequeñas de tipo adenocarcinoma

En las últimas décadas la genética tumoral ha permitido la reclasificación de CP, con base en mutaciones *key driver* específicas. Esto ha ampliado el panorama respecto al entendimiento del adenocarcinoma pulmonar y al abanico de posibilidades de tratamiento. Puede observarse la evolución de la clasificación del CP en la gráfica 4. La clasificación basada en la genética molecular ha probado en algunos estudios en CP elegir tratamientos dirigidos a blancos moleculares terapéuticos. En algunos casos esto se ha traducido en mejores tasas de respuesta y de supervivencia libre de progresión y supervivencia global.



Gráfica 3. Subtipos moleculares del CPCNP de tipo adenocarcinoma

## Mutaciones de EGFR

El receptor del factor crecimiento epidermoide o EGFR constituye una glucoproteína transmembrana que esta compuesta por un dominio extracelular amino-terminal para la unión con ligandos, una hélice transmembrana hidrófoba y un dominio citoplasmático con el dominio tirosina quinasa así como una región carboxi-terminal con residuos de tirosina y los elementos reguladores del receptor. En humanos, el gen que codifica el EGFR se encuentra en el brazo corto (región p13-p12) del cromosoma 7. Este gen está compuesto por 28 exones que ocupan un segmento de 75 kb y codifican a una proteína precursora de 1 210 aminoácidos que posee una corta secuencia líder hidrofóbica en su extremo N-terminal usada para su inserción en la membrana, siendo posteriormente eliminada por procesamiento proteolítico, y quedan finalmente 1 186 aminoácidos, los que forman una sola cadena polipeptídica. EGFR tiene varios ligandos que pueden activarlo, como por ejemplo el factor de crecimiento epidérmico (EGF) o el factor transformador de crecimiento (TGF). Cuando EGFR se une con estos ligandos ocurre una oligomerización del receptor que activa la porción tirosina quinasa de la molécula y origina la autofosforilación de ambos dominios del receptor. Estas tirosinas fosforiladas sirven como sitios de unión para diferentes moléculas transductoras de señales citoplasmáticas. Luego de ello inicia la cascada de señales intracelulares que tiene como consecuencia proliferación celular, resistencia a apoptosis, y transcripción génica. Las células neoplásicas y las normales dependen de la señalización del EGFR, pero en las células normales ésta señalización se encuentra estrictamente regulada mientras que las células tumorales tienen *adicción* a ésta vía (17). Estas mutaciones convierten a la célula mutada en «adicta» a las señales del EGFR. Las mutaciones más frecuentes son deleciones in-frame de los nucleótidos 9, 12, 15, 18, o 24 en el exón 19 y mutaciones puntuales CTG/CGG en el exón 21(L858R) (18). Las mutaciones en el receptor del factor de crecimiento epidermoide (EGFR) se encuentran predominantemente en el adenocarcinoma pulmonar o carcinomas mixtos pulmonares con

componente de adenocarcinoma. EGFR da inicio a vías de señalización con implicaciones en procesos intracelulares como crecimiento celular, proliferación y movimiento celular (17).

La frecuencia de la mutación en los CP de células no pequeñas es del 5–35% dependiendo de la población estudiada. Es más frecuentes en mujeres, no fumadores, histología de adenocarcinoma y raza asiática. Debe considerarse, sin embargo, estos marcadores clínicos tienen una insuficiente sensibilidad y especificidad; su presencia o ausencia no selecciona o excluye candidatos a determinar la presencia de mutaciones para EGFR (17).

Cerca del 75% de los pacientes con mutación en el gen del EGFR responde al tratamiento con anti EGFR, mientras que entre los no mutados solo responde un 10%. La mutación de EGFR corresponde a un marcador predictivo, sin embargo no pronóstico. Es recomendable realizar estudio molecular para EGFR en todos los pacientes con adenocarcinoma pulmonar y tumores pulmonares mixtos con componente de adenocarcinoma que puedan ser candidatos a tratamiento con terapia blanco anti EGFR (19-21).

Diferentes series han demostrado una mayor sensibilidad y mejor correlación con la amplificación cuando la expresión del EGFR se analiza utilizando los kits Zymed EGFR kit (clona 31G7) y Dako EGFR pharmDx kit (clona 2-18C9) que con otros anticuerpos

En los últimos años se han desarrollado anticuerpos específicos que reconocen las proteínas codificadas por las formas más frecuentemente mutadas del EGFR (L858R y DEL E746-A750). Las series más recientes muestran una sensibilidad aceptable 47-83% y una alta especificidad, cercana al 100%. Estos estudios indican una mayor sensibilidad y especificidad para el anticuerpo específico para la mutación L858R (22,23)

En un estudio realizado en nuestro país en el Instituto Nacional de Cancerología se encontró asociación a exposición a humo de leña con esta mutación sensibilizante. Pueden observarse las características de los pacientes en la tabla 1. Como es notorio, la frecuencia de mutación de EGFR en CP de tipo adenocarcinoma resultó más elevada comparada con

lo reportado en población anglosajona y con mayor similitud a lo reportado en población asiática (11).

No tabaquismo vs tabaquismo	40.8 vs 21.1%	<0.001
Adenocarcinoma vs otras histologías	35.7 vs 13.9%	<0.001
Mujeres vs hombres	38.3 vs 22%	0.001
Exposición a humo de leña vs no exposición	50.8 vs 19.8%	<0.001

**Tabla 1. Factores relacionados con mutación de EGFR**

El tipo de mutación encontrada se resumen en la tabla 2.

Característica	Frecuencia
Delección 19	63%
Mutación exón 21	26 %
Mutación exón 20	8.4 %
Mutaciones complejas	9.2 %

**Tabla 2. Tipo de mutación encontrada en población mexicana.**

Algunos estudios han demostrado mayor frecuencia de mutación de EGFR en pacientes con tumores bien diferenciados cuando se les compara con tumores poco diferenciados.

Un estudio realizado en China demostró en 60 especímenes de adenocarcinoma de pulmón frecuencia de 33.3 % de mutación de EGFR en tumores bien diferenciados vs 12.12 % en tumores pobremente diferenciados ( $P < 0.05$ ). Sin embargo existe evidencia de una frecuencia significativa en tumores de alto grado (18).

#### *Métodos de extracción de ADN para búsqueda de mutaciones de EGFR*

Prácticamente cualquier muestra con células tumorales que haya sido procesada de manera adecuada es susceptible de análisis y tiene el potencial de dar resultados satisfactorios. Las técnicas citológicas, con menor cantidad de células, tienen el riesgo de mayores falsos negativos.

En el mercado existen múltiples métodos de extracción de ADN disponibles y que son aplicables a muestras fijadas en formol e incluidas en parafina. Éstos métodos son válidos si proporcionan un ADN de calidad y concentración adecuada (por encima de 15 ng/ml). Los métodos robotizados (Qiacube o Magpure, por ejemplo) proporcionan un ADN de menor concentración que los métodos *in house*. Para muestras sólidas incluidas en parafina se recomienda una extracción manual basada en proteinasa K a una concentración de 20 ng/ml y solución detergente tipo Tween20 al 50% en estufa o baño a 55°C durante 24h, seguido de hervido a 100°C y centrifugación a 12.000 rpm, tras lo cual se extrae la fase líquida con el ADN en suspensión. Cualquier método que proporcione un ADN medido en espectrofotómetro, nanodrop o similar por encima de 15 ng/ml es susceptible de ser aceptado y, por tanto, de análisis molecular de calidad (24).

#### *Técnicas para búsqueda de mutaciones de EGFR*



En la actualidad existen diversas técnicas de laboratorio que permiten el análisis de mutaciones en el gen EGFR, si bien la mayoría de ellas se centran en procesos basados en la amplificación del ADN utilizando PCR.

En la mayoría de laboratorios donde actualmente se realizan las determinaciones del EGFR, las técnicas utilizadas son las siguientes: secuenciación automática, Scorpion Amplification Refractory Mutation System (SARMS), PNA-LNA clamp y pirosecuenciación

Existen otras formas de llevar a cabo estos análisis, como son plataformas Sequenom, basadas en tecnología «MassArray», e incluso otras plataformas más sofisticadas (25-28).

#### Secuenciación automática

De todas las técnicas, ésta es la que tiene menor sensibilidad. Para aumentar al máximo la sensibilidad, es necesario macer o microdisecar las muestras sujeto de análisis, de forma que al menos el 80% de las células deben ser de origen tumoral. De esta forma, puede disminuir el porcentaje de falsos negativos.

Es altamente recomendable utilizar doble secuenciación, es decir, hacer la reacción de secuenciación tanto de forma directa como invertida (*secuenciación en forward y reverse*), para lo que es necesario disponer de un secuenciador automático.

Para la lectura de las secuencias pueden utilizarse programas informáticos que detectan automáticamente cualquier cambio en la pauta de lectura a partir de una secuencia consenso o *wild type*, aunque debido a la sensibilidad de esta técnica se recomienda hacer un análisis manual de las secuencias. De esta forma se podrán detectar algunas mutaciones que de forma automática no se detectarían.

#### Scorpion Amplification Refractory Mutation System (SARMS)

Se basa en la combinación de dos técnicas: las sondas Scorpions y una amplificación refractaria para la detección de mutaciones. El procedimiento de laboratorio requiere un equipo de PCR capaz de detectar en tiempo real la reacción con PCR en función de la fluorescencia que se va generando en cada ciclo con el uso de sondas fluorescentes. Esta

técnica tiene la ventaja de su alta sensibilidad. Precisa un equipo de PCR en tiempo real. Esta técnica permite solamente detectar las mutaciones específicas para las que está diseñado el ensayo. Actualmente, existe un kit comercial de la compañía DxS (Qiagen) para la detección de las mutaciones más frecuentes.

#### PNA-LNA clamp

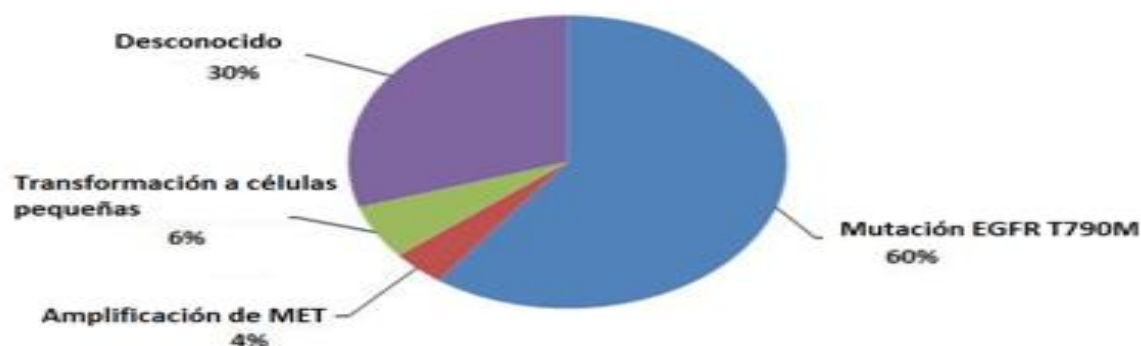
Esta técnica se basa en una reacción de PCR junto a un oligotipo PNA (ácido nucleico peptídico) o LNA (ácido nucleico bloqueado) diseñado sobre la secuencia nativa, lo cual favorece la detección de las secuencias no bloqueadas o inhibidas por este tipo de cebador, incrementando la sensibilidad en la detección de las mutaciones para las cuales está diseñado el ensayo. La ventaja clara es el incremento en la sensibilidad de la técnica. Sin embargo, como contrapartida, es una técnica dirigida a mutaciones concretas y requiere experiencia en el procedimiento. Es necesario disponer de un equipo de PCR en tiempo real.

