



**Universidad de Oviedo**

**Programa de Doctorado : Investigación en  
Cirugía y Especialidades Médico Quirúrgicas**

**“Experiencia clínica con inhibidores de tirosin  
quinasa en cáncer no microcítico de pulmón:  
factores predictivos y pronósticos de actividad”**

**Tesis Doctoral**

**José Pablo Berros Fombella**



**Universidad de Oviedo**

**Programa de Doctorado : Investigación en  
Cirugía y Especialidades Médico Quirúrgicas**

**“Experiencia clínica con inhibidores de tirosín  
quinasa en cáncer no microcítico de pulmón:  
factores predictivos y pronósticos de actividad”**

**Tesis Doctoral**

**José Pablo Berros Fombella**

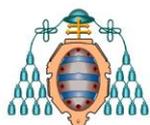


## RESUMEN DEL CONTENIDO DE TESIS DOCTORAL

| 1.- Título de la Tesis  |   |
|---|---|
| Español/Otro Idioma: EXPERIENCIA CLÍNICA CON INHIBIDORES DE TIROSIN QUINASA EN CÁNCER NO MICROCÍTICO DE PULMÓN: FACTORES PREDICTIVOS Y PRONÓSTICOS DE ACTIVIDAD | Inglés: CLINICAL EXPERIENCE WITH TYROSINE-KINASE INHIBITORS IN NON SMALL CELL LUNG CANCER: PREDICTIVE AND PROGNOSTIC ACTIVITY FACTORS |
| 2.- Autor   |   |
| Nombre: JOSE PABLO BERROS FOMBELLA  |   |
| Programa de Doctorado: INVESTIGACION EN CIRUGÍA Y ESPECIALIDADES MÉDICO QUIRÚRGICAS   |   |
| Órgano responsable: DEPARTAMENTO DE CIRUGÍA Y ESPECIALIDADES MÉDICO QUIRÚRGICAS   |   |

### RESUMEN (en español)

El desarrollo de fármacos con singular mecanismo de acción como los inhibidores de tirosin quinasa (ITK) en pacientes con cáncer no microcítico de pulmón ha conllevado la búsqueda e identificación de aquellas características clínico-moleculares que ayuden a la mejor selección de pacientes candidatos al tratamiento con dichos fármacos en aras a conseguir un mejor resultado terapéutico. Los objetivos a alcanzar en esta tesis fueron establecer la magnitud y la significación de cada factor clínico o molecular estudiado y su relación con la respuesta a fármacos ITK contribuyendo a aclarar la controversia actual sobre la importancia de cada biomarcador o característica clínica, estudiar la actividad de dichos fármacos en la totalidad de pacientes estudiados y tratados con dichos fármacos y caracterizar a su vez el perfil de toxicidad de dicha medicación. En esta tesis se revisaron 131 pacientes tratados con ITK en el Hospital Universitario Central de Asturias desde Agosto de 2002 hasta Marzo de 2008 y se recogieron datos epidemiológicos y clínicos de los pacientes, respuestas al tratamiento, toxicidades y se procedió a determinar en el material histológico disponible de los mismos distintas variables moleculares (sobre-expresión, amplificación, mutación de EGFR, mutación de k-ras y sobre-expresión de Her2). El estudio se realizó con la aprobación expresa y el consentimiento del CEIC del centro hospitalario respetando los principios éticos de la investigación clínica. Las respuestas, toxicidades y frecuencias de las distintas características moleculares estudiadas fueron similares a las descritas en la literatura. Tuvieron valor predictivo de respuesta y supervivencia a ITK la toxicidad en forma de acné y diarrea, la ausencia de hábito tabáquico, la respuesta o estabilización al tratamiento previo al ITK y la mutación del gen EGFR.



## RESUMEN (en Inglés)

The development of drugs with special mechanisms of action, such as tyrosine kinase inhibitors (TKI) means that clinic and molecular features are searching in order to select patients candidates to ITK. The objectives were establish the meaning and role of each biomarker in order to answer the unknown relationship between response and presence or ausence of them, the pattern of efficacy and toxicity. In this study 131 patients treated with ITK from August 2002 to March 2008 in the University Central Hospital of Asturias were reviewed. Clinical and epidemiological features, responses, toxicities and molecular biomarkers (EGFR expression, amplification and mutation, k-ras mutation and Her 2 expression) were registered according to the bioetic parameters and local authorities approval. Responses, toxicities and biomarker frecuencies were similar to the literature. The development of rash, diarrhoea, non –smoking status, no changes or response to prior therapy and EGFR mutation were predictive of response and better survival in patients treated with TKI.

SR. DIRECTOR DE DEPARTAMENTO DE CIRUGÍA Y ESPECIALIDADES MÉDICO QUIRÚRGICAS

SR. PRESIDENTE DE LA COMISIÓN ACADÉMICA DEL PROGRAMA DE DOCTORADO EN INVESTIGACIÓN EN CIRUGÍA Y ESPECIALIDADES MÉDICO QUIRÚRGICAS

## **Agradecimientos**

A Emilio Esteban, profesor y Jefe de Servicio, por el quehacer diario y su interés en mi formación y desarrollo

A Norberto Corral, por su ayuda en la interpretación estadística de este trabajo

A todo el Servicio de Oncología Médica del Hospital Universitario Central de Asturias

Dedicado a mi madre

## Índice

|  |    |
|--|----|
| 1. Introducción  | 1  |
| 1.1 Epidemiología  | 1  |
| 1.2 Factores de riesgo   | 4  |
| 1.3 Patología  | 6  |
| 1.4 Estadificación   | 8  |
| 1.5 Tratamiento  | 11 |
| 1.5.1 Evolución del tratamiento quimioterápico                     | 12 |
| 1.5.1.1 Agentes quimioterápicos nuevos                             | 12 |
| 1.5.1.2 Combinaciones sin platino                                  | 14 |
| 1.5.1.3 Segundas líneas de tratamiento                             | 16 |
| 1.6 Inhibición del EGFR  | 17 |
| 1.6.1 Nuevas estrategias terapéuticas                              | 17 |
| 1.6.2 Descripción del EGFR   | 17 |
| 1.6.3 Justificación EGFR como diana terapéutica                    | 18 |
| 1.6.4 Fármacos inhibidores del EGFR                                | 19 |
| 1.6.5 Interpretación de resultados                                 | 25 |
| 1.7 Factores predictivos de respuesta a inhibidores tirosinquinasa | 26 |
| 1.7.1 El receptor EGFR/HER 1                                       | 26 |
| 1.7.2 Mutaciones, sobre expresión y amplificación EGFR             | 27 |
| 2. Objetivos   | 33 |
| 3. Material y métodos  | 34 |
| 3.1 Participantes y características de las muestras                | 34 |
| 3.2 Estudio biológico  | 34 |
| 3.3 Seguimiento, evaluación y análisis estadístico                 | 37 |
| 4. Resultados  | 40 |
| 4.1 Características de los pacientes                               | 40 |
| 4.2 Relaciones entre variables                                     | 43 |
| 4.3 Análisis de respuesta  | 46 |
| 4.4 Toxicidades  | 47 |
| 4.5 Variables relacionadas con respuesta, SLP y SG                 | 50 |
| 5. Discusión   | 78 |
| 6. Conclusiones  | 85 |
| 7. Anexo 1: Índice de Karnofsky                                    | 87 |

|    |   |    |
|----|---|----|
| 8  | Anexo 2: Criterios de evaluación de respuesta OMS | 88 |
| 9  | Anexo 3: Grados de toxicidad cutánea              | 89 |
| 10 | Anexo 4: Grados de toxicidad en forma de diarrea  | 90 |
| 11 | Bibliografía                                      | 91 |

## **INTRODUCCIÓN**

El cáncer de pulmón constituye un problema sanitario en los países occidentales por su incidencia y mortalidad elevada. Aproximadamente el 12% de todos los tumores diagnosticados en el mundo lo son por cáncer de pulmón, convirtiéndose en el más frecuente en los países desarrollados. En varones, representa la principal causa de mortalidad debido a enfermedades tumorales, habiéndose apreciado una tendencia similar en la mujer superando ya en algún país desarrollado como EE.UU al carcinoma de mama como causa principal de muerte por patología tumoral. Esta alta incidencia y mortalidad, hacen del cáncer de pulmón una de las prioridades sanitarias de nuestra sociedad.

### **1.1 Epidemiología**

Durante el siglo XX, la incidencia del cáncer de pulmón ha aumentado de forma importante llegando a mencionar el concepto de pandemia en algunos textos. Aunque se disponen de evaluaciones de finales del siglo XIX, no ha sido hasta los años 50 cuando se consolida el estudio epidemiológico de la enfermedad. En este período se publican cinco estudios caso-control que asocian tabaco con el cáncer de pulmón.

Su incidencia con un período de latencia de veinte años o más, sigue el patrón del consumo de tabaco. El riesgo de fallecer por cáncer de pulmón se asocia con el tiempo de fumador y el número o tipo de cigarrillos consumidos.

Según la OMS, el cáncer de pulmón es la principal causa de muerte por cáncer y produce el 19,7% de todas las muertes por neoplasias. En Europa, se estima que 334.800 personas fallecieron en el año 2006 por esta enfermedad. La incidencia y la mortalidad en Europa está descendiendo entre los varones y aumentando entre las mujeres. La mortalidad por cáncer de pulmón es la más elevada de todas las neoplasias malignas. Según el informe EUROCORE-4, la supervivencia en pacientes con cáncer de pulmón es la más baja: 10,9 % a los 5 años<sup>1</sup>

En el estudio GLOBOCAN se recoge un total de un millón trescientos cincuenta y dos mil casos de carcinoma de pulmón en todo el mundo en el año 2002, produciéndose un millón ciento setenta y ocho mil novecientos dieciocho fallecimientos por esta

neoplasia. Representa el 12,4% de todos los tumores, ocupando el primer lugar en la incidencia mundial por delante de los tumores de mama, colorrectal, estómago y próstata. En ese período, el carcinoma de pulmón fue el tumor más frecuente en los varones (novecientos sesenta y cinco mil doscientos cuarenta y un casos) y el cuarto en la mujer (trescientos ochenta y seis mil ochocientos noventa y un casos) después del de mama, cérvix y colon. La incidencia bruta por 100 mil habitantes para varones y mujeres fue de 30,9 y 12,6 respectivamente y la incidencia estandarizada por edad de 35,5 y 12,1 también respectivamente. La tasa de mortalidad para los hombres fue de 27,1 y para las mujeres de 10,7. Las tasas estandarizadas por 100 mil habitantes fueron de 31,2 y 10,3 respectivamente. El riesgo acumulado de fallecer por carcinoma de pulmón fue de casi tres veces superior para el hombre (1,4 frente a 0,5)<sup>2</sup>.

En Europa, el carcinoma de pulmón representa la causa más frecuente de muerte por tumor con un 13,3% de casos. La incidencia y mortalidad varían desde los 65,7 casos y 60 fallecimientos por 100 mil en Europa del Este hasta 44,3 casos y 40,8 fallecimientos en el Norte de Europa. En la mujer, la tendencia es opuesta con una incidencia y mortalidad en el Norte de Europa que es más del doble de la registrada en el Sur o en el Este de Europa <sup>3</sup>.

En el año 2.006 en nuestro país la prevalencia total estimada fue de 1.175 casos de cáncer por 100.000 habitantes, falleciendo en este año 16.859 hombres por cáncer de pulmón con una media de edad de 68 años y un total de 2.624 mujeres con una media de edad de 66 años, de acuerdo a los últimos datos publicados por el Instituto Nacional de Estadística. Las cifras de incidencia y mortalidad presentan variaciones en las distintas áreas geográficas. Las tasas estandarizadas de mortalidad por cáncer de pulmón por cien mil habitantes son de 67,20 y 8,90 en hombres y mujeres respectivamente.