#### Pirosecuenciación

Constituye un método de secuenciación de ADN basado en el principio de la secuenciación por síntesis. A diferencia del procedimiento de Sanger, donde la terminación de la cadena se lleva a cabo con la incorporación de dideoxynucleótidos, en la pirosecuenciación la detección se basa en la liberación del pirofosfato cuando se produce la incorporación de un nucleótido mediante la ADN polimerasa. El pirofosfato liberado es convertido en ATP por la ATP sulfurilasa en presencia de adenosina-5' fosfosulfato. El ATP formado permite la conversión de luciferina en oxiluciferina, produciéndose luz que es proporcional a la cantidad de ATP generado. La ventaja que presenta es que permite detectar cualquier cambio de secuencia igual que la secuenciación genómica estándar pero con una mayor sensibilidad. Requiere un equipamiento especial, un software dedicado y experiencia en la técnica. Recientemente se ha comercializado un EGFR pyro kit (Qiagen (29-35)).

*Resistencia a tratamientos antiEGFR*

La forma habitual de progresión está representada por la mutación T790M, que corresponde al mecanismo de resistencia en el 60 % de los casos. Este mecanismo de resistencia ha motivado la creación de medicamentos dirigidos contra la mutación T790M, conocidos como anti EGFR de tercera generación. Además, se ha buscado bloquear vías de señalización paralelas como mTOR. Ésta vía tiene un papel importante en la regulación de la proliferación celular, supervivencia y mecanismos de angiogenesis. También se le ha relacionado como un mecanismo de resistencia a tratamientos antiEGFR. En líneas celulares sensibles como en resistentes, el inhibidor de mTOR everolimus, reduce la expresión de EGFR (23).



**Gráfica 5. Mecanismos de resistencia en adenocarcinoma pulmonar con mutación de EGFR**

### **El rearreglo de ALK**

La Cinasa de Linfoma anaplásico (ALK), se trata de un oncogen de fusión que constituye del 4-7%, del total de los adenocarcinomas pulmonares y que implica la inversión del brazo corto del cromosoma 2 y afecta a los genes que codifican para ALK (2p23.2) y la proteína 4 asociada al microtúbulo del equinodermo (EML4) (2p21) o, raramente, a los genes en otros cromosomas. Este oncogen fusiona los exones 1-13 del EML4 (Proteínas similares asociadas a microtúbulos) e implican la parte del extremo N-terminal del gen EML4 y el dominio de

cinasa en la parte C-terminal del gen ALK. (36,37) El producto proteico tiene una cinasa constitutivamente activa de ALK puesto que el dominio básico del gen EML4 proporciona un mecanismo para la dimerización de la nueva proteína quimérica. Existen múltiples variantes quiméricas y se han identificado numerosas variantes de reordenamiento del gen de fusión EML4-ALK en los diferentes tipos de CP (38,39).

La reordenación génica implica una inversión y translocación cromosómica, la hibridación in situ fluorescente (FISH) es el método elegido para la detección de todas las formas de reordenamiento del gen ALK, y fue el ensayo utilizado para detectar esta aberración genética en los primeros ensayos clínicos del inhibidor de ALK, crizotinib. La detección de ALK con la inmunohistoquímica (IHC) es viable teniendo en cuenta su bajo costo y su alta reproducibilidad, sensibilidad y especificidad, las IHC se conciben para los pacientes con carcinoma de pulmón de células escamosas en combinación con la prueba FISH y que se utiliza para confirmar los resultados positivos de la IHC (40).

Este gen de fusión lleva a la activación de mecanismos de supervivencia y proliferación celular.

El rearrreglo de ALK se encuentran predominantemente en el adenocarcinoma pulmonar o carcinomas mixtos pulmonares con componente de adenocarcinoma. El rearrreglo de ALK es más frecuente en adenocarcinomas con histología sólida o con células en anillo de sello, en estudios occidentales, sin embargo estos hallazgos no se han descrito para pacientes asiáticos. Pacientes nunca fumadores y jóvenes tienen mayor prevalencia del rearrreglo de ALK. Identificar estos grupos de pacientes en la práctica clínica diaria permite reconocer aquellos susceptibles de tratamiento dirigidos altamente efectivos y que son administrados vía oral a diferencia de la quimioterapia tradicional, contra la cual han mostrado ser superiores en términos de supervivencia libre de progresión. Estas características clínicas sin embargo no son lo suficientemente específicas ni sensibles como para considerarlas determinantes para elegir o excluir los pacientes candidatos para la determinación de este rearrreglo genético.

La guía CAP/IASLC/AMP sugiere que las pruebas de ALK se hagan sólo a los pacientes con adenocarcinoma y CP mixto con un componente de adenocarcinoma en muestras de CP completamente extirpadas. La prueba ALK también se recomienda para muestras limitadas, como las muestras de biopsia y de citología, cuando no se puede excluir por completo el componente de adenocarcinoma (41-44).

#### *Muestras apropiadas para búsqueda de ALK*

Al igual que fue mencionado con las pruebas para EGFR, en el caso de la búsqueda de este gen de fusión, lo más importante es el número de células disponibles en el tejido a analizar. Si la cantidad de células es suficiente, la prueba puede ser llevada a cabo en tejido sólido y en citológicos. El número de células tumorales necesarias para la determinación inmunohistoquímica de la proteína ALK aún no está definido. Para la técnica FISH se requiere un mínimo de 50 células tumorales. Existen diferentes enfoques para las muestras de frotis citológico, pero el más adecuado con las muestras de citología es generalmente el bloque celular. Como regla general, los tumores con un diámetro de 3cm o menos deben ser procesados en su totalidad. Se recomienda la fijación por inmersión, o cuando corresponda, por insuflación, con formaldehído tamponado al 10%. La prefijación con algunos fijadores a base de alcohol puede alterar la antigenicidad del tejido o la integridad del DNA. Las soluciones descalcificadoras ácidas utilizadas en muestras de biopsia ósea pueden interferir con la IHC y alterar la prueba FISH. Se recomienda un periodo de fijación de más de 6 horas y menos de 48 horas, especialmente cuando se tengan que hacer pruebas de biomarcadores (para las que la integridad del DNA es importante. Un defecto o un exceso de fijación pueden tener efectos nocivos en el DNA y sobre los epítomos de una proteína antigénica.

La sonda FISH de rotura (o break-apart) fue originalmente desarrollada para la detección de fusiones de genes creados por translocaciones intracromosomales. FISH break-apart es un método de diagnóstico fiable en la patología quirúrgica, ya que es fácilmente aplicable a especímenes FFPE, incluso cuando no se conocen las parejas exactas de fusión. Las sondas

FISH ALK break-apart se han incorporado con éxito en la práctica habitual de diagnóstico de linfomas y de los tumores mesenquimales, y el descubrimiento del reordenamiento de ALK en un subgrupo raro de CPCNP amplió su aplicación. Sin embargo, en este último escenario, la prueba FISH se ha enfrentado a complicaciones inesperadas, principalmente debido a que las variantes comunes de fusión se producen entre ALK (2p23.2) y el gen situado muy cerca de EML4 (2p21) a través de inversiones intracromosomales. Rara vez el gen ALK se fusiona con otros genes por translocación intracromosomal. Por lo tanto, la técnica FISH break-apart para detectar el reordenamiento del gen ALK, se debe realizar prestando mucha atención a los aspectos técnicos y a la interpretación de los resultados. Las zonas genómicas homólogas a las sondas 5' y 3' están molecularmente muy cercanas y estas señales se visualizan como fusionadas, próximas o adyacentes en las células normales. Por el contrario, cuando el gen de fusión EML4-ALK está presente, la señal verde de 5' ALK se aleja bastante de la señal roja de 3' ALK (aproximadamente 12,5 Mb), y las señales se ven como si estuvieran divididas. En realidad, las señales 3' y 5' se pueden visualizar o muy alejadas o muy próximas entre sí en las células huéspedes tumorales anormales debido a diversos grados de condensación y reordenamientos tridimensionales de la cromatina. Del mismo modo, debido a la proximidad de EML4 y ALK, la división puede ser tan estrecha que las señales pueden parecer fusionadas en el reordenamiento ALK. Además, esta región genómica parece ser altamente inestable, y las regiones homólogas a una de las sondas se pueden perder, y por consiguiente, la señal correspondiente también. Como resultado, cada célula tumoral puede mostrar una variedad de combinaciones de señales de co-localización 5'-3' ALK o señales aisladas de 5' o 3' ALK.

Se considera que una célula tiene un patrón normal (ALK negativo) cuando las señales 5' y 3' se fusionan. Cualquier separación entre las señales 5'y 3' por una distancia de menos de dos diámetros de señal debe ser clasificada como patrón fusionado. El número de señales fusionadas 5'-3' por núcleo tumoral no es relevante para la clasificación según estos patrones.

Se considera que una célula tiene un patrón dividido (ALK positivo) cuando las señales 5' y 3' están separadas, sin importar el número de señales aisladas reales. La separación entre las señales de 5' y 3' debe ser dos o más veces el diámetro de la señal más grande. El número de señales aisladas 5' y 3' no necesita ser el mismo, por ejemplo, una célula con dos copias de la señal aislada 5' y tres copias de la señal aislada 3' se clasifica como patrón dividido. El número de señales fusionadas 5'-3' acompañantes en la célula no es relevante para la clasificación de patrones. Patrón aislado 3' (positivo). Se considera que una célula tiene un patrón aislado 3' cuando sólo están presentes las señales aisladas 3' y no hay ninguna señal 5' aislada. Cuando una célula tiene tanto señales aisladas 3' como 5', con más señales 3' que 5', la clasificación correcta es la de patrón dividido, y no la de patrón aislado 3'. El número de señales fusionadas acompañantes no es relevante para la clasificación de patrones.

Aunque la sonda FISH break-apart se ha utilizado como norma general para el diagnóstico de cáncer de pulmón ALK-positivo, sigue siendo difícil evaluar la verdadera sensibilidad y especificidad de la prueba. La mayor discordancia entre FISH y otras modalidades surge debido a razones técnicas. Sin embargo, FISH puede generar verdaderos resultados falsos positivos o falsos negativos, que pueden tener un impacto significativo en el manejo de la enfermedad. Los resultados falsos positivos son especialmente difíciles de demostrar, principalmente debido a la limitada sensibilidad bien conocida de la RT-PCR y la IHC. Sin embargo, hay algunos indicios clínicos de que un diagnóstico basado en resultados de FISH predice la respuesta al tratamiento con un inhibidor de ALK con menos exactitud que una combinación de FISH, IHC y RT-PCR, y los casos clínicamente discordantes raramente incluyen verdaderos falsos positivos con los resultados de FISH.

Las nuevas tecnologías, como la secuenciación masiva en paralelo en todo el genoma, pueden ayudar a demostrar la existencia de resultados falsos positivos de FISH. Por el contrario, algunos casos de resultados falsos negativos de FISH están bien documentados en la literatura. En tales casos, los patrones de señales FISH atípicos pueden o no ser vistos. Los mecanismos genómicos subyacentes a los resultados falsos negativos de FISH no han

quedado completamente claros, pero cabe la posibilidad de que los complejos reordenamientos genéticos e inserciones crípticas puedan contribuir a ello. (40-44)

### **CURSO CLINICO.**

El 60% -70% de los pacientes con NSCLC padecen enfermedad en estadio III o IV (enfermedad avanzada) y, en general, la mayoría de los pacientes que presentan signos o síntomas clínicos debidos al cáncer de pulmón tienen una enfermedad avanzada. Las manifestaciones de presentación más comunes son las siguientes:

Tos: 50 a 75 por ciento

Hemoptisis: 25 a 50 por ciento

Disnea: 25 por ciento

Dolor de pecho: 20 por ciento

Las manifestaciones menos comunes incluyen los signos y síntomas o anomalías de laboratorio de metástasis a distancia o síndromes paraneoplásicos. Cuando cualquiera de estas manifestaciones está presente en un paciente con sospecha de cáncer de pulmón, deben impulsar pruebas adicionales. El cáncer de pulmón siempre debe sospecharse en un fumador actual o exfumador con nueva aparición de tos o hemoptisis. Tanto el cáncer de pulmón de células no pequeñas (NSCLC) como el cáncer de pulmón de células pequeñas (SCLC) pueden presentarse con síntomas similares, y pocas características clínicas los distinguen de manera confiable entre sí. Las características que sugieren SCLC incluyen síntomas de progresión rápida y la presencia de síndromes paraneoplásicos (p. Ej., Síndrome de hormona antidiurética inapropiada), metástasis mediastínica multiestación voluminosa, síndrome de la vena cava superior y metástasis óseas y cerebrales. Por el contrario, el síndrome de Pancoast y la hipercalcemia se encuentran con mayor frecuencia en pacientes con NSCLC.(3, 4, 7)

La diseminación metastásica puede resultar en los síntomas de presentación o puede ocurrir más tarde en el curso de la enfermedad. (10)



Los sitios más frecuentes de metástasis a distancia son el hígado, las glándulas suprarrenales, los huesos y el cerebro.

Las metástasis hepáticas sintomáticas son poco frecuentes en las primeras etapas del curso de la enfermedad. Las metástasis hepáticas asintomáticas pueden detectarse en el momento de la presentación mediante anomalías de las enzimas hepáticas, TC o tomografía por emisión de positrones (PET). Entre los pacientes con CPCNP reseccable en el tórax, se ha identificado evidencia de metástasis hepática en la TC en aproximadamente el 3% de los casos (16).

La metástasis del cáncer de pulmón a los huesos suele ser sintomática. El dolor en la espalda, el pecho o las extremidades y niveles elevados de fosfatasa alcalina sérica suelen estar presentes en pacientes con metástasis ósea. El calcio sérico puede estar elevado debido a una enfermedad ósea extensa. Aproximadamente el 20 por ciento de los pacientes con NSCLC tienen metástasis óseas en la presentación. Suprarrenales: las glándulas suprarrenales son un sitio frecuente de metástasis, pero estas metástasis rara vez son sintomáticas. Las manifestaciones neurológicas del cáncer de pulmón incluyen metástasis y síndromes paraneoplásicos.

Los síntomas de la metástasis del sistema nervioso central son similares a los de otros tumores e incluyen dolor de cabeza, vómitos, pérdida del campo visual, hemiparesia, déficit de pares craneales y convulsiones. En pacientes con NSCLC, la frecuencia de metástasis cerebral es mayor con el adenocarcinoma y menor con el carcinoma de células escamosas. El riesgo de metástasis cerebral aumenta con el tamaño del tumor primario más grande y la presencia de compromiso de los ganglios regionales. (18, 19).

## **FACTORES PRONÓSTICOS**

La estadificación del cáncer es uno de los factores pronósticos más reproducibles. Según el estadio clínico, las tasas de supervivencia a los 5 años oscilan entre el 50% para el estadio I y el 2% para el estadio IV mientras que, si se utiliza el estadio patológico, se observa una supervivencia del 73% a los 5 años para el estadio I disminuyendo a 13% para estadio IV.

El estadio es una poderosa variable de pronóstico que resume la información incluida en los tres factores separados: T, N y M. Por supuesto, tomados por separado, estos factores son factores de pronóstico: un tamaño creciente del tumor empeora el pronóstico y la afectación de los ganglios linfáticos es per se un factor importante. Característica pronóstica que también incide en la posibilidad de tratamiento quirúrgico (la afectación de N3 es generalmente una contraindicación para la cirugía). La diseminación pleural es una característica de pronóstico negativo y, a partir de la séptima edición, un paciente con diseminación pleural ahora se considera M1a [7]. En pacientes metastásicos, un solo sitio metastásico es menos perjudicial que las metástasis múltiples [8].

El segundo factor pronóstico más reproducible es el estado funcional medido en la escala de Karnofsky o en la escala del Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG), aunque su valor se ha demostrado principalmente en pacientes no resecaos. Por lo tanto, algunos autores han argumentado que la quimioterapia para pacientes en estadio IV debería limitarse a pacientes con un estado funcional ECOG 0 o 1 [9]; sin embargo, otras publicaciones sugieren que algunos pacientes con PS 2 también pueden beneficiarse del tratamiento [10].

La histología puede desempeñar un papel en el resultado: un gran estudio de población noruega (n = 3211 pacientes resecaos) sugirió que el adenocarcinoma y la histología de células grandes podrían tener un peor pronóstico. Un equipo australiano mostró en una serie retrospectiva de 210 pacientes resecaos con adenocarcinoma (estadio I-III) que el subtipo podría ser de importancia pronóstica con muy buen pronóstico para el adenocarcinoma in situ, el adenocarcinoma mínimamente invasivo y el adenocarcinoma con predominio lepidico, mientras que el adenocarcinoma con predominio micropapilar y sólido con adenocarcinomas con predominio de mucina podría estar asociado con una supervivencia particularmente pobre [13].

Se ha sugerido que las siguientes características se asocian con un pronóstico más favorable: estado normal de p53 ; sin expresión de EGFR; recuento bajo de microvasos; baja

expresión de VEGF; sin sobreexpresión de c-erbB-2 con un efecto posiblemente restringido a la histología no escamosa; Expresión de Bcl-2; baja expresión de Ki67; ausencia de mutación KRAS [26]; Positividad TTF-1; alto nivel de expresión de p16, expresión de ERCC1 baja o nula (CPCNP avanzado tratado con quimioterapia a base de platino); baja expresión de  $\beta$ -tubulina de clase III, en pacientes resecaados; baja expresión de survivina, sólo en pacientes resecaados.

Con respecto a los inhibidores de tirosina quinasa (TKI) dirigidos al EGFR, como gefitinib y erlotinib, en estudios realizados inicialmente, el subgrupo de pacientes que se benefician en términos de supervivencia libre de progresión de los inhibidores de la tirosina quinasa fueron aquellos con mutaciones somáticas en el gen EGFR (exones 19 y 21). Estudios adicionales, ya sea análisis de subgrupos de los primeros ensayos aleatorizados o ensayos aleatorizados que hayan utilizado un diseño de enriquecimiento (es decir, un diseño en el que solo los pacientes que albergan la característica predictiva son elegibles para el ensayo) han demostrado sin duda que los pacientes con mutación EGFR se benefician de los inhibidores de la tirosina quinasa en términos de supervivencia libre de progresión, aunque el beneficio sobre la supervivencia general es menos claro. Por tanto, el EGFR se ha convertido en la primera diana molecular en el cáncer de pulmón de células no pequeñas avanzado que definitivamente es de utilidad clínica.

## **TRATAMIENTO DEL CÁNCER PULMONAR AVANZADO**

En las últimas dos décadas hemos visto la transición de tratamientos no personalizados de tipo quimioterapia citotóxica a terapias dirigidas a sitios puntuales de vías de señalización celulares, esto es, terapia blanco (TB), para posteriormente volver a tratamientos no personalizados que activan a las células T para que sean éstas las que tengan un efecto sobre las células neoplásicas, esto es, la inmunoterapia (IT). La IT no solo difiere en los mecanismos de acción sino también en el perfil de reacciones adversas que requieren monitoreos especiales y conocimiento por el personal que trabaja con enfermos con cáncer. El objetivo del tratamiento en pacientes con CP avanzado es mejorar la calidad de vida y

extender la supervivencia. En este sentido, un metaanálisis con más de dos mil pacientes mostró que existe un beneficio del 7 % en supervivencia a 1 año en pacientes que reciben quimioterapia comparado contra mejores cuidados de soporte. Los estudios con dos drogas de quimioterapia, que en CP incluyen siempre un platino, muestran tasas de respuesta de la enfermedad que van del 17 al 32 %.

### ***Papel de la quimioterapia***

En pacientes con CPCNP etapa clínica IV de estirpe adenocarcinoma el esquema de platino más pemetrexed es superior a otros esquemas de quimioterapia basados en platinos. Un meta análisis de 4 ensayos clínicos aleatorizados comparo la eficacia y toxicidad de la combinación con platino más pemetrexed en primera línea de tratamiento. Para el análisis de resultados de acuerdo con histología se incluyeron solamente 3 ensayos clínicos (1 792 pacientes). La combinación platino más pemetrexed se asoció significativamente con beneficio del 13% en SG comparado con otros esquemas de quimioterapia basados en platinos (HR=0.87, IC 95% 0.77 – 0.98, p=0.02, I<sup>2</sup>=14%) En un análisis preestablecido de un ensayo clínico, fase III, aleatorizado de no inferioridad que comparó la combinación de cisplatino mas pemetrexed vs cisplatino gemcitabina se demostró la superioridad de cisplatino mas pemetrexed en pacientes con histología de adenocarcinoma (47-49)

### ***Tratamiento dirigido por alteraciones moleculares***

#### ***Tratamiento de adenocarcinoma pulmonar con mutación de EGFR***

El desarrollo de la TB tiene como premisa que el CP es una enfermedad heterogénea, subcategorizada por mutaciones driver que predicen respuesta a TB. Las mutaciones más importantes por su frecuencia son EGFR y ALK.