El análisis titulado “Supervivencia del Cáncer de Pulmón en Asturias” publicado en 2001 por la Dirección General de Salud Pública de la Consejería de Salud y Servicios Sanitarios de Asturias comunica una supervivencia del 11% a los 5 años entre los pacientes diagnosticados en 1.992 en nuestra comunidad autónoma. El parámetro que influyó en la supervivencia resultó ser fundamentalmente el estadio TNM. La mortalidad por cáncer de pulmón en Asturias es la segunda más alta por CCAA, por encima de la mortalidad estándar en España. Recientemente se ha publicado el estudio

Cáncer en Asturias 2.001-2.004 el cáncer de pulmón representa el 17,6% de los procesos neoplásicos en varones y el 4,1% de los casos en mujeres. Las tasas de incidencia ajustadas por población europea del cáncer de pulmón en varones han sufrido en Asturias una disminución media anual del 0,9%. Por el contrario en mujeres el incremento medio anual ha sido del 5,6% en este mismo periodo. Se detalla un número absoluto de casos de cáncer de pulmón en varones asturianos de 645 durante el año 2004 y en mujeres un total de 89. Las tasas específicas por 100.000 habitantes en ese año corresponden a 125,2 en varones y a 15,9 en mujeres en el mismo año 2.004.

En contraste con lo que sucede entre los hombres, en los que disminuye la mortalidad por carcinoma de pulmón (a la vez que disminuye el número de fumadores), en muchos países europeos y Norteamérica, la mortalidad en la mujer ya supera a la del cáncer de mama (USA, UK, Canadá, Dinamarca). Se estima que sin medidas preventivas adecuadas, se alcanzarán los dos millones trescientos mil fallecimientos al año por cáncer de pulmón en el año 2.030.

La mayoría de los pacientes diagnosticados de carcinoma de pulmón lo hacen en la quinta y sexta década de la vida, con una curva ascendente para cada uno de los sexos en función de la edad. Presenta asimismo una gran disparidad geográfica y étnica. Así, es más frecuente en los países desarrollados y mientras la incidencia es similar entre las mujeres norteamericanas de raza blanca y negra, es mucho mayor en los hombres negros que en los blancos, con una diferencia del 26%. La mortalidad de hispanos, americanos nativos y asiáticos es significativamente inferior que en los negros. En las mujeres chinas la incidencia es desproporcionadamente alta en relación con el tabaquismo, con una mayor frecuencia de adenocarcinomas<sup>1</sup>.

Existe una asociación inversa entre la mortalidad por carcinoma de pulmón y el estatus socioeconómico. Se recogen tasas de hasta el doble entre diferentes clases sociales en función de la ocupación, nivel educativo e ingresos, una vez más relacionado con los patrones de consumo de tabaco. Además, el nivel socioeconómico se asocia con otros factores de riesgo como la ocupación laboral, dieta y contaminación ambiental así como la influencia del acceso y calidad de los servicios de salud.

En las primeras décadas el subtipo histológico más frecuente era el carcinoma epidermoide de pulmón seguido del carcinoma de células pequeñas. En las dos últimas

décadas del siglo pasado el adenocarcinoma ha aumentado su incidencia hasta ser el más frecuente en algunos países. Las hipótesis para explicar esta tendencia lo relacionan con la mejoría en las técnicas diagnósticas, tanto en la toma de muestras, como en el estudio histológico e inmunohistoquímico así como el cambio en las características de los cigarrillos con modificaciones en los carcinógenos (aumento en la nitrosamina NNK). En los registros del NCI de Estados Unidos la incidencia de adenocarcinoma ha pasado de 10,5 casos por 100 mil habitantes entre 1.973-77 hasta 18,9 casos entre 1.992-98. Este aumento se ha producido en todas las razas estudiadas pero ha sido más importante en las mujeres, tanto de raza blanca (6,9 hasta 16,7) como de raza negra (6,8 hasta 16,4).

## **1.2 Factores de riesgo**

1.1.1 Tabaco: La gran mayoría de los carcinomas de pulmón están causados por el hábito de fumar. Los primeros estudios que demuestran esta asociación se realizaron en los años 50, siendo los más citados los trabajos de Wynder y Gram., Levin et al, Doll y Hill y Burney.

El humo del cigarrillo contiene más de 300 sustancias, de las cuales unas 40 son conocidos carcinógenos (los más destacados, nitrosaminas e hidrocarburos aromáticos policíclicos). En ensayos en animales se ha observado que una nitrosamina, la 4-(metilnitrosamino)-1-(3.piridil)-1-butanona (NNK) induce mutaciones en el protooncogen K-ras. Las mutaciones en K-ras están presentes en el 40% de los adenocarcinomas de pulmón y se correlacionan con la exposición al tabaco. Los Hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAPs) forman aductos de DNA e inducen mutaciones en el gen supresor de tumores p53. Este gen, que regula la progresión del ciclo celular, está mutado en un 50 a 70% de los carcinomas de pulmón.

1.2.2. Predisposición genética: Aunque la mayor parte de los carcinomas de pulmón son atribuibles al tabaco, menos de un 20% de los fumadores desarrollarán esta enfermedad. Existen estudios que sugieren una mayor predisposición a desarrollar estos tumores en familiares de primer grado de un enfermo y en pacientes con síndrome de Li Fraumeni.

Asimismo, se han identificado polimorfismos que afectan a la expresión, función, o ambas, de enzimas que regulan el metabolismo de los carcinógenos del tabaco, la reparación del DNA o la inflamación, cuyos portadores presentarían mayor riesgo de presentar un cáncer de pulmón tras exposición al tabaco.<sup>4</sup>

1.2.3. Exposición ambiental y ocupacional a diversas sustancias, como el asbesto, fibra de sílice, compuestos orgánicos como el cloro-metil-éter y los HAPs, gases del diesel y contaminación aérea, metales como el cromo, cobalto, cadmio y níquel, arsénico y radiación ionizante. En general, el tabaco potencia los efectos de muchos carcinógenos ocupacionales y ambientales.<sup>5</sup>

1.2.4. Dieta: Algunos estudios han sugerido que la dieta rica en  $\beta$ -carotenos y en vitamina C puede estar asociada con un menor riesgo de cáncer de pulmón. También se han observado niveles inferiores de folato en pacientes con cáncer de pulmón respecto a controles, y que individuos con niveles bajos de folato tienen una capacidad reducida de reparación del DNA.<sup>5</sup>

## 1.3 Patología

Existen dos clases principales de cáncer de pulmón, el carcinoma de células pequeñas o microcítico, que constituye alrededor del 15% de los casos y el carcinoma de pulmón de células no pequeñas o no microcítico, el 85% restante<sup>4</sup>. Todo el proceso neoplásico surge de una única célula pluripotencial presente en todo el tracto aéreo con capacidad de diferenciarse y desdiferenciarse. El carcinoma microcítico se cree que se origina a partir de células basales neuroendocrinas, secretoras de hormonas peptídicas, o células de Kulchitsky<sup>5</sup>. El resto de tipos histológicos, están agrupados en el conjunto del carcinoma de pulmón no microcítico (CPNM), y será sobre el que se centrará el análisis presente (tabla 1). Actualmente y cada vez más se está tratando de sustituir el subtipo de carcinoma bronquioloalveolar por adenocarcinoma no invasivo, dada la similitud de ambas entidades y al comportamiento del carcinoma bronquioloalveolar.

|   |
|---|
| Tabla 1: Clasificación de la OMS del Carcinoma de Pulmón No Microcítico (CPNM) <sup>7</sup> |
|---|

### 1. Adenocarcinoma

1.1. Acinar

1.2. Papilar

1.3. Carcinoma bronquioloalveolar

1.3.1. No mucinoso (células de Clara/neumocitos tipo II)

1.3.2. Mucinoso

1.3.3. Mixto, mucinoso y no mucinoso o de células intermedias

1.4. Adenocarcinoma sólido con mucina

1.5. Adenocarcinoma con subtipos mixtos

1.6. Variantes

1.6.1. Adenocarcinoma fetal bien diferenciado

1.6.2. Adenocarcinoma mucinoso (“coloide”)

1.6.3. Cistoadenocarcinoma mucinoso

1.6.4. Adenocarcinoma de células en anillo de sello

1.6.5. Adenocarcinoma de células claras

## **2. Carcinoma escamoso**

- 2.1. Papilar
- 2.2. Células claras
- 2.3. Células pequeñas
- 2.4. Basaloide

## **3. Carcinoma de células grandes**

- 3.1. Carcinoma neuroendocrino de células grandes
- 3.2. Carcinoma neuroendocrino de células grandes combinado
- 3.3. Carcinoma basaloide
- 3.4. Carcinoma linfoepitelioma-like
- 3.5. Carcinoma de células claras
- 3.6. Carcinoma de células grandes con fenotipo rabdoide

## **4. Carcinoma adenoescamoso**

En los años 60 existía una clara predominancia del carcinoma escamoso, pero su frecuencia ha disminuido a favor del adenocarcinoma, que constituye actualmente la forma más frecuente de CNMP tanto en hombres como en mujeres. La razón de este hecho no está clara, pero una de las hipótesis más aceptada es que la aparición de cigarrillos con filtro y, posteriormente, los cigarrillos bajos en nicotina y alquitrán, al ser menos irritantes en el árbol bronquial proximal, facilitan una inhalación más profunda.<sup>5</sup>

## 1.4 Estadificación

Se utiliza habitualmente el sistema TNM, en el que se valora el tumor primario (T), la afectación de ganglios regionales (N) y la diseminación a distancia (M). En la actualidad la clasificación más actual es la referida por la AJCC y UICC<sup>8</sup> en su 7ª edición (tabla 2).

**Tabla 2: Sistema de estadificación TNM, según la OMS, para el cáncer de pulmón**

### **Tumor primario**

T<sub>x</sub> Presencia de células malignas en secreciones bronquiales, pero el tumor no se visualiza por Rx ni en la broncoscopia o no se puede evaluar

T<sub>0</sub> No hay evidencia de tumor primario

T<sub>is</sub> Carcinoma “in situ”

T<sub>1</sub> Diámetro máximo del tumor de 3 cm o menos, rodeado por pulmón o pleura visceral y sin que la broncoscopia muestre evidencia de invasión proximal de un bronquio lobular

T<sub>1a</sub> tumor menor o igual a 2 cm, T<sub>1b</sub> tumor mayor de 2 cm y menor o igual a 3cm

T<sub>2</sub> Diámetro máximo mayor de 3 cm y menor de 7 cm que invade la pleura visceral o tiene asociada una atelectasia obstructiva que llega hasta el hilio, no debiendo afectar al pulmón entero. En la broncoscopia, el tumor debe estar dentro del bronquio lobular o al menos a 2 cm de la carina.

T<sub>2a</sub> tumor mayor de 3 cm y menor o igual a 5 cm o tumor con cualquiera de los descriptores de T<sub>2</sub> pero menor o igual a 5 cm. T<sub>2b</sub> tumor mayor de 5 cm y menor o igual a 7 cm. Si el tumor es mayor de 7 cm se clasifica como T<sub>3</sub>

T<sub>3</sub> Tumor de cualquier tamaño con invasión de la pared torácica, diafragma, pleura mediastínica o pericardio y que no afecte a corazón, grandes vasos, tráquea, esófago o cuerpo vertebral o tumor en bronquio principal a menos de 2 cm de la carina (sin afectarla). Atelectasia o neumonitis obstructiva que afecte a todo el pulmón. Presencia de nódulo/s adicional/es en el mismo lóbulo del tumor primario

T<sub>4</sub> Tumor de cualquier tamaño con invasión del mediastino, corazón, grandes vasos, tráquea, esófago. Nódulo/s adicional/es homolaterales al tumor primario en distintos lóbulos

### **Afectación ganglionar**

N<sub>0</sub> No metástasis en los ganglios regionales

N<sub>1</sub> Metástasis en los ganglios peribronquiales y/o hiliares ipsilaterales

N<sub>2</sub> Metástasis en los ganglios mediastínicos y subcarinales ipsilaterales

N<sub>3</sub> Metástasis en los ganglios mediastínicos o hiliares contralaterales o metástasis en ganglios escalenos y supraclaviculares, tanto ipsilaterales como contralaterales

### **Metástasis a distancia o derrame pleural maligno**

M<sub>0</sub> No hay evidencia de metástasis

M<sub>1</sub> Metástasis a distancia.

M<sub>1a</sub> Nódulo/s tumoral/es separados contralateralmente o tumor con presencia de derrame pleural o pericárdico maligno

M<sub>1b</sub> Metástasis a distancia

### **Agrupamiento en estadios de los subgrupos TNM**

Carcinoma oculto: T<sub>x</sub>N<sub>0</sub>M<sub>0</sub>

Estadio 0: T<sub>is</sub>N<sub>0</sub>M<sub>0</sub>

Estadio 1: IA: T<sub>1</sub>N<sub>0</sub>M<sub>0</sub> IB: T<sub>2a</sub>N<sub>0</sub>M<sub>0</sub>

Estadio 2: IIA: T<sub>1</sub>N<sub>1</sub>M<sub>0</sub> T<sub>2b</sub>N<sub>0</sub>M<sub>0</sub> T<sub>2a</sub>N<sub>1</sub>M<sub>0</sub> IIB: T<sub>2b</sub>N<sub>1</sub>M<sub>0</sub> T<sub>3</sub>N<sub>0</sub>M<sub>0</sub>

Estadio 3: IIIA: T<sub>1</sub>N<sub>2</sub>M<sub>0</sub> T<sub>2</sub>N<sub>2</sub>M<sub>0</sub> T<sub>3</sub>N<sub>1</sub>M<sub>0</sub> T<sub>3</sub>N<sub>2</sub>M<sub>0</sub> T<sub>4</sub>N<sub>0</sub>M<sub>0</sub> T<sub>4</sub>N<sub>1</sub>M<sub>0</sub>

IIB: Cualquier T N<sub>3</sub>M<sub>0</sub> T<sub>4</sub> N<sub>2-3</sub> M<sub>0</sub>

Estadio 4: Cualquier T, cualquier N, M<sub>1</sub>

## **1.5 Tratamiento**

La tasa de mortalidad del CPNM a los 5 años de su diagnóstico está en torno al 85-90% experimentando un discreto descenso en los últimos veinte años. Gran parte de los casos son inoperables de inicio y de los pacientes tratados en estadios localizados con intención curativa, un elevado porcentaje experimentará recaída<sup>5</sup>. La base del tratamiento se fundamenta en la reseccabilidad u operabilidad pero en la mayoría de los pacientes se diagnostican en enfermedad localmente avanzada o metastásica donde es

necesario un tratamiento multidisciplinario. De manera muy esquemática se puede resumir el tratamiento del cáncer de pulmón como sigue:

- Estadios I: cirugía. Actualmente existen dudas sobre el valor de la quimioterapia adyuvante en el estadio IB. En los estadios I y II la opción curativa pasa por un tratamiento quirúrgico: lobectomía o neumectomía
- Estadios II: cirugía y quimioterapia adyuvante en pacientes con buen estado general, buena recuperación de la cirugía y ausencia de comorbilidad significativa
- Estadio IIIA:
  - o  $T_3N_1M_0$ : cirugía y quimioterapia adyuvante
  - o  $T_{1-3}N_2M_0$ : intervienen la cirugía, radioterapia y quimioterapia adyuvante o neo-adyuvante
- Estadio IIIB: quimioterapia y radioterapia. En casos aislados puede ser quirúrgico
- Estadio IIIB con derrame maligno requieren un manejo sistémico con quimioterapia y terapia biológica específica
- Estadio IV: tratamiento sistémico con agentes antitumorales citotóxicos y terapia biológica específica

El análisis presente está centrado en el CPNM avanzado, concepto bajo el cual hemos incluido tumores estadio IIIB irresecables, con o sin derrame pleural y/o pericárdico maligno y tumores estadio IV. A continuación exponemos la evolución histórica del tratamiento quimioterápico del CNMP en este contexto.

### 1.5.1 Evolución del tratamiento quimioterápico en el CPNM avanzado

Los pacientes con CPNM en estadio avanzado tratados con quimioterapia presentan una supervivencia no superior al 5% a los 5 años.

Los primeros regímenes quimioterápicos comenzaron a aplicarse en la década de los 70. Las combinaciones con ciclofosfamida y doxorrubicina (AC) y de éstas con metotrexate y procarbazona (CAMP) fueron las primeras empleadas, logrando en un reducido grupo de pacientes una discreta tasa de respuestas aunque ésta solía tener escasa duración y no se veía reflejada en un aumento de la supervivencia.

Fue a comienzo de los 80 cuando empezó a generalizarse el uso del cisplatino en el tratamiento del CPNM. Principalmente se empleó en combinación con los alcaloides de la vinca (vindesina) y las antraciclinas. Con la introducción de los esquemas con platino se consiguieron modestos aumentos de la mediana de supervivencia, en torno a las 6 a 10 semanas, en comparación con los regímenes previamente utilizados<sup>9</sup>. En esa época, muchos de los autores no creían justificado el empleo de la quimioterapia en los pacientes con CNMP avanzado, dados los efectos secundarios de los tratamientos, su coste y su escasa eficacia con una relevancia clínica en supervivencia discutible.

En la segunda mitad de la década de los 80 y comienzos de los años 90 se publicaron numerosos estudios con asignación aleatoria en los que se comparó el empleo de quimioterapia con respecto al mejor tratamiento de soporte. En un estudio del National Cancer Institute de Canadá se comparó en 150 pacientes una combinación de cisplatino y vindesina (PVd) con respecto a cisplatino, doxorrubicina y ciclofosfamida (CAP) o el mejor tratamiento de soporte. Se observó como la combinación PVd alcanzó una superior mediana de supervivencia de 33 semanas frente a 25 semanas en la rama del CAP y a 17 semanas con el mejor tratamiento de soporte. Los resultados alcanzaron una significación estadística entre los pacientes que recibieron quimioterapia respecto a los que no lo hicieron, aunque no se observaron diferencias significativas al comparar los dos regímenes de tratamiento activo. Sin embargo, el perfil de toxicidad en los grupos que recibieron quimioterapia en términos de pancitopenia, emesis y

neurotoxicidad entre otros efectos, fue superior respecto al grupo de control con tratamiento de soporte<sup>10, 11</sup>.

En 1.995 se publicó en el British Medical Journal un meta-análisis que aglutinó 52 estudios con asignación aleatoria en los que se compararon los resultados en los pacientes tratados con quimioterapia frente al mejor tratamiento de soporte. Se observó un aumento en la mediana de supervivencia estadísticamente significativo ( $p < 0,00007$ ) en los pacientes tratados con quimioterapia (8 meses) frente a los que recibieron el mejor tratamiento de soporte (6 meses) pero solo con las combinaciones que incluían cisplatino, aunque con toxicidad no despreciable<sup>12</sup>. Sin embargo, un estudio posterior (Billigan, Lung Cáncer, 1997), en el que se comparó una combinación de cisplatino con mitomicina e ifosfamida con respecto al mejor cuidado de soporte y confirmó de forma significativa una mejoría en la calidad de vida de los pacientes tratados con quimioterapia. Desde entonces la Sociedad Americana de Oncología Clínica (ASCO) en base a los resultados de un metaanálisis que compara combinaciones con cisplatino versus carboplatino (Katsuyuki, JCO 2004) aceptó como un tratamiento de elección para los pacientes con diagnóstico de CPNM avanzado la utilización de combinaciones con cisplatino.

#### 1.5.1.1 Agentes Quimioterápicos Nuevos

En la década de los 90 se incorporaron numerosos agentes quimioterápicos tales como carboplatino, gemcitabina, docetaxel, paclitaxel, vinorelbina e irinotecán. Al igual que el cisplatino, todos ellos demostraron actividad como agentes únicos en el tratamiento de este tumor. De entre ellos, la gemcitabina, la vinorelbina y los taxanos docetaxel y paclitaxel confirmaron una mejoría en la calidad de vida de los pacientes con respecto al mejor cuidado de soporte<sup>13</sup>. Múltiples estudios demostraron posteriormente la superioridad de la combinación de cada uno de esos agentes asociados con platino frente a la monoterapia en el tratamiento del CPNM<sup>13</sup>.

De esa forma combinaciones de cisplatino con gemcitabina o vinorelbina, docetaxel o paclitaxel se convirtieron en regímenes de tercera generación y fueron comparados con otras combinaciones anteriores de cisplatino con VP-16, vindesina, mitomicina o

ifosfamida consideradas de segunda generación. En todos esos estudios, las combinaciones nuevas con platino ofrecieron un aumento en todos los parámetros de eficacia incluida la supervivencia, además de una menor toxicidad<sup>14</sup>. El paso siguiente en la investigación clínica fue comparar entre sí las distintas combinaciones consideradas de tercera generación con el ánimo de confirmar alguna de ellas como la más eficaz o con mejor perfil de toxicidad.

Uno de los estudios publicados ha sido llevado a cabo por el grupo ECOG (Eastern Cooperative Oncology Group; E-1594). En el, se comparó la eficacia y la toxicidad de un tratamiento en primera línea de QT basado en cuatro regímenes de platino. Los pacientes fueron asignados a recibir:

- paclitaxel (135 mg/m<sup>2</sup>) + cisplatino (75 mg/m<sup>2</sup>) como brazo control o estándar ó
- docetaxel (75 mg/m<sup>2</sup>) + cisplatino (75 mg/m<sup>2</sup>) ó
- gemcitabina (1000 mg/m<sup>2</sup> días 1,8 y 15) + cisplatino (100 mg/m<sup>2</sup>) ó
- paclitaxel (225 mg/m<sup>2</sup>) + carboplatino (AUC 6) como brazos de investigación

La conclusión del estudio fue que no existían diferencias entre las respuestas de las distintas combinaciones. No hubo diferencias en las supervivencias globales entre las cuatro ramas estudiadas, aunque la combinación cisplatino-gemcitabina se asoció de una manera estadísticamente significativa con un mayor intervalo libre de progresión (4,2 versus 3,4 meses). Las únicas diferencias relevantes entre las distintas ramas del tratamiento se relacionaron con los perfiles de toxicidad de cada uno de los esquemas de tratamiento o combinaciones<sup>14</sup>.

El estudio TAX 326 comparó docetaxel-cisplatino versus docetaxel –carboplatino versus cisplatino-vinorelbina con similares tasas de respuestas globales, tiempo a la progresión y supervivencia global en las tres ramas del tratamiento. Scagliotti (ILCP) comparó cisplatino- gemitabina, cisplatino-vinorelbina y paclitaxel- carboplatino también con similares resultados.

En base a los resultados de todos esos estudios se podría concluir que es válido utilizar como tratamiento estándar uno u otro tipo de los nuevos fármacos con platino

considerados de tercera generación sin más de dos drogas (dobletes), es decir cisplatino asociado a gemcitabina o vinorelbina o los taxanos docetaxel y paclitaxel<sup>13,14</sup>. Todos ellos son capaces de asegurar un 30% de respuestas objetivas con una mediana de tiempo a la progresión y supervivencia global de 4-5 meses y 9-11 meses con un 30% de pacientes vivos al año.