Figura 2. Tratamiento de CP con TB

Los estudios iniciales que utilizaron TB en CP como una enfermedad homogénea fallaron. Sin embargo, un estudio de 2004 mostró por primera vez mejores desenlaces oncológicos en pacientes con mutaciones somáticas en el exón 19 y 21, ubicadas en el dominio tirosin cinasa del factor de crecimiento epidérmico (EGFR) tratados con TB (20). Estudios fase III realizados posteriormente mostrarían superioridad de las tres principales terapias blanco (gefitinib, erlotinib y afatinib) contra EGFR sobre la quimioterapia convencional (tabla 3) (22-24).

ESTUDIO	TTO	N= (EGFR)	TRO	SLPm
<b>IPASS (2009)</b>	<b>Gefitinib</b> vs CBP-PACLI	261	<b>71.2%</b> vs 47.3%	<b>9.5</b> vs 6.3
<b>WJTOG 3405 (2010)</b>	<b>Gefitinib</b> VS CDDP-DOCE	172	<b>62.1%</b> vs 32.2 %	<b>9.2</b> vs 6.3
<b>NEJGSG00 2</b>	<b>Gefitinib</b> vs CBP-PACLI	224	<b>73.7%</b> vs 30.7%	<b>10.8</b> vs 5.4
<b>EURTAC</b>	<b>Erlotinib</b> vs CDDP-DOCE	173	<b>58.1%</b> vs 14.9%	<b>9.7</b> vs 5.2
<b>OPTIMAL</b>	<b>Erlotinib</b> vs GMZ-CBP	154	<b>83%</b> vs 36%	<b>13.7</b> vs 4.6
<b>LUXLUNG 3</b>	<b>Afatinib</b> vs CDDP-PEMETREXED	345	<b>56%</b> vs 23%	<b>11.1</b> vs 6.9
<b>LUXLUNG 6</b>	<b>Afatinib</b> vs GMZ-CDDP	364	<b>66.9%</b> vs 23%	<b>11.0</b> vs 5.6

Tabla 3. Resumen de los tratamientos anti EGFR en adenocarcinoma pulmonar comparado con quimioterapia clásica

En base a estos estudios la terapia antiEGFR se estableció como el tratamiento estándar en pacientes con CP metastásico con las mutaciones descritas tomando no solo en cuenta los mejores desenlaces oncológicos sino también el mejor perfil de toxicidad, con menos reacciones adversas hematológicas, neuropatía, fatiga y alopecia. La mutación de EGFR esta presente en el 33.2 % de la población mexicana, en el 15 % de la población anglosajona y 40 % de la población asiática. El fenotipo clásico pero no definitivo de pacientes con esta mutación es de mujeres, no fumadoras, de origen asiático con histología de adenocarcinoma. Existen mutaciones en el receptor de EGFR que confieren resistencia a la TB convencionales de primera y segunda generación (gefitinib, erlotinib y afatinib). Particularmente importante es la mutación T790M en el exón 20 de EGFR que predice falta de respuesta a estos fármacos. Para superar la resistencia conferida por esta mutación, se cuenta ahora con un fármaco activo de tercera generación, osimertinib, que ha mostrado ser activo tanto en primera como segunda línea de tratamiento (23).

En una revision sistemática con 96 estudios aleatorizados que utilizó las bases de datos de MEDLINE y EMBASE, en primera línea de tratamiento, mostró evidencia de alta calidad en el uso de anti EGFR como gefitinib, erlotinib, afatinib, dacomitinib e icotinib en pacinetes con mutaciones sensibilizantes de EGFR. Los anti EGFR se asociaron a una mayor probabilidad de tasa de respuesta, mayor probabilidad de supervivencia libre de progresión y mayor calidad de vida. (50)

*Tratamiento para CPCNP de tipo adenocarcinoma con mutación de ALK y otras mutaciones menos frecuentes*

Para los pacientes con adenocarcinoma de pulmón con mutación de ALK, presente en el 2-7 %, crizotinib, alectinib y ceritinib han mostrado mejores desenlaces oncológicos sobre la quimioterapia convencional y constituyen en la actualidad la primera línea de tratamiento. Basados en el estudio ALEX, alectinib supera en términos de desenlaces oncológicos a crizotinib (51,52).

Shaw AT et al. NEJM. 2013	Fase 3 Comparado vs QT Pacientes pretratados	347	SLP 7.7 vs 3 meses TR 65 vs 20 %
Solomon BJ et al. NEJM. 2014	Fase 3 Comparado con QT 1 línea	343	SLP 10.9 vs 7 m TR 74 vs 45 %

## **JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO**

El cáncer de pulmón de células no pequeñas (CPCNP) es la neoplasia que ocasiona más muertes por cáncer a nivel mundial en hombres y mujeres. La mayoría de los casos son diagnosticados en etapas avanzadas, donde la posibilidad de cura es nula con una supervivencia a 5 años del 5 %. El CPCNP ha sido categorizado clásicamente a través de los hallazgos morfológicos y de inmunohistoquímica que el patólogo reporta en adenocarcinoma, cáncer epidermoide, cáncer de células pequeñas y cáncer de pulmón de células grandes. El CPCNP metastásico más frecuente es el adenocarcinoma pulmonar. En la actualidad es posible clasificar el CPCNP metastásico de tipo adenocarcinoma en base a la presencia de mutaciones que conducen a la cascada de eventos moleculares que conforman la carcinogénesis. Ésta clasificación, basada en la genética tumoral, ha mostrado disecar en múltiples subgrupos al CPCNP, mismos que pueden ser susceptibles de tratamientos oncológicos específicos, denominados terapia blanco. El CPCNP con mutación de EGFR es el prototipo de neoplasia pulmonar donde podría considerarse evaluar la posibilidad de tratamientos basados en la genética molecular. La mutación de EGFR es la alteración accionable más frecuente en pacientes con CPCNP, muy por arriba de la frecuencia de el rearreglo de ALK. Además, existe información en población latinoamericana que sugiere una frecuencia de mutación de EGFR mayor comparada con población anglosajona. Además la respuesta clínica en pacientes que presentan estas mutaciones ha conferido en los portadores un aumento en la sobrevida global con un aumento en la mediana del mismo de hasta 54 meses en comparación con el tratamiento mediante quimioterapia, en pacientes sin mutaciones, quienes cuentan con un pedioso de 9 meses, donde relevancia a la determinación de estas mutaciones.



## **PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

Conocer la frecuencia de CPCNP metastásico (etapa IV) de tipo Adenocarcinoma con mutación de EGFR y ALK permitiría una caracterización basada en la genética molecular. En la actualidad, las clasificaciones de las neoplasias malignas tiende a ir más allá de la descripción morfológica y de marcadores de inmunohistoquímica, estrategia que ha permitido encontrar subgrupos de pacientes que se benefician de tratamientos altamente selectivos. En la actualidad los estudios que evalúan la genética molecular de CPCNP metastásico en población mexicana e incluso latinoamericana son escasos. Éste entendimiento profundo de la biología tumoral pulmonar puede conducir a estudios futuros para crear mejores estrategias de diagnóstico y tratamiento.

El panel ideal de genes blanco se expande y es necesario realizar la determinación de estas alteraciones genéticas para lograr identificar una diana terapéutica que permita ofrecer un tratamiento personalizado. Esta identificación del blanco terapéutico específico ideal para cada paciente ha derivado en un aumento en la supervivencia global reportada con una mediana de hasta 54 meses, lo cual contrasta con la información que se lograba con quimioterapia basada en platino que era de tan sólo nueve meses. De esta forma, la determinación de la respuesta al tratamiento dirigido y el tratamiento estándar dependiendo de la presencia o no de mutaciones para determinar si, al existir una mayor proporción de mutación ha habido cambios relevantes en la respuesta al tratamiento valorada de forma objetiva.

## **PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN**

¿Cuál es la frecuencia de mutación de EGFR y ALK en pacientes con adenocarcinoma pulmonar etapa IV en población mexicana y su relación con la supervivencia global y la sobrevida libre de progresión?

### **HIPÓTESIS NULA**

La frecuencia de mutación de EGFR y ALK en pacientes con CPCNP de tipo adenocarcinoma metastásico (etapa IV) en los pacientes atendidos en Centro Médico Nacional Siglo XXI y el Instituto Nacional de Cancerología en el periodo 2013 a 2018 es de 15 – 20% en conjunto, siendo similar a lo reportado en otras series latinoamericanas; además con una respuesta a tratamiento objetiva valorada mediante sobrevida global y supervivencia libre de progresión es similar a lo reportado en la literatura.

### **HIPÓTESIS ALTERNA**

La frecuencia de mutación de EGFR y ALK en pacientes con CPCNP de tipo adenocarcinoma metastásico (etapa IV) en los pacientes atendidos en Centro Médico Nacional Siglo XXI y el Instituto Nacional de Cancerología en el periodo 2013 a 2018 es menor a 15% en conjunto; además con una respuesta a tratamiento objetiva valorada mediante sobrevida global y supervivencia libre de progresión es menor a lo reportado en la literatura.

## **OBJETIVOS.**

### **OBJETIVO PRIMARIO**

Determinar la frecuencia de mutación de EGFR y ALK en pacientes con cáncer de pulmón de células no pequeñas de tipo adenocarcinoma metastásico (etapa IV) atendidos en Centro Médico Nacional Siglo XXI y el Instituto Nacional de Cancerología en el periodo 2013 a 2018.

### **OBJETIVOS SECUNDARIOS**

- 1.-Determinar la frecuencia de delección del exón 21 en pacientes con CPCNP de tipo adenocarcinoma metastásico (etapa IV).
- 2.- Determinar la frecuencia de mutación del exón 19 en pacientes con mutación de EGFR con CPCNP de tipo adenocarcinoma metastásico (etapa IV).
- 3.- Determinar la frecuencia de mutaciones distintas a la delección del exón 21 y mutación del exón 19 de EGFR con CPCNP de tipo adenocarcinoma metastásico (etapa IV).
- 4.- Determinar la frecuencia del gen de fusión específico de ALK en pacientes con CPCNP de tipo adenocarcinoma metastásico (etapa IV).
- 5.- Determinar y comparar la supervivencia global y supervivencia libre de progresión en pacientes con y sin mutaciones de EGFR y ALK en pacientes con CPCNP de tipo adenocarcinoma metastásico (etapa IV) que recibieron tratamiento con quimioterapia
- 6.- Determinar y comparar la supervivencia global y supervivencia libre de progresión en pacientes con y sin mutaciones de EGFR y ALK en pacientes con CPCNP de tipo adenocarcinoma metastásico (etapa IV) que recibieron tratamiento con terapia blanco
7. Determinar y comparar la supervivencia global y supervivencia libre de progresión en pacientes con y sin mutaciones de EGFR y ALK en pacientes con CPCNP de tipo adenocarcinoma metastásico (etapa IV) que recibieron tratamiento con quimioterapia y terapia blanco.