El pemetrexed, un antimetabolito multidiana, ha sido comparado en segunda línea de tratamiento al docetaxel, en monoterapia. Las tasas de respuestas alcanzadas y la duración fueron iguales con los dos agentes. Sin embargo, pemetrexed se asoció con una menor tasa de fiebre neutropénica, alopecia y neuropatía periférica. Este ensayo hizo que la FDA y la EMEA autorizaran la indicación de pemetrexed además del docetaxel en el tratamiento de segunda línea del CPNM.<sup>15</sup>

Recientemente en el estudio de Scagliotti y cols expuesto en el Congreso Mundial de Pulmón 2008 la asociación de Pemetrexed a Cisplatino en primera línea de tratamiento de Carcinoma no microcítico de pulmón avanzado demostró no ser inferior respecto a Cisplatino + Gemcitabina e incluso aportó mejores datos de tasa de respuestas y supervivencia en pacientes con histología no escamosa<sup>16</sup>.

#### 1.5.1.2 Combinaciones sin platino

En las dos últimas décadas se han publicado varios trabajos en los que se emplean combinaciones de los fármacos nuevos entre sí, sin asociar el cisplatino.

En ese sentido, combinaciones entre gemcitabina/vinorelbina, o de gemcitabina/taxanos (docetaxel o paclitaxel) han sido desarrolladas en diversos estudios fase I/II con unos esperanzadores resultados terapéuticos y un perfil de toxicidad aceptables incluso en pacientes con condiciones físicas precarias. Todos esos trabajos sugirieron que se podía conseguir resultados terapéuticos parecidos a los descritos con los mismos agentes asociados al platino. En base a ello y hasta ahora, se han desarrollado distintos ensayos fase III que parecen confirmar dichas expectativas. Sin entrar en detalle sobre el diseño del ensayo y el número de pacientes incluidos, existen trabajos que sugieren una eficacia similar con una menor toxicidad con la combinación de gemcitabina/docetaxel comparada con otras combinaciones de cisplatino. Uno de esos estudios, descrito en forma de abstract observó una tendencia no significativa a una menor supervivencia

cuando se comparó con la combinación de cisplatino/vinorelbina. De igual modo, la asociación de paclitaxel/gemcitabina parece ofrecer similares resultados de eficacia y toxicidad en relación con la combinación de carboplatino/ paclitaxel aunque con una tendencia a unos peores resultados cuando se ha comparado a la combinación de cisplatino/paclitaxel o cisplatino/gemcitabina<sup>17</sup>.

La asociación de gemcitabina/vinorelbina es uno de los esquemas más ampliamente estudiado gracias a su forma sencilla de administración y escaso número de efectos adversos. Puede que por esos motivos, dicha combinación sea la que de forma más frecuente haya sido comparada con regímenes que incluyen platino. Dos estudios ya publicados han hecho referencia a dicha combinación comparándola a dobletes de cisplatino/gemcitabina o cisplatino/vinorelbina y a tripletes con cisplatino/gemcitabina/vinorelbina. En todos ellos, aunque las combinaciones de cisplatino consiguieron un mayor número de respuestas objetivas, no demostraron tener una mejor supervivencia con respecto al esquema de gemcitabina/vinorelbina. Otros dos estudios comunicados en forma de abstract, han comparado esa misma combinación con el triplete de cisplatino/gemcitabina/vinorelbina, coincidiendo una vez más en no ver ventajas con respecto a asociar el cisplatino. En conjunto, todos esos trabajos describen una actividad próxima al 30%, una mediana de tiempo a la progresión y supervivencia de 5 y 9 meses respectivamente así como un porcentaje de pacientes vivos al año cercano al 30% con el esquema de gemcitabina/vinorelbina, sin diferencias significativas con la combinación de cisplatino, aunque con una menor toxicidad hematológica y no hematológica. Todos esos datos, son los que sin duda ha tenido en cuenta la Sociedad Americana de Oncología para aceptar en el año 2004, la utilización de alguna de esas combinaciones sin platino como una alternativa de tratamiento para los pacientes con CPNM (estadio IV o IIIB con derrame pleural o pericárdico).

Otra manera de mantener los resultados obtenidos y reducir la toxicidad (sobre todo emetógena) generada con las combinaciones de cisplatino ha sido mediante la sustitución de este fármaco por su análogo carboplatino. En este caso, los resultados obtenidos en estudios comparativos no aseguran una igual supervivencia en el brazo de pacientes tratados con carboplatino. El meta-análisis publicado por Katsuyuki (JCO,

2004, ha confirmado la inferioridad de las combinaciones de tercera generación de carboplatino respecto a las de cisplatino.

### Segundas Líneas con quimioterapia

Las segundas líneas de tratamiento citotóxico pueden plantearse en los pacientes que cuenten con un buen estado general. Actualmente existen cuatro agentes que han demostrado ser activos en el tratamiento de segunda línea del CPNM.

El docetaxel ha sido comparado frente al mejor tratamiento de soporte en el estudio TAX 317 demostrando una mejor mediana de supervivencia (7,5 frente a 4,6 meses) y una mayor supervivencia al año (37 % frente a 11%) de manera estadísticamente significativa ( $p < 0,05$ ). Otro estudio fase III (TAX 320) se llevó a cabo asignando de forma aleatoria a pacientes con CPNM en segunda línea entre docetaxel vs vinorelbina o ifosfamida. La mediana de supervivencia fue similar en todos los pacientes (5,6 meses), pero la supervivencia global al año alcanzó el 32% entre los que recibieron docetaxel, por el 21% de los pacientes tratados con vinorelbina y el 19% en los pacientes tratados con ifosfamida ( $p = 0,02$ )<sup>18</sup>. En base a esos estudios 75 mg/m<sup>2</sup> de docetaxel administrado cada tres semanas, se considera a partir de entonces como un agente activo en segunda línea.

Se comparó también docetaxel con topotecan oral en segunda línea de tratamiento obteniéndose igual supervivencia al año, con distinto perfil de toxicidad aportando una mejor calidad de vida el docetaxel<sup>19</sup>

No existen datos a pesar de ello si agentes quimioterápicos en terceras y cuartas líneas de tratamiento pueden influir en la supervivencia de los pacientes.

## 1.6 Inhibición del EGFR en el cáncer de pulmón

### 1.6.1 Nuevas Estrategias Terapéuticas

El desarrollo de la biología molecular moderna ha supuesto un avance en el conocimiento de la función celular. Se ha demostrado que la proliferación y crecimiento celular están regulados por un ajustado equilibrio entre factores estimulantes e inhibidores y que la pérdida del mismo conlleva un crecimiento celular incontrolado y cáncer.

Uno de los componentes principales de las vías de señal celular es la familia de tirosincinasa, la cual integra al mayor grupo de oncogenes dominantes alterados en el cáncer de pulmón (CP). Dentro de esta gran familia se distinguen dos grandes grupos:

- los receptores tirosincinasa, presentes en la membrana celular (hay diversas familias de receptor tirosincinasa, las más conocidas, ERB, Kit y VEGFR):
- las proteínas intracitoplasmáticas tirosincinasa sin receptor de superficie [las más conocidas, vía proteínacinasas C (PLC/PKC, fosfolipasa C/proteinacinasas C, PI3K/Akt/mTOR) y la vía ras/proteínacinasas activada por mutágeno (ras/MEK/MAPK, de las siglas en inglés *mitogen-activated protein kinase*)].

Todos ellos constituyen objetivos potenciales al encontrarse alterados en el cáncer de pulmón. Existen además otros objetivos celulares de interés terapéutico como son las vías de señales de retinoides, las vías de supervivencia celular, los antígenos tumorales y la angiogénesis, entre otros.

### 1.6.2 Descripción del EGFR

El EGFR forma parte de una subfamilia tirosincinasa constituida por 4 receptores íntimamente relacionados: ErbB-1 (conocido como EGFR o HER-1), ErbB-2 (HER 2/neu), Erb-3 (HER-3, único sin actividad tirosincinasa intrínseca) y ErbB-4 (HER 4).

El EGFR es un receptor tirosincinasa de membrana celular, constituido por una glicoproteína que, como todos ellos, presenta:

- Una porción extracelular (extremo N-terminal) que se une al ligando
- Una parte helicoidal que atraviesa la membrana (transmembrana)
- Un dominio intracelular (extremo C-terminal, citoplasmático o citosólico) con actividad tirosincinasa

En estado de reposo o inactivo se encuentra en forma de monómeros. Tras la unión a un ligando (EGF, anfirregulina o TGF) se activa y forma un dímero al juntarse con otro receptor de la familia ErbB [con EGFR (homodímero) o cualquier otro de la familia erbB (heterodímero)]. Una vez convertido en dímero, se activan los dominios tirosincinasa intracelulares, se transfosforilan por interacción con el ATP. Se inicia entonces una cascada de reacciones celulares, en función del residuo tirosincinasa autofosforilado, a través de diferentes vías de señales imbricadas entre sí [en las que intervienen ras/MEK/MAPK (vía de proliferación), fosfolipasa C-PI3K/Akt/m TOR y STAT (vías de supervivencia), entre otras] que alcanzan el núcleo y promueven la división celular [donde están implicadas las ciclinas (ciclina D y otras) y las quinasas dependientes de ciclinas o cdk].

### 1.6.3 Justificación del objetivo EGFR como diana terapéutica

Cuando el gen que codifica el EGFR está sobreexpresado, mutado o amplificado se convierte en oncogen y en consecuencia:

- Estimula el crecimiento celular desenfrenado
- Favorece de forma indirecta la angiogénesis (formación de vascularización propia a partir de vasos adyacentes, imprescindible para la supervivencia de agrupaciones celulares superiores a 1-2 mm<sup>3</sup>)
- Favorece el proceso de metástasis (al promover la capacidad de invasión de tejidos circundantes, en especial el endotelio vascular y posterior acceso a la circulación sistémica)
- Inhibe la apoptosis (muerte celular programada de células maduras, aberrantes o mutadas)

La inhibición de todo el proceso anterior frenaría el crecimiento y estimularía la muerte celular.

El EGFR está sobreexpresado en muchos tumores sólidos epiteliales (carcinomas) y esta sobreexpresión se correlaciona en muchos estudios (aunque no en todos) con enfermedad avanzada y mal pronóstico. Entre el 40% y el 80% de los carcinomas no microcíticos de pulmón presentan sobreexpresión del EGFR. Así pues, la inhibición del EGFR constituye un tratamiento antitumoral atractivo. En la actualidad se encuentran en fase más avanzada de desarrollo clínico dos opciones principales:

- Las moléculas pequeñas que inhiben la parte tirosincinasa intracelular del receptor (gefitinib, erlotinib)
- Los anticuerpos monoclonales, que actúan en el ámbito extracelular y compiten con el ligando [formación de complejos con el mismo o mediante unión competitiva con el receptor (cetuximab)].

Están en fase de investigación más precoz otras opciones terapéuticas dirigidas al EGFR, como vacunas y otros fármacos.

#### 1.6.4 Fármacos Inhibidores del EGFR

##### 1.6.4.1 Moléculas pequeñas inhibitoras de tirosinquinasa

Penetran en el interior de la célula y compiten con el ATP al unirse al dominio intracelular catalítico tirosincinasa. Impiden así la transfosforilación y bloquean en consecuencia la cascada de señales dirigidas al núcleo. Por consiguiente, inhiben la proliferación, la angiogénesis y la capacidad de metastatizar e inducen la apoptosis. A diferencia de la creencia inicial, la eficacia antitumoral no depende de la sobreexpresión o la amplificación del receptor, sino que parece tener una importancia clave la presencia de mutaciones activadoras en el dominio tirosincinasa intracelular.

Todos estos fármacos se administran por vía oral con una tolerancia aceptable. Si bien carecen de mielotoxicidad, producen toxicidad cutánea (piel seca y sarpullido acneiforme), en posible relación con la elevada concentración de EGF presente en la

capa basal de la epidermis. De hecho la incidencia e intensidad del exantema se correlaciona con la actividad y su ausencia debe hacer sospechar una infradosificación.

Dentro de este grupo existen varios fármacos en distintas etapas de desarrollo clínico:

- Unos dirigidos de forma específica y exclusiva contra el EGFR: gefitinib y erlotinib
- Otros, en estudios en fase II en curso, pendientes de resultados, dirigidos contra varios objetivos moleculares: lapatinib, canertinib, ZD6474, etc

A continuación se describen los fármacos del primer grupo por la disponibilidad de resultados de estudios clínicos en fases más avanzadas.

#### 1.6.4.2 GEFITINIB (IRESSA®)

Se une específicamente al dominio tirosincinasa del EGFR (intracelular). A diferencia de lo que ocurre con trastuzumab (anticuerpo monoclonal dirigido contra el receptor ErbB-2), la eficacia de gefitinib no parece depender de la amplificación ni sobreexpresión del gen EGFR. Las dosis autorizadas son de 250 mgs al día vía oral.

*Resultados de estudios clínicos en CPNM:*

*En monoterapia:*

- Se realizaron 2 grandes estudios en fase II aleatorizados en que se administró Iressa® en monoterapia en CPNM estadio IIIB-IV tras progresión a dos líneas de quimioterapia, una de ellas con platino:
  - IDEAL 1 (multinacional, 210 pacientes)
  - IDEAL 2 (en EEUU, 221 pacientes). El índice de respuestas osciló entre el 12% (estudio estadounidense) y el 18,4% (estudio internacional). La supervivencia mediana y a un año fueron similares a las conseguidas con otros estudios con tratamientos en segunda línea (docetaxel y pemetrexed).

- Sin embargo, en un estudio en fase III aleatorizado ISEL-709 (participaron 1.692 pacientes previamente tratados) no se observó ningún beneficio de gefitinib en monoterapia frente a placebo<sup>30</sup>. Si bien se están analizando las posibles causas de estos resultados, entre otras el mayor porcentaje de pacientes refractarios a quimioterapia previa (progresión durante la quimioterapia) en el grupo tratado con gefitinib, ello han frenado el entusiasmo inicial y el desarrollo clínico del producto.
- Posteriormente en el estudio INTEREST la comparación de Gefitinib respecto a Docetaxel en monoterapia aporta similares resultados en cuanto a tasas de respuesta y supervivencia global<sup>32</sup>.

#### *Combinado con quimioterapia:*

- Se han publicado 2 grandes estudios en fase III en primera línea de CNMP metastático:
  - INTACT 1: (1.093 pacientes): cisplatino-gemcitabina-iressa® durante 6 ciclos y, en ausencia de progresión iressa de mantenimiento.
  - INTACT 2: (1.037 pacientes): carboplatino-paclitaxel-iressa durante 6 ciclos y, en ausencia de progresión, iressa de mantenimiento.

No se observó ningún beneficio con la adición de gefitinib a la QT en cuanto a índice de respuestas, tiempo a la progresión ni en la supervivencia.

#### *Toxicidad y tratamiento*

Al igual que los demás fármacos del grupo, induce de forma característica un exantema acneiforme (75% de los casos), localizado en cara y tronco, cuya presencia e intensidad se correlaciona con la actividad antitumoral pero no con la supervivencia. El tratamiento consiste en antibioterapia (clindamicina o eritromicina vía oral).

Se observó también la presencia de neumonitis intersticial entre el 4 y 9% de los casos en Japón. Fuera de Asia la incidencia fue mucho menor, en torno al 1%. La relación entre neumonitis intersticial y gefitinib no está demostrada como tampoco

lo está con la raza, sexo, antecedentes de tabaquismo y fibrosis pulmonar previa. Hasta que se aclaren estos hechos, debe interrumpirse el tratamiento en caso de empeoramiento o aparición de síntomas pulmonares hasta averiguar la causa. Si se demuestra enfermedad intersticial se suspenderá de forma definitiva el tratamiento.

Aproximadamente la mitad de los pacientes tratados con gefitinib presentan diarrea de grado 1 ó 2 que responden a loperamida. El comienzo suele ser más tardío que el exantema. El 6% de los pacientes presenta diarrea de grado 3 ó 4, que precisa la interrupción del tratamiento hasta su recuperación.

#### *Interacciones farmacológicas*

Las concentraciones plasmáticas de gefitinib pueden modificarse por la administración conjunta de otros fármacos, por lo que será aconsejable evitarla, o, en su defecto, realizar los controles oportunos.

- Aumentan las concentraciones plasmáticas: itraconazol, ketoconazol.
- Disminuyen las concentraciones plasmáticas: cimetidina, fenitoína, ranitidina, rifampicina

#### 1.6.4.3 ERLOTINIB (Tarceva®)

Se trata de otro inhibidor tirosincinasa del EGFR a una dosis de 150 mg al día por vía oral.

#### *Resultados estudios clínicos en CPNM*

En monoterapia:

- Se ha realizado un estudio en fase II (Pérez-Soler) en 57 pacientes pretratados. El índice de respuestas fue del 12,3%, la supervivencia mediana de 8,4 meses, y la supervivencia a un año, del 40%.
- Se han comunicado los resultados de un estudio en fase III (Shepherd, estudio canadiense BR 21), realizado en 731 pacientes en estadio IIIB-IV tratados como

mínimo con una línea previa de quimioterapia, en que se comparó erlotinib en monoterapia frente a placebo. El criterio de valoración principal fue la supervivencia. Si bien el índice de respuestas objetivas fue sólo del 9%, resultó ser un estudio positivo desde el punto de vista estadístico en supervivencia global como objetivo primario y en calidad de vida y retraso del deterioro sintomático<sup>26</sup>.

En combinación con quimioterapia:

- Se han publicado dos grandes estudios en fase III en primera línea de CPNM metastático y recientemente otro estudio fase III como terapia de mantenimiento (Estudio SATURN)
  - TALENT (1.172 pacientes): cisplatino-gemcitabina-erlotinib durante 6 ciclos y, en ausencia de progresión, erlotinib de mantenimiento.
  - TRIBUTE (1.059 pacientes): carboplatino-paclitaxel-erlotinib durante 6 ciclos y, en ausencia de progresión, erlotinib de mantenimiento.

No se observó beneficio alguno con la adición de erlotinib a la quimioterapia en cuanto a índice de respuestas, tiempo a la progresión ni en la supervivencia. Si se observó beneficio tras 4 ciclos de tratamiento quimioterápico con esquemas basados en platinos.

#### *Toxicidad y tratamiento*

Cutánea, digestiva y pulmonar (en menor medida) similar a la observada con gefitinib por lo que cabe adoptar actitudes preventivas y terapéuticas similares.

#### *Interacciones farmacológicas*

Las concentraciones plasmáticas de erlotinib pueden modificarse por la administración conjunta con otros fármacos:

- Podrían aumentar las concentraciones plasmáticas: atazanavir, claritromicina, indinavir, itraconazol, ketoconazol, nelineavir, voriconazol, warfarina

- Podrían disminuir las concentraciones plasmáticas: carbamacepina, fenitoína, rifampicina.
- La administración concomitante aumentan el riesgo de hemorragia con acenocumarol, warfarina y dicumarol.

### 1.6.5 Interpretación de resultados

A pesar de que el 40-80% de los CPNM presenta sobreexpresión del EGFR, el tratamiento dirigido contra éste tan solo consigue un índice de respuestas del 10% y un 35% adicional de estabilización de la enfermedad. Ello indica que la sobreexpresión de EGFR puede no ser predictiva de respuesta, si bien la determinación del número de copias del gen mediante FISH podría ayudar en la selección de pacientes de confirmarse algunos hallazgos recientes.

En los diferentes estudios realizados con gefitinib y erlotinib se observó, en análisis de subgrupos (con las consiguientes limitaciones), un mayor índice de respuestas en adenocarcinomas (sobre todo bronquioloalveolares), mujeres, asiáticos y en pacientes que nunca habían fumado. Este fenómeno podría explicarse, al menos en parte, por la presencia de determinadas mutaciones localizadas cerca del punto de unión del ATP con el dominio tirosinasa (donde se unen gefitinib y erlotinib) detectadas fundamentalmente en los que responden al tratamiento. La relación de dichas mutaciones con la actividad antitumoral de estos fármacos así como su papel en la selección de pacientes parecen evidentes dados los resultados obtenidos hasta la actualidad.

A la vista de estos resultados, se plantean varios puntos clave en la metodología de la investigación clínica con estos nuevos tratamientos:

- Establecer criterios que permitan una mejor selección de pacientes: tradicionalmente, la selección de pacientes para un tratamiento se realizaba en función del origen del tumor. Con los nuevos fármacos, además de la detección de las dianas correspondientes, será preciso establecer si los análisis de las mutaciones permiten identificar subgrupos de pacientes con mayor probabilidad de respuesta. Con todo, tampoco resolvería por completo el problema, puesto que quedarían excluidos aquellos casos que, si bien no responden, presentan estabilización prolongada de la enfermedad o mejoría sintomática. Será crucial en el futuro disponer de muestras de tejido tumoral de los pacientes que permitan investigar factores predictivos de actividad clínica.
- Determinar cuál es el mejor criterio para evaluar la actividad: convencionalmente la actividad de los fármacos se establecía, entre otros, en

base al índice de respuestas objetivas. Dado que muchos de los nuevos fármacos pudieran actuar como citostáticos y no citotóxicos (es decir, estabilizan la enfermedad pero no reducen de forma significativa el tamaño del tumor) son necesarios otros criterios (como la supervivencia global, la cual constituye por otra parte el mejor criterio de valoración principal en cualquier tratamiento). También debe considerarse el tiempo a la progresión y el alivio sintomático y calidad de vida de los pacientes.

- Concretar la mejor forma de administración de los nuevos fármacos diana: de forma concomitante o secuencial con la quimioterapia, en monoterapia o en combinación. Los fármacos descritos responden, al menos en parte, al paradigma farmacológico tradicional de que existe una vía dominante de transducción de la señal responsable de la transformación al fenotipo maligno. Este criterio va perdiendo contundencia al constatar la resistencia de los tumores a fármacos que actúan sobre objetivos únicos y se refleja así la flexibilidad genética del genoma de la célula cancerosa y la inevitable redundancia de redes de señales celulares que controlan el proceso de malignización.

## **1.7 Factores predictivos de respuesta a inhibidores de tirosincinasa en el tratamiento del cáncer de pulmón**

### **1.7.1 El receptor del factor de crecimiento epidérmico EGFR/HER1 y factores clínicos de respuesta a TKI**

Como anteriormente fue dicho, el receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR/HER1), sobre-expresado entre el 40-80% de los CPNM, está implicado en la mayoría de los procesos de la biología tumoral, la angiogénesis, el aumento de proliferación celular, la inhibición de la apoptosis, el aumento de la capacidad de quimiorresistencia y del potencial metastático de la célula tumoral. El EGFR/HER1 es una glicoproteína de 170 kd transmembrana, constituida por un dominio amino-terminal extracelular, una región transmembrana y un dominio tirosincinasa intracitoplasmático.