## **MATERIAL Y MÉTODOS**

### **1.- Diseño del estudio.**

Se trata de un estudio de cohorte, retrospectivo, analítico, multicéntrico

#### **a) Universo de trabajo**

Casos con cáncer de pulmón de células no pequeñas de tipo adenocarcinoma metastásico (etapa IV) atendidos en el Hospital de Oncología de Centro Médico Siglo XXI en el periodo de enero de 2013 a enero de 2018. Por otra parte se trabajara de forma conjunta con el Instituto Nacional de Cancerología.

#### **b) Muestra de trabajo**

Casos con cáncer de pulmón de células no pequeñas de tipo adenocarcinoma metastásico (etapa IV) atendidos en el Hospital de Oncología de Centro Médico Siglo XXI en el periodo de enero de 2013 a enero de 2018 con material de patología disponible para su realizar el panel de mutaciones de EGFR y ALK.

#### **c) Tamaño de la muestra**

Para el cálculo de tamaño de muestra se utilizó el programa Epiinfo versión 7, considerando una prevalencia de mutaciones en el gen EGFR del 35 %, un nivel de confianza del 90 % y un margen de error esperado del 5 % de acuerdo con el estudio de realizado en el Instituto Nacional de Cancerología por O Arrieta y colaboradores por lo que se requiere de un total de 246 pacientes.

#### **d) Tipo de muestreo**

Muestreo no probabilístico a conveniencia.

### **2.- Descripción general del estudio**

Ésta descripción general del estudio será atendida por los investigadores ambos centros oncológicos. Las instituciones participantes son centros de tercer nivel que realizan el diagnóstico de cáncer pulmonar de forma idéntica. Esto es, a través de biopsia, estudio de tomografía computarizada y clasificación molecular. Nuestra institución en la actualidad cuenta con este panel de diagnóstico.

Se realizará una búsqueda de los casos de pacientes con adenocarcinoma pulmonar finados, atendidos en el periodo de enero de 2013 a enero de 2018 con material de patología disponible. Se solicitarán las laminillas de revisión y bloques de parafina de los casos identificados. Siendo en nuestra unidad posible realizar la determinación de las mismas mediante el equipo utilizado (Rotor gene Q QIAGEN en caso de mutaciones EGFR y VENTANA ALK (D5F3) CDx Assay en el caso de mutaciones ALK).

#### *Información clínica*

Se recabará la información sobre todos los pacientes, incluyendo las características demográficas, socioeconómicas, la historia médica/oncológica, la información clínica, los métodos de diagnóstico y la información del reporte de patología.

Con el objetivo de realizar la etapificación de la enfermedad deberá ser considerada la Clasificación TNM edición 8 (ver en anexos). Solo serán incluidos casos con enfermedad metastásica (etapa iv).

La información que se recolectará de cada paciente será la siguiente:

- 1.- Factores demográficos: sexo, edad, peso, historial de tabaquismo e índice tabáquico.
- 2.- Los factores socioeconómicos a considerar son: nivel educativo y nivel de ingresos en pesos mexicanos.
3. Historia médica/oncológica: incluye la fecha de diagnóstico del cáncer pulmonar, histología (adenocarcinoma, escamoso) y marcadores moleculares (EGFR, ALK, PD-L1).
4. Fechas de cirugía de cáncer de pulmón, fecha de inicio de tratamiento sistémico.
5. Los tratamientos sistémicos utilizados a considerar son: quimioterapia, terapia blanco e inmunoterapia, según sea el caso.

#### *Información histopatológica y molecular*

Para el diagnóstico histológico se pedirá la participación del Dra De Anda quien es patóloga del Hospital de Oncología, CMN SXXI. La Dra es una patóloga experto en el diagnóstico de éstas neoplasias. Realizará la confirmación histológica del cáncer pulmonar dentro de la misma institución. Las laminillas y bloques de parafina no saldrán del Hospital de Oncología.

Cada hospital sigue los estándares de diagnóstico histológico. El diagnóstico de adenocarcinoma pulmonar y carcinoma epidermoide se lleva a cabo a través de estudios de inmunohistoquímica. Para el caso de carcinoma epidermoide se utilizan los marcadores p63 y p40. Para el diagnóstico de adenocarcinoma pulmonar se utilizan TTF-1, Napsia, Citoqueratinas. No se realizará análisis de concordancia, puesto que no es posible el envío de las muestras para la confirmación central por motivos de factibilidad y recursos económicos.

Más adelante puede observarse a detalle la secuencia en el procesamiento de muestras.

#### *Información de imagen*

Para confirmar la enfermedad metastásica (etapa IV) se pedirá la participación de la Dra Maritza Ocampo quien es médico radiólogo del Hospital de Oncología, CMN SXXI.

Finalmente se hará una comparación de la poblaciones con y sin mutaciones identificadas y de la supervivencia global en las poblaciones con y sin mutaciones de ALK y EGFR.

#### ***Determinación de mutaciones de EGFR y ALK***

En el momento actual se cuenta con la infraestructura para la determinación de las mutaciones de EGFR y ALK en ambos hospitales y de forma independiente.

Procesamiento de las muestras

Extracción de DNA

Se realizarán cortes de 10 µm de espesor dependiendo del tamaño de la muestra para la extracción de ADN. Se desparafinan las muestras con xilol y posteriormente se procesan con el Kit Wizard de Promega de acuerdo a las instrucciones del fabricante. El ADN extraído se cuantifica en el espectrofotómetro EPOCH, se seleccionarán muestras con pureza de 1.8 a 2.0 y concentración mayor a 50 ng/µL, para la amplificación por PCR.

Plataforma, manufactura y metodología según mutación

Las pruebas serán realizadas con insumos certificados por la FDA y por las instituciones regulatorias en México.

Se utilizará, para EGFR la plataforma Therascreen EGFR RQG y Roto-Gene Q. La manufactura estará a cargo de Qiagen. La qPCR a realizar buscará deleciones en el exon 19, mutación en L858R, G719X, S7681, inserciones en el exón 20 y T790 en el exón 20-

Para ALK se utilizará la plataforma ALK D5F3 y la ventana XT. La manufactura estará a cargo de Ventana. Se realizará inmunohistoquímica para la búsqueda del rearrreglo de ALK-EML-4.

**Evaluación de la respuesta a tratamiento, supervivencia libre de progresión y supervivencia global.**

1. Se consignará la fecha de progresión de la enfermedad metastásica.
2. Se consignará la fecha de la primera y última dosis administrada en cada línea de tratamiento.
3. Mejor respuesta al tratamiento catalogada como enfermedad estable, progresión de la enfermedad, respuesta parcial o respuesta completa
- 4.- Fechas de progresión de la enfermedad en cada línea de terapia.
- 5.- Fecha de muerte.

Para la evaluación de la respuesta se revisarán los estudios de tomografía basal y de control posterior al inicio de tratamiento con primera línea de tratamiento sistémico. La tomografía basal será la que se realice previo al inicio de tratamiento sistémico, con un máximo de 4 semanas previas.

Se considerará como Paciente evaluable por RECIST a todo paciente que cuente con al menos una tomografía realizada previo al inicio de tratamiento sistémico. En caso de no contar con tomografía o en caso de que ésta se haya realizado fuera de estos rangos de tiempo, los pacientes serán categorizados de la siguiente manera:

- Paciente no evaluable para respuesta por RECIST. Paciente sin estudio de tomografía previo al inicio de tratamiento sistémico.

Serán consideradas tomografías o estudios de tomografía por emisión de positrones (PET) realizados dentro o fuera de la institución, siempre y cuando permitan llevar a cabo la medición de la respuesta por RECIST en los tiempos previamente descritos. Serán consideradas tomografías con contraste (oral, intravenoso o ambos) o sin medio de contraste aplicado.

La medición de la respuesta a tratamiento será llevada a cabo por la Dra. Celene Maritza Peña Campos quien es Adscrita al Servicio de Radiología e Imagen, quien cuenta con amplia experiencia en el uso de RECIST.

Se considerará enfermedad medible la presencia de al menos una lesión con un mínimo de 10 mm en el diámetro mayor por tomografía o PET. Las lesiones medibles a considerar serán las siguientes:

- Ganglios linfáticos malignos. Se considerarán ganglios patológicos los ganglios linfáticos de más de 15 mm en el eje corto medido por tomografía o PET. En el seguimiento, solo el eje corto del ganglio será medido
- Lesiones líticas óseas o lesiones óseas mixtas (líticas y blásticas). Lesiones identificadas por tomografía o PET que tienen un componente de tejido blando que cumple con la definición de enfermedad medible



La enfermedad no medible es: enfermedad leptomenígea, ascitis, derrame pleural, derrame pericárdico, infiltración en piel, infiltración linfagítica. Se considerarán también como enfermedad no medible las lesiones óseas blásticas que no tienen componente de tejido blando medible.

#### *Lesiones blanco (Target lesions)*

De todas las lesiones medibles se eligieran las representativas de todos los órganos involucrados. Se medirán un máximo de dos lesiones por órgano y cinco lesiones en total. Estos datos se registrarán en el estudio de tomografía basal y en los estudios tomográficos subsecuentes. Las lesiones blanco serán seleccionadas en base al tamaño de la lesión (las lesiones con el diámetro más grande) y serán representativas de todos los órganos involucrados. Todas las mediciones serán consignadas en la hoja de recolección correspondiente.

La suma de todos los diámetros (el más largo para las lesiones no ganglionares, el más corto para las lesiones ganglionares) de todas las lesiones blanco será calculada y reportada como la *suma basal de diámetros*, la cual será utilizada como referencia para mediciones posteriores. La *suma final de diámetros* será la obtenida con el primer estudio tomográfico de evaluación de respuesta posterior al estudio tomográfico basal realizado en los tiempos previamente descritos.

Las lesiones no blanco serán las lesiones no medibles descritas como *enfermedad no medible* (descrita previamente). Estas lesiones serán registradas, sin embargo no será necesaria su medición. En los casos en que no estuvieran presentes previamente, representarán sitios de progresión de la enfermedad.

#### *Criterios de respuesta por RECIST modificado*

**Respuesta completa.** Desaparición de todas las lesiones blanco. Cualquier ganglio patológico debe tener una reducción en su eje corto a menos de 10 mm.

**Respuesta parcial.** Decremento del 30 % en la suma de los diámetros de las lesiones blanco, tomando como referencia la suma basal de diámetros comparada con la suma final.

**Progresión de la enfermedad.** Un aumento del 20 % en la suma de diámetros de las lesiones blanco, tomando como referencia la suma basal de diámetros comparada con la suma final.

**Enfermedad estable.** La presencia de un cambio en la suma de diámetros de las lesiones blanco que no califica para respuesta parcial ni progresión de la enfermedad.

### **3.- Criterios de inclusión y exclusión.**

Serán incluidos todos los casos comprendidos en el rango de tiempo de enero de 2013 a enero de 2018 y que cuenten con el diagnóstico confirmado de CPCNP de tipo adenocarcinoma metastásico pulmonar (etapa IV) con laminillas de revisión/bloques de parafina suficientes para su análisis.