Los nuevos fármacos diana, los inhibidores de tirosincinasa, erlotinib y gefitinib, actúan mediante un mecanismo competitivo en la unión del ATP al dominio intracelular con

actividad tirosincinasa del receptor, y mediante su inhibición determinan el bloqueo de la vía de señalización intracelular. Como consecuencia de lo cual, los distintos procesos intracelulares de los que es responsable su activación, son inhibidos.

En el desarrollo clínico de estos agentes se observó que, en algunos pacientes, existían respuestas importantes y precoces. Posteriormente, en estudios retrospectivos<sup>20</sup>, se correlacionaron estas respuestas con algunas características clínicas de los pacientes tales como sexo femenino, etnia asiática, no fumadores y la histología adenocarcinoma especialmente el broncoalveolar. Estos resultados no correspondieron a hallazgos aislados, sino que, por el contrario, también se objetivaron en el análisis de subgrupos<sup>21</sup> de estudios fase III como el TRIBUTE donde, en una población de 1.059 pacientes incluidos, se puso de manifiesto que los pacientes no fumadores que recibían la combinación de quimioterapia y erlotinib presentaba una supervivencia de 23 meses frente a los 10 meses del grupo de no fumadores que recibía solo quimioterapia. Dicho subgrupo se encontraba bien equilibrado en cuanto a otros factores pronósticos clínicos por lo que se podría deducir que el tratamiento con erlotinib fue el responsable del beneficio en supervivencia solo para aquellos pacientes que recibían o seguían con TKI tras parar la quimioterapia.

En la práctica clínica, un factor predictivo de respuesta descrito, tanto a gefitinib como a erlotinib, es la aparición de rash cutáneo en cualquier grado durante el tratamiento. En el estudio de Mohamed NK y cols<sup>22</sup> se analizaron los factores predictivos de respuesta clínica en 199 pacientes con CPNM observándose una mediana de supervivencia de 10,8 meses en los pacientes que presentaban cualquier tipo de rash frente a 4 meses en los pacientes que no lo presentaban.

#### 1.7.2 Factores Moleculares: Mutaciones, sobre-expresión y amplificaciones del EGFR, mutaciones en K-ras, p-Akt y Her 2

Dos grupos de trabajo independientes pusieron de manifiesto que determinadas mutaciones en el gen codificante del EGFR en el CPNM condicionarían la respuesta a los inhibidores de la tirosincinasa. Lynch et al analizaron pacientes tratados con gefitinib que habían presentado respuesta a los inhibidores de la tirosincinasa, pacientes

que no habían presentado respuestas y pacientes no tratados con gefitinib. Se observó que 8 de los 9 pacientes que habían presentado respuesta al tratamiento con gefitinib tenían mutaciones del gen EGFR frente a ninguno del grupo de los no respondedores. Estas mutaciones afectaban al dominio tirosincinasa del receptor y le conferían una mayor actividad, lo que podría hacerlo más susceptible al tratamiento con los inhibidores de la tirosincinasa<sup>23</sup>.

Todas las mutaciones descritas incluían pequeñas deleciones de aminoácidos, duplicaciones y/o inserciones o, alternativamente presentaban mutaciones puntuales. Las mutaciones más frecuentemente, publicadas en varias series, son deleciones en fases en el exón 19 y mutaciones puntuales como sustitución de aminoácidos o mutación missense en el exón 21.

El siguiente paso en la investigación de los inhibidores de la tirosincinasa ha sido intentar relacionar las características clínicas de los pacientes con la presencia o ausencia de mutaciones. Así, en el ensayo TRIBUTE, donde la asociación de erlotinib más quimioterapia no demostró beneficio frente al tratamiento con quimioterapia, puso de manifiesto en el análisis de subgrupos, que el subgrupo de pacientes “no fumadores”, tratados con quimioterapia y erlotinib, sí presentó un beneficio en supervivencia global frente a los pacientes no fumadores tratados con quimioterapia solamente (mediana de supervivencia de 23 meses frente a 10 meses). Este subgrupo se encontraba bien equilibrado en cuanto a otros factores pronósticos clínicos, por lo que se podría deducir que el tratamiento con erlotinib fue el responsable del beneficio en supervivencia.

En el estudio de Pao et al. Se analizó la presencia de mutaciones en 15 adenocarcinomas de forma previa al tratamiento, encontrándose en 7 de ellos mutaciones (46%) mientras que en los 81 pacientes con CPNM fumadores analizados sólo se pusieron de manifiesto mutaciones en el dominio tirosincinasa en 4 de 81 pacientes (4,9%). Estos autores, además, analizan si el patrón de mutaciones del gen del EGFR condiciona la respuesta tanto al tratamiento con gefitinib como al erlotinib. La conclusión del estudio es que la presencia de mutaciones del EGFR es un factor predictivo de respuesta tanto para gefitinib como para erlotinib.

Otro punto de interés en este abordaje terapéutico es conocer la incidencia de mutaciones en el dominio tirosincinasa del receptor del EGFR en pacientes con CPNM. Para ello se han realizado estudios como el de Cortés-Funes et al. En España, 83 pacientes con CPNM estadio IV que habían progresado a tratamiento con quimioterapia; se estudió la presencia de mutaciones y la respuesta a gefitinib. Se encontraron mutaciones en el 12% de los pacientes (10/83) presentando todos ellos el subtipo histológico de adenocarcinoma y, en la mayoría de los casos, se trataba de mujeres y de pacientes no fumadores. En cuanto a los datos de eficacia, podemos observar cómo la presencia de mutaciones iba acompañada de mejores resultados en todos los parámetros estudiados. El mayor registro publicado hasta el momento es el del Grupo Español del Cáncer de Pulmón donde se detalla en nuestra población una tasa de aproximadamente un 15% de mutaciones en los más de 2000 pacientes donde se analizó la presencia de dicha alteración encontrándose en 350 pacientes entre los años 2005 y 2008, datos publicados recientemente en la revista NEJM.

Se han publicado a lo largo de 2.005 múltiples estudios donde queda establecido que la presencia de mutaciones del EGFR lleva consigo una mejora en la respuesta al tratamiento con inhibidores de tirosincinasa en todos los parámetros de eficacia (tasa de respuestas, intervalo libre de progresión y supervivencia global) frente a los pacientes que no presentan estas mutaciones (wild type) y que reciben el tratamiento con inhibidores. Incluso en algunos de estos estudios, como el de Rosell y el de Uramoto, la presencia de mutaciones se ha podido correlacionar a su vez con características clínico-patológicas. En su mayoría eran pacientes de sexo femenino, no fumadores y con subtipo histológico de adenocarcinoma.

Por otra parte, la determinación de la expresión del EGFR por inmunohistoquímica también se correlaciona con la respuesta al tratamiento con los inhibidores de la tirosincinasa (ITK) (Estudio BR.21). De forma adicional, existen al menos 2 estudios donde se valoró la amplificación del EGFR mediante FISH. En el estudio de Hirsch et al., 81 pacientes fueron tratados con gefitinib a 500 mg/día y, en todos ellos, se estudió el número de copias del EGFR mediante FISH siendo estratificados los pacientes en FISH positivos, aquellos con amplificación del gen y FISH negativos los pacientes que no lo presentaban. En el análisis multivariante, el número de copias del EGFR determinado por FISH se mantuvo como factor independiente predictivo positivo para

la supervivencia. Se encontró, además, un mejor control de la enfermedad (63% vs 39%) en los pacientes con FISH positivos frente a los FISH negativos. Los autores concluyen que la técnica FISH podría utilizarse en pacientes con carcinoma bronquioloalveolar para determinar un tratamiento en primera línea con ITK.

Takano et al<sup>24</sup> evaluaron en 66 pacientes con recidiva tras cirugía de CPNM, la presencia de mutaciones del EGFR y el número de copias EGFR mediante PCR cuantitativa poniendo de manifiesto de nuevo en el análisis multivariante, la relación entre las mutaciones del gen y todos los parámetros de eficacia en la respuesta al tratamiento con gefitinib. Por otro lado, además, el número de copias de EGFR era marginalmente significativo como predictor de respuesta y de tiempo libre de progresión de forma independiente. En el subgrupo de pacientes con *wild type* EGFR, también se obtuvo un significativo aumento de tiempo a la progresión en los pacientes que tenían un incremento del número de copias de EGFR; por ello los autores plantean la posibilidad de que el número de copias del EGFR fuera otro factor predictivo de respuesta independiente. En este sentido, Tsao et al<sup>25</sup> publicó el análisis inmunohistoquímico de la expresión del EGFR, el número de copias por FISH y el estudio de mutaciones del gen EGFR realizado en pacientes con CPNM en segunda línea de tratamiento incluidos en el estudio fase III de erlotinib frente a placebo (BR21)<sup>26</sup>. En relación con las mutaciones del dominio tirosinquinasa del receptor del EGFR se analizaron del exon 18 al 21 en 197 muestras. En total, se hallaron 45 mutaciones en 40 pacientes (23%): tres mutaciones del exon 18, trece deleciones y ocho mutaciones del exon 19, cinco mutaciones del exon 20, y dieciséis mutaciones del exon 21. No se estableció en este estudio relación, ni entre la presencia de mutaciones, ni con la expresión inmunohistoquímica del EGFR, ni con el número de copias del gen. En cuanto a los parámetros de eficacia existía una diferencia en la respuesta a erlotinib y supervivencia a favor de la presencia de sobre-expresión y amplificación del gen pero no con la presencia de la mutación.

La relación biológica entre mutaciones y amplificación de EGFR no está clara. Parece que tumores que son portadores de mutaciones EGFR muestran con gran frecuencia amplificación por lo que ambos factores son importantes para determinar sensibilidad a estos fármacos inhibidores tirosin-kinasa.

La presencia de mutaciones o amplificaciones parecen ser factores predictivos de respuesta al tratamiento con ITK pero el hecho de que existan o no las mutaciones del EGFR no parece ser el único elemento. Recientemente, también se ha publicado la expresión de p-AKT como un posible e importante predictor de la respuesta al tratamiento con gefitinib, ya que esta vía influye de forma esencial en la expresión del EGFR, y su asociación con la expresión del p-Erk también ha sido valorada, aunque sus resultados son aún muy preliminares. Otro factor a tener en cuenta sería el K-ras. En el estudio TRIBUTE se objetivó que la frecuencia de mutaciones del EGFR era del 12% de pacientes no asiáticos con CPNM, presentando este subgrupo una mayor supervivencia cuando eran tratados con erlotinib. A su vez se objetivó que los pacientes que presentaban mutaciones del K-ras (aproximadamente un 20%) rara vez tenían mutaciones del EGFR y su pronóstico era especialmente peor cuando se trataban con erlotinib asociado a la quimioterapia. Se podría plantear la posibilidad de que el erlotinib realice un efecto antagonista a la quimioterapia en estos casos, lo que explicaría que en la parte inicial de este estudio, la curva de supervivencia de los pacientes que fueron tratados con quimioterapia y erlotinib fuese peor que la de los pacientes tratados con quimioterapia y placebo. También hay datos acerca de mutaciones en el exon 20 del receptor Her 2 descritas en no fumadores y adenocarcinomas como mecanismo de resistencia a TKI y en cuanto a la sobreexpresión por IHQ del receptor Her 2 también existen dos estudios donde se asocia a una mayor tasa de respuestas y tiempo a la progresión con tendencia no estadísticamente significativa a una mayor supervivencia global respecto a pacientes Her 2 negativos. También se ha intentado la inhibición dual de Her2 y Her3.

En cuanto a mecanismos de resistencia adquiridos a TKI citar que en pacientes con respuesta inicial a TKI y posterior progresión, en un 50% de casos se ha detectado una mutación en el exón 20 (T790M) como mecanismo de tal resistencia, mientras que la incidencia de tal mutación en tumores de pacientes que no han recibido tratamiento con TKI es muy baja (0,5%). Otra vía que explica también la resistencia adquirida a TKI es la amplificación del oncogén MET la cual ocurre independientemente de la anterior mutación descrita. Una línea actual de investigación se centraría en ensayar inhibidores de MET en estos pacientes.

Por tanto tras la revisión realizada no existe ninguna variable biológica predictiva o pronóstica validada que sustituya a otras variables clínicas o histológicas comentadas anteriormente y ninguno de ellos descarta de forma definitiva el tratamiento con ITK para cualquier paciente. La excepción puede ser la determinación de la mutación del EGFR que ha sido considerada como necesaria para la utilización de gefitinib en el tratamiento de CPNM.

## **OBJETIVOS DE LA TESIS**

Estudio de cohorte retrospectivo con la intención de confirmar la eficacia terapéutica de ITK en una población no seleccionada y posibles variables predictivas de respuesta tanto biológicas como clínicas y anatomopatológicas. A continuación se detallan los objetivos de una forma más pormenorizada:

1. Establecer la magnitud e importancia de cada uno de los factores clínicos (sexo, histología, toxicidades, hábito tabáquico) y moleculares (sobre-expresión de EGFR, Her2, amplificación de EGFR, mutación de EGFR y k-ras) determinando el impacto y la preponderancia de cada uno de ellos a la hora de seleccionar candidatos a recibir tratamiento con ITK.
2. Determinar la eficacia terapéutica del tratamiento con ITK en forma de tasa de respuestas objetivas, SLP y SG.
3. Caracterizar el perfil de toxicidad a los fármacos en las formas más frecuentemente descritas en la literatura (acné, diarrea, otras toxicidades).
4. Enumerar y formular las características clínicas y/o moleculares que actúan como factores pronósticos y/o predictivos de respuesta en este trabajo

## **MATERIAL Y MÉTODOS:**

### 1. Participantes y características de las muestras:

Este estudio se realizó sobre una cohorte retrospectiva de 131 pacientes con diagnóstico histológico de CPNM que habían sido tratados con ITK desde Agosto de 2002 hasta Marzo de 2008 tras haber firmado el consentimiento informado y que habían sido identificados a través de los registros de ensayos clínicos y de tratamientos administrados en el Servicio de Oncología Médica. Posteriormente, el seguimiento se basó en los datos obtenidos a partir de las historias clínicas del Hospital Universitario Central de Asturias (HUCA).

Se utilizaron muestras tumorales en bloques de parafina de material quirúrgico (10 pacientes) y endoscópico (121 pacientes) fijado en formaldehído al 10% conservadas en los servicios de Anatomía Patológica del HUCA (un total de 106 pacientes) y de los Hospitales de Cabueñes (2 pacientes), Valle del Nalón (5 pacientes), San Agustín (12 pacientes) y Álvarez-Buylla (6 pacientes). Se obtuvo el consentimiento y la autorización de los centros hospitalarios conforme a las normas éticas vigentes.

### 2. Estudio biológico:

Se elaboraron TMA (tissue microarrays, matrices tisulares) con las muestras histológicas del tumor para la determinación por IHQ, FISH y secuenciación génica de las variables biológicas examinadas en este trabajo. En los pacientes donde se pudo obtener muestra histológica suficiente se procedió a determinar Sobreexpresión por Inmunohistoquímica de EGFR y Her2 neu, Mutación EGFR, y mutación de K-ras. Asimismo se pudo determinar en algunos pacientes (siete en total) la presencia de amplificación de EGFR por FISH.

Para la realización de los tissue microarrays se diseñó un sistema manual para la extracción e inserción de los cilindros. La técnica consistió en tomar tres pequeños

cilindros de cada bloque de parafina (bloque donante) e insertarlos de forma precisa en un bloque receptor de parafina. Se utilizaron cilindros de 1 mm y se seleccionaron las zonas más representativas del tumor en los cortes de hematoxilina-eosina. De cada caso se construyeron los tissue microarrays con tres representaciones del tumor. Los cilindros fueron obtenidos del centro, periferia y zonas intermedias del tumor. La homogeneización de las muestras una vez introducidas en el bloque receptor se realizó mediante calor. Se anotó la posición de cada cilindro, para poder identificarlos posteriormente. Se realizaron cortes de 4 micras para la tinción con hematoxilina-eosina y estudio inmunohistoquímico colocándose el material para su desparafinización en estufa a 60 grados durante un tiempo de 30 minutos. El instrumento utilizado fue el Tissue microarrayer (foto número 1)



Foto 1: Tissue microarrayer

La determinación de pruebas de Oncología Molecular se realizó en base a los bloques de material parafinado existentes en el banco de tumores del Servicio de Anatomía Patológica del Hospital Universitario Central de Asturias o solicitando muestra existente a los distintos hospitales comarcales de la red pública Asturiana para posterior determinación molecular en el Hospital Universitario Central de Asturias.

La Sobreexpresión de EGFR por se realizó por Inmunohistoquímica utilizándose un anticuerpo monoclonal de ratón antihumano DAKO® clon H11, dilución 1:300, definiéndose como positiva una tinción mayor o igual al 10% de las células.

La amplificación de EGFR, en los casos donde fue posible, se realizó por técnicas de Hibridación In situ fluorescente con conteo de señales en al menos 100 células tumorales para ser un resultado positivo. La sonda utilizada fue la EGFR Genycell biotech. Está marcada en rojo y abarca el gen completo en 295 Kb. La sonda control está marcada en verde y es el centrómero del cromosoma 7.

Las muestras fueron pretratadas a 95-97 grados durante diez minutos dejándolas posteriormente a temperatura ambiente durante 15 minutos más alternando con tampón de lavado. Se procedió a deshidratar con etanol la muestra en porcentajes crecientes hasta 96 grados aplicándose posteriormente 10 ml de la sonda citada sobre el cubre de la muestra y se desnaturalizó durante cinco minutos a 82° hibridándose a continuación a 45 horas en cámara húmeda durante una noche. Todas las muestras y en todas las determinaciones moleculares fueron analizadas en el mismo procedimiento.

La determinación de Sobreexpresión de Her2 neu se realizó con Herceptest® desarrollada por Dako® en las muestras de material parafinado. Se usó una lámina control positivo del DAKO Hercep Test TM que contiene tres clones celulares, con diferente expresión de la oncoproteína HER2 y en ocasiones se utilizaron controles alternativos.

La evaluación se realizó de forma semicuantitativa utilizando un microscopio de luz blanca y el marcaje se clasificó según la Guía para el uso del Herceptest, propuesta por DAKO y aceptada por la FDA:

Negativo( 0 ) , ausencia de coloración en toda o parte de la membrana citoplasmática, coloración en <10% de las células tumorales.  
Negativo( +1 ) , fina barrera de coloración en parte de la membrana citoplasmática, coloración > 10% de las células tumorales.  
Ligeramente positivo ( +2 ) , leve a moderada coloración en toda la membrana citoplasmática en > 10% de las células tumorales.

El Sistema de Visualización empleado fue el sistema de polímeros de dextrano En Vision. (DAKO®) basada en la utilización de un polímero de alto peso molecular, el dextrano, al que se conjugan covalentemente un gran número de moléculas de enzima y de anticuerpo secundario permitiendo incrementar la sensibilidad del método y permitiendo realizar la tinción con gran rapidez y simplicidad

Estudios Moleculares:

Se procedió a estudiar las mutaciones más frecuentes en el dominio tirosin kinasa del gen EGFR a partir de DNA obtenido de la muestra tumoral parafinada estudiándose deleciones en exón 19 y mutación L858R en el exón 21 que comprenden más del 85%

de las mutaciones detectadas en cáncer de pulmón. Para ello se utilizó un ensayo de alta sensibilidad con oligonucleótidos fluorescentes y electroforesis capilar y PCR específica de alelos con oligonucleótidos fluorescentes para la mutación L858R en el Servicio de Oncología Molecular del Hospital Universitario Central de Asturias. También se estudió a partir del DNA genómico obtenido de la muestra tumoral el exón 2 del gen K-ras donde se localizan los codones 12 y 13, los más frecuentemente mutados. Se amplificaron las regiones mencionadas mediante PCR con oligonucleótidos específicos y se secuenciaron directamente utilizando un instrumento ABIPrism-310. Los resultados fueron estudiados de forma manual.

### 3. Seguimiento, evaluación y análisis estadístico

Se recogieron datos de edad, género, histología, estadio, localización y número de metástasis, muestra histológica de diagnóstico, intervalo libre de tratamiento previo al ITK, progresión o no al tratamiento previo con QT, existencia o no de tratamiento/s posteriores al ITK e historia de hábito tabáquico dividiendo a los ex fumadores según tiempo transcurrido desde el abandono tabáquico.

La evaluación de inicio en los pacientes incluyó una historia clínica y examen físico completo, recuento hematológico, bioquímica con función hepática y renal, electrocardiograma y métodos de radiodiagnóstico, incluyendo radiología simple así como TAC. La exploración física y los análisis de laboratorio se llevaron a cabo cada 28 días durante el tiempo que los pacientes siguieron un tratamiento activo, independientemente de la naturaleza del mismo. La evaluación radiológica se repetía de forma bimensual salvo sospecha de progresión clínica, en cuyo caso se adelantaron todas las pruebas de seguimiento. Se examinó de forma basal en todos los pacientes historia de tratamientos previos, hábito tabáquico dividiendo a los ex fumadores en ex fumadores menor de 2 años, entre 2 y 5 años y más de 5 años, se realizó exploración física completa, determinación del Estado general según el Índice de Karnofsky.

Las toxicidades fueron recogidas y reflejadas conforme a los criterios de toxicidad habituales de la Common Terminology Criteria for Adverse Events versión 3.0

(Publicados en Dic 2003 y en Crit Rev Clin Lab Sci 1984;21) en las formas más frecuentemente descritas en la literatura (acné, diarrea).

La valoración de la respuesta fue llevada a cabo aplicando los criterios de la Organización Mundial de la Salud (OMS)<sup>27</sup>, descritos al final de este capítulo. En el cálculo de las Respuestas objetivas se incluyeron todos los pacientes por intención de tratar (IDT).

En el denominador del cociente de las respuestas todos los pacientes que cumplían criterios de inclusión fueron considerados.

La supervivencia libre de progresión (SLP) se midió desde el inicio del tratamiento sistémico hasta el día de confirmación de la recidiva o progresión de la enfermedad. Si algún paciente en el momento del análisis no presentaba ninguno de estos eventos fue censurado en las curvas de SLP. La supervivencia global (SG) se calculó desde el inicio del tratamiento con ITK hasta el día de la muerte del paciente. De nuevo, en el caso de que el evento no existiera en el momento del análisis, el dato era censurado.

Los datos y curvas de SLP y SG se estimaron mediante el método de Kaplan-Meier y la significación por el test de log rank<sup>28</sup>. Para el análisis de la asociación de los niveles de los cuatro marcadores moleculares y los dos analíticos estudiados con las distintas variables clínico-patológicas y analíticas adicionales se utilizó el estadístico Chi-cuadrado. El programa informático empleado para el análisis estadístico univariante estuvo basado fundamentalmente en el SPSS versión 15.0. Se consideró estadísticamente significativo un valor de  $p \leq 0.05$ .

## CRITERIOS DE EVALUACIÓN DE RESPUESTA DE LA OMS

**2.1 Lesión medible:** aquella en la que puede medirse tamaño en dos dimensiones. Se emplea el producto del diámetro mayor y el diámetro perpendicular a él más largo.