#### Criterios de inclusión

1. Pacientes de 18 años de edad o mayores
2. Pacientes de ambos sexos
3. Cáncer de pulmón de células no pequeñas (NSCLC) confirmado histológicamente o citológicamente:
4. Enfermedad metastásica en estadio IV
5. Subtipo histológico de NSCLC de tipo adenocarcinoma
6. Pacientes asignados por el médico tratante a cualquier terapia (es decir, quimioterapia, agentes dirigidos, inmunoterapia) o cuidados paliativos.
7. Material suficiente para la determinación de las características moleculares de acuerdo con criterios establecidos por el equipo utilizado (Rotor gene Q QIAGEN en caso de mutaciones EGFR y VENTANA ALK (D5F3) CDx Assay en el caso de mutaciones ALK)

#### Criterios de exclusión

- 1.- Casos de neoplasias pulmonares con histologías epidermoides
- 2.- Casos de neoplasias de tipo adenocarcinoma de primarios no pulmonares diferentes a la descrita, sin material de patología
- 3.- Pacientes con insuficiente muestra para su análisis molecular.

## 5. Definición de variables

	<b>DEFINICIÓN</b>	<b>TIPO DE VARIABLE</b>	<b>RELACIÓN</b>	<b>ESCALA</b>
EDAD	AÑOS CUMPLIDOS EN EL MOMENTO DEL ESTUDIO	CUANTITATIVA DISCRETA	DESCRIPTIVA	< 20 AÑOS 21-30 AÑOS 31-40 AÑOS 41-50 AÑOS 51-60 AÑOS 61-70 AÑOS MAYOR 70 AÑOS
GENERO	CARACTERISTICAS FENOTIPICAS DEL INDIVIDUO	CUALITATIVA NOMINAL	DESCRIPTIVA	MASCULINO FEMENINO
MODALIDAD DE TRATAMIENTO: QUIRÚRGICO	RESECCIÓN QUIRURGICA DEL TUMOR DE TÓRAX	CUALITATIVA DICOTÓMICA	CONFUSORA	SI NO
MODALIDAD DE TRATAMIENTO: QUIMIOTERAPIA	TIPO DE TRATAMIENTO DE QUIMIOTERAPIA RECIBIDO POR EL PACIENTE	CUALITATIVA NOMINAL	CONFUSORA	CISPLATINO CARBOPLATINO PEMETREXED GEMCITABINA VINOURELBINE
MODALIDAD DE TRATAMIENTO RADIOTERAPIA	TRATAMIENTO CON RADIACIÓN IONIZANTE A TUMOR PRIMARIO DE TÓRAX	CUALITATIVA DICOTOMICA	CONFUSORA	SI NO

TABAQUISMO	HISTORIA O HÁBITO ACTUAL DE CONSUMO DE TABACO CORRESPONDIENTE A UN CIGARRILLO DIARIO POR 1 O MÁS AÑOS.	CAULITATIVA DICOTOMICA	CONFUSORA	SI NO
MUTACION DE EGFR	PRESENCIA DE MUTACIÓN EN LOS EXONES 18-21 DETERMINADA POR TÉCNICA DE PCR	CUALITATIVA DICOTÓMICA	INDEPENDIENTE	SI NO
TIPO DE MUTACION DE EGFR	DESCRIPCION DE LA MUTACION DE EGFR ESPECÍFICA	CUALITATIVA NOMINAL	INDEPENDIENTE	DELECIÓN EXON 19 MUTACION EXON 21 MUTACION EXON 20 T790M MUTACIÓN EXÓN 18
MUTACIÓN COMPLEJA DE EGFR	PRESENCIA DE MÁS DE UNA MUTACIÓN DE EGFR	CUALITATIVA NOMINAL	INDEPENDIENTE	TODAS LAS COMBINACIONES POSIBLES DE LAS MUTACIONES DE LOS EXONES 18-21
REARREGLO DE ALK	PRESENCIA DEL REARREGLO DE ALK-EML-4 DETERMINADO POR	CUALITATIVA DICOTÓMICA	INDEPENDIENTE	SI NO

	INMUNOHISTOQUÍMICA			
SOBREVIDA GLOBAL	NÚMERO DE PACIENTES VIVOS AL TÉRMINO DEL PERÍODO DE OBSERVACIÓN, CON ENFERMEDAD O SIN ELLA	CUANTITATIVA NOMINAL	DEPENDIENTE	CUALQUIER CIFRA DE TIEMPO DE SOBREVIDA EN MESES
SUPERVIVENCIA LIBRE DE PROGRESION	CANTIDAD DE TIEMPO DURANTE Y DESPUÉS DEL TRATAMIENTO EN EL QUE LA ENFERMEDAD NO MEDIDA POR CRITERIOS CLINICOS Y DE IMAGEN	CUANTITATIVA NOMINAL	DEPENDIENTE	CANTIDAD DE TIEMPO EN MESES HASTA LA PROGRESION

## ANÁLISIS DE DATOS

### Forma de captura

Los datos recolectados durante este estudio se ingresarán en una base de datos segura.

El acceso al sistema de Captura Electrónica de Datos (CED) se controlará mediante nombre de usuario y contraseña. El nombre del paciente no se registrará en CED. Se atribuirá un número de identificación secuencial a cada paciente inscrito. Este número identificará al paciente. Con los medios para evitar errores de identificación, se registrarán el código del paciente, sus iniciales y la fecha de nacimiento.

### Documentos fuente

La documentación fuente se refiere a los registros originales de observaciones, hallazgos clínicos y evaluaciones que se registran posteriormente como datos. La documentación fuente estará disponible para respaldar el registro de investigación del sujeto cuando sea necesario.

### **Análisis estadístico.**

Se utilizará estadística descriptiva con porcentajes y frecuencias para describir la distribución de mutaciones de EGFR y ALK en las pruebas realizadas. Posteriormente se realizará una comparación entre los grupos de pacientes con y sin las mutaciones de EGFR y ALK.

Se considerará estadísticamente significativo un nivel de confianza del 95% con un valor  $p < 0.05$ . Para el análisis se utilizará el software SPSS versión 21.0 (IBM Corporation, Armonk, NY, USA).

Supervivencia global y supervivencia libre de progresión.

Todos los análisis estadísticos se realizarán con SPSS. Tanto la supervivencia global y la supervivencia libre de progresión se estimarán utilizando el método de Kaplan-Meier. Para el cálculo de la supervivencia global se tomarán en cuenta la fecha de diagnóstico histológico y la fecha de muerte por cualquier causa.

Por otra parte, para la supervivencia libre de progresión, se tomará en cuenta la fecha de inicio de tratamiento sistémico y la fecha de progresión radiológica. Los datos de pacientes sin progresión de la enfermedad o que no cuenten con seguimiento en el expediente serán censurados en el momento de la última imagen del tumor para estimar la supervivencia libre de progresión.

Los datos de pacientes que se documente en el expediente con el estatus de vivos sin evidencia de progresión de la enfermedad serán censurados en el momento de la última evaluación radiográfica que muestre respuesta. Los análisis para la OS se realizarán de manera global y separado según la institución correspondiente. La razón de tasas que comparan las estrategias de tratamiento se estimarán a partir de los modelos de regresión de Cox ajustados por factores de confusión.

La selección de factores de confusión variará de acuerdo al modelo y dependerá de los

tratamientos que se comparen. Los candidatos incluirán la edad, la presencia de metástasis hepáticas, el dolor, el estado de desempeño (ECOG).

Debido a que el tratamiento para el cáncer pulmonar avanzado puede ser diferente según la institución, éste factor será considerado también como factor confusor. Se usará el análisis multivariado para identificar los factores pronósticos de supervivencia usando la regresión de Cox.



## **ASPECTOS ÉTICOS**

El protocolo será sometido a evaluación por parte de la CNIC. El presente estudio y los procedimientos propuestos se apegan al Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud, así como con la declaración de Helsinki y sus enmiendas de acuerdo con los siguientes apartados:

### **Riesgos del estudio**

Al tratarse de un estudio de cohorte retrospectiva sin intervención, para medir la frecuencia de la mutación EGFR y ALK, así como la determinación de la supervivencia global y la supervivencia libre de progresión, se trata de un estudio de riesgo mínimo.

La información recabada del archivo clínico estará resguardada por el Dr Rogelio Trejo. En ningún momento se divulgará el nombre de los pacientes. Sólo el equipo de investigación tendrá acceso a la información clínica y de patología así como a los resultados del estudio. Toda la información será tratada con la confidencialidad necesaria de acuerdo con los principios de bioética vigentes consignados en la Ley General de Salud y la Declaración de Helsinki.

### **Protección a los participantes**

Se solicitará aprobación por el Comité Nacional de Investigación en Salud. Se desarrollarán todas las fases de la investigación de acuerdo con la Declaración de Helsinki y al reglamento de la Ley General de Salud vigente

### **Beneficios**

El éxito del estudio potencialmente puede impactar en el mejor conocimiento de los pacientes con adenocarcinoma pulmonar metastásico. Elevar el conocimiento de histológico a molecular podría permitir el desarrollo de mejores estrategias de tratamiento en el futuro.

### **Selección de participantes**

Todos los sujetos con cáncer de pulmón de células no pequeñas metastásico (etapa IV) atendidos en el Hospital de Oncología, Centro Médico Nacional Siglo XXI podrán ser incluidos.

### **Balance riesgo beneficio**

Debido a que se trata de una enfermedad con un pronóstico malo, donde la información prospectiva es escasa y a que se trata de un estudio sin riesgo, el balance se inclina al beneficio.

El resultado de este estudio podría mejorar el pronóstico en el futuro de enfermos con esta patología.

### **Confidencialidad**

La información recabada estará resguardada por Dr Rogelio Trejo. En ningún momento se divulgará el nombre de los pacientes. Todos los datos serán anónimos. Sólo el equipo de investigación tendrá acceso a la información clínica y de patología, así como a los resultados del estudio. Las hojas de recolección de datos serán identificadas con un folio numérico consecutivo que corresponderá con los datos que puedan identificar al sujeto de estudio y solo el equipo de investigación tendrá acceso a los mismos. Toda la información será tratada con la confidencialidad necesaria de acuerdo con los principios de bioética vigentes consignados en la Ley General de Salud y la Declaración de Helsinki.

## **CONSIDERACIONES DE BIOSEGURIDAD**

Debido a que para el diagnóstico histológico se pedirá la participación de la Dra De Anda quien es patólogo del Hospital de Oncología, CMN SXXI, experta en el diagnóstico de estas neoplasias y será el encargado de realizar la confirmación histológica del cáncer pulmonar dentro de la misma institución y que por lo tanto las laminillas y bloques de parafina no saldrán del Hospital de Oncología, se realizará una Carta de no implicaciones de bioseguridad.

## **RECURSOS, FINANCIAMIENTO Y FACTIBILIDAD**

### **Recursos humanos:**

El Dr Samuel Rivera participará en los procesos de selección, solicitud, cuidado y envío las laminillas de revisión, análisis de resultados así como la presentación de los mismos. El donativo del equipo para la realización de las pruebas está bajo resguardo del Dr Rivera

El Dr Rogelio Trejo realizará la recolección de datos así como en la selección, solicitud, cuidado y envío las laminillas de revisión, análisis de resultados así como la presentación de los mismo.

La Dra Celene Maritza Ocampo se encargará de la revisión de los estudios de imagen para la confirmación de la etapa IV (o enfermedad metastásica) y de la revisión de los estudios subsecuentes para determinar el tipo de respuesta.

La Dra Jazmin de Anda es patóloga adscrito al Servicio de Patología de Centro Médico Nacional Siglo XXI y tiene experiencia en el diagnóstico de cáncer pulmonar por patología. Tiene experiencia en estudios retrospectivos previos.

El Dr Odilón Félix Quijano Castro es Coordinador de Educación en el Hospital de Oncología, Centro Médico Nacional Siglo XXI. Tiene una maestría en Ciencias y amplia experiencia en estudios clínicos de carácter retrospectivo y prospectivo.

El Dr Oscar Arrieta tiene un doctorado en ciencias médicas. Realizará la recolección de datos de pacientes con Cáncer de Pulmón en el Instituto Nacional de Cancerología. Tiene amplia experiencia en estudios prospectivos y retrospectivos.

El Dr Eduardo Sánchez Román es residente de primer año de Oncología Médica y se encargará de la recolección de información. Tiene experiencia en el manejo clínico de pacientes con cáncer pulmonar.

### **Recursos físicos**

El estudio será llevado a cabo en el departamento de Oncología Médica. Se requerirá también de un espacio para la revisión de expedientes físico y electrónico para la extracción de información clínica relevante para el estudio.

Los análisis mutacionales se pueden llevar a cabo desde Enero de 2020 en nuestra unidad en el Hospital de Oncología, Centro Médico Nacional Siglo XXI. De forma independiente, las dos instituciones participantes determinarán las mutaciones en EGFR y ALK. Éste proceso no tiene costo alguno. Para el financiamiento de los insumos para la realización de pruebas se solicitará financiamiento a través de las convocatorias del Instituto Mexicano del Seguro social.

Será necesario equipo de computo para el registro de datos y análisis de los mismo. Para el análisis se utilizará el software SPSS versión 21.0

El Hospital de Oncología Centro Médico Siglo XXI cuenta con los siguientes recursos:

- 1.- Consultorios
- 2.- Área de toma de muestras y laboratorio clínico
- 3.- Área de diagnóstico anatomopatológico.
- 4.- Área de diagnóstico imagenológico. Incluye
  - a) un equipo para tomografía axial computarizada
  - b) un equipo para resonancia magnética
  - c) 3 equipos para ultrasonografía
  - d) un equipo para diagnóstico por medicina nuclear
  - e) 5 equipos para el diagnostico por rayos X
5. Área para la realización de broncoscopía.
- 6.- Área para la preparación, administración y vigilancia de reacciones adversas de quimioterapia
- 7.- Área de radioterapia y radiocirugía.
  - a) 5 aceleración lineales
  - b) 1 Cyberknife

### **Recursos económicos**

Se buscará financiamiento en las convocatorias del Instituto Mexicano del Seguro Social para realizar las pruebas mutacionales. No se requieren recursos adicionales para la recolección de datos y el análisis de los mismos, procedimientos que se llevarán a cabo por el Dr Samuel Rivera y el Dr Rogelio Trejo.

### **Factibilidad**

El cáncer pulmonar de células no pequeñas, es una de las neoplasias más comunes en el mundo, con aproximadamente cerca de 2 millones de casos nuevos al año. La frecuencia exacta en Latinoamérica se desconoce, sin embargo según las cifras del GLOBOCAN, el cáncer de pulmón de células no pequeñas es también una de las neoplasias más comunes.

Los recursos humanos y materiales hacen factible el estudio. El Hospital de Oncología en Centro Médico Nacional Siglo XXI es un centro de referencia para pacientes con cáncer pulmonar. En el Hospital de Oncología del CMNSXXI, los casos de tumores torácicos representan el 15-20 % de todas las causas de ingreso. Si en promedio se tienen 1,000 casos nuevos anuales, se prevé una aproximado de 150-200 casos nuevos anuales de pacientes con cáncer pulmonar.

## RESULTADOS

Se realizó el análisis de un total de 1243 pacientes con diagnóstico de cáncer de pulmón de células no pequeñas tratados durante el periodo de 2013 a 2018 en el Instituto Nacional de Cancerología y en el Centro Médico Nacional Siglo XXI de Instituto Mexicano del Seguro Social de la Ciudad de México. La mediana de edad al diagnóstico fue de 62 años (rango 18-97 años), el resto de las características se refieren en tabla anexa.

El antecedente de tabaquismo fue positivo en un 47.7% (n= 665) con índice tabáquico medio de 14.5 paquetes/año (0.1 a 100 paquetes/año). Determinamos el antecedente a exposición de humo de leña siendo positivo en el 22.1% (n= 275) de los pacientes con un índice de exposición variable (2 a 700 horas/año).

El adenocarcinoma fue la histología más frecuente en 81.7 % de los casos (n=1015). La etapa clínica al momento del diagnóstico correspondió en un 89.3% de los pacientes a EC IV (n=1110).

El estatus de EGFR, ALK y KRAS fue determinado en el grupo de pacientes con Adenocarcinoma. El estatus para EGFR, ALK, KRAS fue positivo en 18.7%, 2% y 0.1%. El 52.8% de los casos en los que se estudió PD-L1 fue positivo. La expresión mayor al 50 % estuvo presente en 51.06 % (24 casos).

<b>Características clínicas</b>			
Variable		n=1243	%
Sexo	Femenino	665	53.5%
	Masculino	578	46.5%
Edad (años)	Mediana	62	
Tabaquismo	Presente	593	47.7 %
	Ausente	614	49.4%

	No determinado	36	2.9%
Exposición a humo de leña	Presente	275	22.1%
	Ausente	691	55.6%
	No determinado	277	22.3%
ECOG	0-1	958	77%
	2-4	285	23%
Etapa clínica	I	2	0.2%
	II	5	0.4%
	III	126	10.1%
	IV	1110	89.3%
Tipo histológico	Adenocarcinoma	1015	81.7%
	Epidermoide	228	18.3%

GEN	VALOR	n (1015)	%
EGFR	Indeterminado	120	11.8%
	Determinado	895	88.2%
	Positivo	190	18.7%
	Negativo	705	69.5 %
ALK	Indeterminado	891	10.3%
	Determinado	124	89.7%
	Positivo	19	2%
	Negativo	105	10.3%
KRAS	Indeterminado	961	94.7%
	Determinado	54	1.9%
	Positivo	1	0.1%



	Negativo	53	5.2%
PDL-1	Indeterminado	926	91.2%
	Determinado	89	8.8%
	Positivo	47	4.2%
	Negativo	42	4.6%

La presencia de mutación EGFR fue mayoritariamente en pacientes mujeres (23.8% vs 14% OR 1.9 IC95% 1.39 – 2.61  $p < 0.0001$ ), en pacientes con tabaquismo negativo (23.8% vs 14% OR 1.69 IC 95% 1.31 – 2.2  $p < 0.001$ ) y en aquellos con exposición a humo de leña (19.1% vs 11.1% OR de 1.89 IC 95% 1.25 - 2.58  $p = 0.004$ ).

Los rearrreglos ALK fueron positivos con mayor frecuencia en pacientes con tabaquismo negativo (17 vs 4.9% OR 3.46 IC 95% 1.33 vs 8.98  $p = 0.005$ ).

No se encontró asociación entre estatus mutacional de KRAS (OR 1.3; IC 0.139-12.5;  $p = 0.53$ ) o con la expresión de PD-L1 (OR 0.6; IC 0.25-1.4;  $p = 0.21$ ).

Para evaluar la independencia de los factores de riesgo se realizó un análisis multivariado con regresión logística binaria incluyendo entre los factores el sexo, humo de leña, tabaquismo, confirmando la independencia de las variables de sexo, tabaquismo y humo de leña con un OR de 0.027, 0.0045 y 0.025.

El tratamiento que recibieron los pacientes en primera línea de manejo fue con Quimioterapia en un 63% de los pacientes ( $n = 784$ ), terapia blanco molecular con TKI anti EGFR 8.05% ( $n = 105$ ), terapia contra PDL1 en 1.7% ( $n = 22$ ), mejores cuidados de soporte en 17.9% ( $n = 223$ ) y no determinado por pérdida de seguimiento en 9.28% ( $n = 109$ ), encontrando una Sobrevida libre de progresión en general de 10.6 meses, con una sobrevida de 9.2 meses en los pacientes que recibieron quimioterapia contra 11.1 meses en aquellos con terapia blanco anti EGFR lo cual no fue estadísticamente significativo (OR 0.87, IC 0.87 – 1.93  $p = 0.211$ ), sin una diferencia en sobrevida global entre los que recibieron

tratamiento dirigido contra los que recibieron quimioterapia con una Sobrevida Global de 18.7 meses en los pacientes que recibieron quimioterapia contra 19.2 meses en aquellos que recibieron terapia dirigida.

## CONCLUSIONES.

El cáncer de pulmón de tipo adenocarcinoma está asociado a factores de riesgo como lo son el lugar geográfico, la exposición a humo de leña, el género y los hábitos, siendo el principal a nivel mundial y en nuestro país el tabaquismo.

Con respecto a la determinación del perfil mutacional se realizó en pacientes con histologías confirmatorias NSLCC, demostrando respecto a la mutación en el gen EGFR, que resalta un porcentaje de expresión menor, encontrándose positividad en un 18.7% con respecto al 34.3% en otros estudios en nuestro país pero con similitud en población anglosajona, en los cuales la prevalencia oscila entre 12-15%. Además, obtenemos información importante sobre factores de riesgo, corroborando mayor expresión en mujeres, la ausencia de tabaquismo en pacientes con mutación y la relación positiva entre exposición a humo de leña y el gen mutado. Adicionalmente, se realizaron determinaciones de biomarcadores moleculares, encontrando positividad de ALK, KRAS y expresión de PDL-1 positiva con resultados similares a lo que se reporta en la literatura mundial (13); sin embargo, estos últimos resultados deben tomarse con reserva ya que fueron realizados en menor proporción de pacientes.

Esta información corrobora datos importantes sobre la epidemiología del cáncer pulmonar en nuestro país en relación a las mutaciones y el desarrollo en el entorno actual; además proporciona información importante debido a que en este estudio no existió beneficio en supervivencia libre de progresión en aquellos que recibieron tratamiento con terapias blanco contra los que recibieron quimioterapia sin beneficio en supervivencia global entre ambos grupos independientemente de la presencia de las mutaciones, siendo esto relevante ya que al momento del diagnóstico de la mayoría de los pacientes no se encontraba aun disponible en ambas unidades el tratamiento con terapias dirigidas contra las mutaciones, y, en aquellos donde se tenía este tratamiento existieron algunas inconsistencias en el seguimiento y continuidad de los manejos. Esto destaca la necesidad continuar con la realización de estudios de este tipo en la actualidad ante la estandarización del manejo de estos pacientes y la disponibilidad de los tratamientos en la actualidad.

## BIBLIOGRAFÍA.

1. Sano H. International Comparisons of Cumulative Risk of Lung Cancer, from Cancer Incidence in Five Continents Vol. VIII. *Jpn J Clin Oncol.* 2006;36(5):334-335.
2. Siegel R, Ma J, Zou Z, Jemal A. Cancer statistics, 2014. *CA Cancer J Clin.* 2014;64(1):9-29.
3. Mathers CD, Fat DM, Inoue M, Rao C, Lopez AD. Counting the dead and what they died from: An assessment of the global status of cause of death data. *Bull World Health Organ.* 2005;83(3):171-177.
4. Alberg AJ, Samet JM. Epidemiology of lung cancer. *Chest.* 2003;123(1 Suppl):21S-49S.
5. Couraud S, Zalcman G, Milleron B, Morin F, Souquet PJ. Lung cancer in never smokers - A review. *Eur J Cancer.* 2012;48(9):1299-1311.
6. <http://ser.cancer.gov/faststats>
7. Hecht SS. Lung carcinogenesis by tobacco smoke. *Int J Cancer.* 2012; 131:2724-32
8. Hecht SS, Szabo E. Fifty years of tobacco carcinogenesis research: from Mechanisms to early detection and prevention of lung cancer. *Cancer Prev Res.* 2014; 7(1):1-8.
9. Rodgman A, Perfetti T. The chemical components of tobacco and tobacco smoke. CRC Press, 2009. 1483-1784
10. Arrieta O, Cardona AF, Federico Bramuglia G, et al. Genotyping Non-small Cell Lung Cancer (NSCLC) in Latin America. *J Thorac Oncol.* 2011;6(11):1955-1959.
11. Stevens GA, Dias RH, Ezzati M. The effects of 3 environmental risks on mortality disparities across Mexican communities. *Proc Natl Acad Sci.* 2008 4; 105 (44): 16860-16865.
13. [www.who.int/airpollution/ambient/health-impacts](http://www.who.int/airpollution/ambient/health-impacts)
14. Raaschou-Nielsen O, Andersen ZJ, Beelen R, et al. Air pollution and lung cancer incidence in 17 European cohorts: Prospective analyses from the European Study of Cohorts for Air Pollution Effects (ESCAPE). *Lancet Oncol.* 2013;14(9):813-822.
15. Residential radón and lung cáncer in never smokers. A systematic review. *Cancer Letter.* 2014 1; 345 (1): 21-6

16. Travis WT, Brambilla E, Nicholson AG, et al. The 2015 World Health Organization Classification of Lung Tumors. *J Thorac Oncol*. 2015;10:1243-1260
17. Ohtsuka K, Ohnishi H, Furuyashiki G, et al. Clinic-pathological and biological significance of tyrosine kinase domain gene mutations and overexpression of epidermal growth factor receptor for lung adenocarcinoma. *J Thorac Oncol*. 2006; 1(8):787–795.
18. Liu Y, ML Xu, Zhong HH, et al. EGFR mutations are more frequent in well-differentiated than in poor-differentiated lung adenocarcinomas. *Pathol Oncol Res*. 2008;14(4): 373-379.
19. Mok TS, Wu YL, Thongprasert S, et al. Gefitinib or carboplatin-paclitaxel in pulmonary adenocarcinoma. *N Engl J Med*. 2009; 361(10):947–957.
20. Higematsu H, Lin L, Takahashi T, et al. Clinical and biological features associated with epidermal growth factor receptor gene mutations in lung cancers. *J Natl Cancer Inst*. 2005; 97(5):339–346.
21. Rosell R, Moran T, Queralt C, et al. Screening for epidermal growth factor receptor mutations in lung cancer. *N Engl J Med*. 2009; 361(10):958–967.
22. Lynch TJ, Bell DW, Sordella R, et al. Activating Mutations in the Epidermal Growth Factor Receptor Underlying Responsiveness of Non–Small-Cell Lung Cancer to Gefitinib. *N Engl J Med*. 2004;350(21):2129-2139.
23. Jänne PA, Yang JC-H, Kim D-W, et al. AZD9291 in EGFR Inhibitor–Resistant Non–Small-Cell Lung Cancer. *N Engl J Med*. 2015;372(18):1689-1699.
24. Pirker R, Herth FJ, Kerr KM, Filipits M, Taron M, Gandara D, et al. Consensus for EGFR Mutation Testing in Non-small Cell Lung Cancer. Results from a European Workshop. *J Thorac Oncol*. 2010;5:1706—13.
25. Eberhard DA, Giaccone G, Johnson BE, Non-Small-Cell Lung Cancer Working Group. Biomarkers of response to epidermal growth factor receptor inhibitors in Non-Small-Cell Lung Cancer Working Group: standardization for use in the clinical trial setting. *J Clin Oncol*. 2008;26:983—94.
26. Lee HJ, Xu X, Choe G, Chung DH, Seo JW, Lee JH, et al. Protein overexpression and gene amplification of epidermal growth factor receptor in non-small cell lung carcinomas:

Comparison of four commercially available antibodies by immunohistochemistry and fluorescence in situ hybridization study. *Lung Cancer*. 2010;68:375—82.

27. Mathieu A, Weynand B, Verbeken E, Da Silva S, Decaestecker C, Salmon I, et al. Comparison of four antibodies for immunohistochemical evaluation of epidermal growth factor receptor expression in non-small cell lung cancer. *Lung Cancer*. 2010;69:46—50.

28. Brevet M, Arcila M, Ladanyi M. Assessment of EGFR mutation status in lung adenocarcinoma by immunohistochemistry using antibodies specific to the two major forms of mutant EGFR. *J Mol Diagn*. 2010;12:169—76.

29. Kawahara A, Yamamoto C, Nakashima K, Azuma K, Hattori S, Kashihara M, et al. Molecular diagnosis of activating EGFR mutations in non-small cell lung cancer using mutation-specific antibodies for immunohistochemical analysis. *Clin Cancer Res*. 2010;16:3163—70.

30. Daniele L, Cassoni P, Bacillo E, Cappia S, Righi L, Volante M, et al. Epidermal growth factor receptor gene in primary tumor and metastatic sites from non-small cell lung cancer. *J Thorac Oncol*. 2009;4:684—8.

31. Savic S, Tapia C, Grilli B, Ruffe A, Bihl MP, de Vito Barascud A, et al. Comprehensive epidermal growth factor receptor gene analysis from cytological specimens of non-small-cell lung cancers. *Br J Cancer*. 2008;98:154—60.

32. Gomez-Roca C, Raynaud CM, Penault-Llorca F, Mercier O, Commo F, Morat L, et al. Differential expression of biomarkers in primary non-small cell lung cancer and metastatic sites. *J Thorac Oncol*. 2009;4:1212—20.

33. Nishimura H, Nakajima T, Itakura M, Shingyoji M, Iizasa T, Kimura H. Successful treatment of lung cancer with gefitinib and EGFR mutation status determination using EBUS-TBNA samples in an extremely old patient. *Intern Med*. 2009;48:1905—7.

34. Solomon SB, Zakowski MF, Pao W, Thornton RH, Ladanyi M, Kris MG, et al. Core needle lung biopsy specimens: adequacy for EGFR and KRAS mutational analysis. *AJR Am J Roentgenol*. 2010;194:266—9.

35. Nicholson AG, Gonzalez D, Shah P, Pynegar MJ, Deshmukh M, Rice A, et al. Refining the diagnosis and EGFR status of non-small cell lung carcinoma in biopsy and cytologic mate-

rial, using a panel of mucin staining, TTF-1, cytokeratin 5/6, and P63, and EGFR mutation analysis. *J Thorac Oncol*. 2010;5:436—41.

36. Solomon BJ, Mok T, Kim D-W, et al. First-Line Crizotinib versus Chemotherapy in ALK-Positive Lung Cancer. *N Engl J Med*. 2014;371(23):2167-2177.

37. Salido M, Pijuan L, Martinez-Aviles L, et al. Increased ALK gene copy number and amplification are frequent in non-small cell lung cancer. *J Thorac Oncol*. 2011;6(1):21-27.

38. Sasaki T, Rodig SJ, Chirieac LR, et al. The biology and treatment of EML4-ALK non-small cell lung cancer. *Eur J Cancer*. 2010;46:1773-1780.

39. Takeuchi K, Choi YL, Soda M, et al. Multiplex reverse transcription-PCR screening for EML4-ALK fusion transcripts. *Clin Cancer Res*. 2008;14(20):6618-6624.

40. Lindeman N, Cagle PT, Beasley MB, et al. Molecular testing guideline for selection of lung cancer patients for EgFR and ALK tyrosine kinase inhibitors: guideline from the College of American Pathologists, International Association for the Study of Lung Cancer, and Association for Molecular Pathology. *J Thorac Oncol*. 2013;8(7):823-859.

41. Yi E, Boland JM, Maleszewski JJ, et al. Correlation of IHC and FISH for ALK gene rearrangement in non-small cell lung carcinoma: IHC score algorithm for FISH. *J Thorac Oncol* 2011;6:459-465.

42. Takeuchi K, Choi YL, Togashi Y, et al. KIF5B-ALK, a novel fusion oncokine identified by an immunohistochemistry-based diagnostic system for ALK-positive lung cancer. *Clin Cancer Res*. 2009;15(9):3143-3149.

43. Sakairi Y, Nakajima T, Yasufuku K, et al. EML4-ALK fusion gene assessment using metastatic lymph node samples obtained by endobronchial ultrasound-guided transbronchial needle aspiration. *Clin Cancer Res*. 2010;16(20):4938-4945.

44. Shaw AT, Solomon B. Targeting anaplastic lymphoma kinase in lung cancer. *Clin Cancer Res*. 2011;17(8):2081-2086.

45. Soda M, Choi YL, Enomoto M, et al. Identification of the transforming EML4-ALK fusion gene in non-small-cell lung cancer. *Nature*. 2007;448(7153):561-566.

46. Mellman I, Coukos G, Dranoff G. Cancer immunotherapy comes of age. *Nature*. 2011;480(7378):480-489.

47. Ellis PM, Coakley N, Feld R, et al. Use of the epidermal growth factor receptor inhibitors gefitinib, erlotinib, afatinib, dacomitinib, and icotinib in the treatment of non-small-cell-lung cancer: a systematic review. *Curr Oncol*. 2015; 22 (3): e183-e215
48. Inamura K, Takeuchi K, Togashi Y, et al. EML4-ALK lung cancers are characterized by rare other mutations, a TTF-1 cell lineage, an acinar histology, and young onset. *Mod Pathol*. 2009; 22(4): 508–515
49. Shaw AT, Yeap BY, Solomon BJ, et al. Effect of crizotinib on overall survival in patients with advanced non-small-cell lung cancer harbouring ALK gene rearrangement: a retrospective analysis. *Lancet Oncol*. 2011; 12(11):1004–1012