Tipos de respuesta: se evalúan por el cambio de la suma de los productos de los diámetros especificados. No se especifica un número máximo de lesiones. Se distingue:

- Respuesta completa: desaparición de toda la enfermedad conocida, confirmada a las cuatro o más semanas
- Respuesta parcial: descenso mayor o igual al 50% desde la medición basal, confirmado a las cuatro o más semanas
- Progresión de la enfermedad: incremento mayor o igual al 25% en el tamaño de una o más lesiones, o aparición de nuevas lesiones
- No cambios: no cumple criterios de respuesta parcial ni de progresión

**2.2 Lesiones evaluables no medibles:** (por ejemplo, linfangitis carcinomatosa, carcinomatosis peritoneal, ...)

- Respuesta completa: desaparición de toda enfermedad conocida, confirmada a las cuatro o más semanas
- Respuesta parcial: descenso estimado mayor o igual al 50%, confirmado a las cuatro semanas
- Progresión de la enfermedad: incremento estimado mayor o igual al 25% en lesiones existentes, o aparición de nuevas lesiones
- No cambios: no cumple criterios de respuesta parcial ni progresión

## RESULTADOS

### 1. Características de los pacientes

Desde Agosto de 2.002 hasta Marzo de 2.008 fueron registrados un total de 131 pacientes recibiendo al menos un ciclo (equivalente a 21 días) de tratamiento con Gefitinib o Erlotinib (inhibidor tirosin kinasa= ITK) y seguidos hasta el 15 de Junio del 2.011. La totalidad de los pacientes fueron evaluables para toxicidad, dos fueron considerados no evaluables para respuesta por suspensión precoz del tratamiento debido a pancreatitis y neumonitis pero fueron incluidos en la evaluación como intención de tratamiento (IDT). En el momento del análisis, todos los pacientes murieron excepto dos que permanecen vivos, uno de ellos sin progresión al ITK.

Las características generales y moleculares de los pacientes se exponen en las Tablas 3 y 4.

**Tabla 3. Características generales de los pacientes**

|                                  | <b>Pacientes<br/>tratados<br/>Gefitinib</b> | <b>Pacientes<br/>tratados<br/>Erlotinib</b> |
|----------------------------------|---|---|
| <b>N</b>                         | 17 (13,2%)                                  | 114 (86,8%)                                 |
| <b>Mediana de edad (límites)</b> | 55 (38-74)                                  | 60 (37-80)                                  |
| <b>Genero</b>                    |   |   |
| <b>Hombre</b>                    | 13 (76,5%)                                  | 76 (67,9%)                                  |
| <b>Mujer</b>                     | 4 (23,5%)                                   | 36 (32,1%)                                  |
| <b>Habito tabáquico</b>          |   |   |
| <b>Fumadores</b>                 | 6 ( 35,3%)                                  | 25 (22,3%)                                  |
| <b>Nunca Fumadores</b>           | 5 (29,4%)                                   | 33 (29,4%)                                  |
| <b>Ex fumadores</b>              | 6 (35,3%)                                   | 54 (48,2%)                                  |
| <b>Histología</b>                |   |   |
| <b>Epidermoide</b>               | 2 ( 11,8%)                                  | 23 (20,5%)                                  |
| <b>Adenocarcinoma</b>            | 13 (76,5%)                                  | 67 (59,8%)                                  |

|   |             |             |
|---|-------------|-------------|
| <b>Indiferenciado</b>                                   | 1 (5,9%)    | 14 (12,5%)  |
| <b>Bronquioloalveolar</b>                               | 1 (5,9%)    | 8 (7,1%)    |
| <b>Mediana Índice de Karnofsky (límites)</b>            | 70 (50-100) | 70 (50-100) |
| <b>Estadio</b>  |             |             |
| <b>Estadio IIIB</b>                                     | 2 (11,8%)   | 12 (10,7%)  |
| <b>Estadio IV</b>                                       | 15 (88,2%)  | 100 (89,3%) |
| <b>Localización tumoral</b>                             |             |             |
| <b>Enfermedad pulmonar</b>                              | 9 (53%)     | 42 (37,5%)  |
| <b>Enfermedad extrapulmonar</b>                         | 8 (47%)     | 70 (62,5%)  |
| <b>Mediana N° localizaciones metastásicas (límites)</b> | 2 (1-6)     | 2 (1-5)     |
| <b>Progresión a tratamiento previo</b>                  | 17 (100%)   | 52 (46,4%)  |
| <b>Mediana N° líneas previas QT recibidas (límites)</b> | 2 (1-3)     | 2 (1-4)     |

**Tabla 4. Características moleculares**

|                         | <b>Pacientes tratados con Gefitinib (%)</b> | <b>Pacientes tratados con Erlotinib (%)</b> | <b>Total</b> |
|-------------------------|---|---|--------------|
| <b>IHQ EGFR</b>         |   |   |              |
| <b>IHQ positiva</b>     | 5 (71,4)                                    | 20 (52,6%)                                  | 25           |
| <b>IHQ negativa</b>     | 2 (28,6)                                    | 18 (47,3%)                                  | 20           |
| <b>Mutación de EGFR</b> |   |   |              |
| <b>presente</b>         | 1 (14,2)                                    | 7 (18,4%)                                   | 8            |
| <b>ausente</b>          | 6 (85,8%)                                   | 31 (81,6%)                                  | 37           |
| <b>FISH EGFR</b>        |   |   |              |
| <b>positivo</b>         | 1 (100%)                                    | 5 (71,4%)                                   | 6            |
| <b>negativo</b>         | 0   | 2 (28,6%)                                   | 2            |
| <b>Mutación K-ras</b>   |   |   |              |
| <b>presente</b>         | 1 (14,2%)                                   | 8 (21,1%)                                   | 9            |
| <b>ausente</b>          | 6 (85,8%)                                   | 30 (78,9%)                                  | 36           |
| <b>IHQ Her2</b>         |   |   |              |
| <b>positiva</b>         | 1 (14,2%)                                   | 1 (2,6%)                                    | 2            |
| <b>negativa</b>         | 6 (85,8%)                                   | 37 (87,4%)                                  | 43           |

## COMPARATIVAS DE LOS GRUPOS DE TRATAMIENTO

Analizando el hábito tabáquico se observa similitud entre ambos grupos de tratamiento con un 70% de fumadores activos. En cuanto al género en los pacientes tratados con gefitinib las mujeres representaron el 76% del total, mientras que en el grupo de erlotinib esa cifra fue del 67%. En ambos grupos, la enfermedad diseminada representó el 90% de los casos. Tampoco hubo diferencias aparentes en las histologías, número de localizaciones metastásicos ni en la mediana de estado general de los pacientes (Tabla 3). La diferencia más llamativa entre los dos grupos analizados fue que el 100% de los tratados con gefitinib estaban en progresión previa a quimioterapia con respecto al 46,5% de los que recibieron erlotinib.

En cuanto a las características moleculares, fue posible el análisis de los distintos parámetros en aproximadamente la tercera parte de pacientes estudiados con material histológico parafinado disponible para tal determinación. Se registró un mayor porcentaje de casos con sobreexpresión de EGFR (71% vs 52%), Her-2 (14% vs 2,6%) y amplificación (100% vs 71%) en el grupo de pacientes tratados con gefitinib. No se observaron diferencias llamativas entre los dos grupos de tratamiento en el resto de variables biológicas analizadas en relación con presencia o ausencia de mutación de EGFR y k-ras (tabla 4).

## 2. Relaciones entre las distintas variables estudiadas:

Analizando los 131 pacientes de forma global y la relación entre Histología y Hábito tabáquico se observó que los no fumadores tenían adenocarcinoma en el 73% de los casos frente a un 5% con histología de carcinoma epidermoide. En los fumadores la histología más frecuente siguió siendo adenocarcinoma representando el 57% frente al 25% con histología de carcinoma epidermoide ( $p= 0,01$ ) (tabla 5). El resto de los pacientes se repartieron en histología indiferenciada o bronquioloalveolar.

**Tabla 5. Relación entre hábito tabáquico e histología**

|                       | Fumadores o exfumadores n(%) | No fumadores n(%) |
|-----------------------|------------------------------|-------------------|
| <b>Epidermoide</b>    | 23(25)                       | 2(5)              |
| <b>Adenocarcinoma</b> | 52(57)                       | 28(73)            |

**p= 0,01**

Respecto a Sexo e Histología el adenocarcinoma fue el subtipo más frecuente en mujeres que en hombres (75% vs 56%) mientras el carcinoma epidermoide sólo se observó en un 12% en las mujeres frente al 44% en los varones ( $p=0,14$ ) (tabla 6).

**Tabla 6. Relación entre sexo e histología**

|                       | Hombres | Mujeres |
|-----------------------|---------|---------|
| <b>Epidermoide</b>    | 20(44)  | 5(12)   |
| <b>Adenocarcinoma</b> | 50(56)  | 30(75)  |

**P=0,14**

En relación a los diversos factores de biología molecular analizados según histología, de los nueve pacientes con carcinoma epidermoide en los que se realizó la determinación de sobreexpresión de EGFR, el 77% tuvieron resultado positivo frente al 57% en adenocarcinomas. En la totalidad de los nueve carcinomas epidermoides donde se analizó la mutación EGFR, esta fue negativa mientras que en adenocarcinomas la positividad fue en un 27%, similar al 25% de casos bronquioloalveolar (p= 0,09). Respecto a la amplificación EGFR, se observó en el 100% de adenocarcinomas analizados aunque con un número muy escaso de pacientes (cinco) donde se pudo realizar dicha determinación. La mutación de K-ras fue inexistente en todos los epidermoides analizados mientras que un 26% de los pacientes con adenocarcinoma en los que se realizó la determinación presentaron dicha mutación (p= 0,15). Destacar referente a la sobreexpresión de Her2, la negatividad de dicha determinación en la totalidad de los adenocarcinomas analizados frente a un 22% de casos positivos en carcinomas epidermoides (p= 0,06) (tabla 7).

**Tabla 7: Relación entre factores moleculares e histología**

|                       | <b>IHQ<br/>EGFR<br/>positiva</b> | <b>IHQ<br/>EGFR<br/>negativa</b> | <b>FISH<br/>EGFR<br/>positivo</b> | <b>FISH<br/>EGFR<br/>negativo</b> | <b>Mutación<br/>EGFR<br/>presente</b> | <b>Mutación<br/>EGFR<br/>ausente</b> |
|-----------------------|----------------------------------|----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|---------------------------------------|--------------------------------------|
| <b>Epidermoide</b>    | 7(77)                            | 2(23)                            | 1(100)                            | 0(0)                              | 0(0)                                  | 9(100)                               |
| <b>Adenocarcinoma</b> | 15(57)                           | 11(42)                           | 5(100)                            | 0(0)                              | 7 (27)                                | 19(73)                               |
| <b>Valor de p</b>     | 0,134                            | 0,134                            | N/A                               | N/A                               | 0,098                                 | 0,098                                |

|                       | <b>Mutación<br/>K-ras<br/>presente</b> | <b>Mutación<br/>k-ras<br/>ausente</b> | <b>IHQ<br/>Her2<br/>Positiva</b> | <b>IHQ<br/>Her2<br/>negativa</b> |
|-----------------------|--|---------------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|
| <b>Epidermoide</b>    | 0(0)                                   | 9(100)                                | 2(22)                            | 7(78)                            |
| <b>Adenocarcinoma</b> | 7(26)                                  | 19(74)                                | 0(0)                             | 26(100)                          |
| <b>Valor de p</b>     | 0,153                                  | 0,153                                 | 0,061                            | 0,061                            |

Se investigaron las distintas asociaciones posibles entre los parámetros estudiados observándose que en los ocho pacientes analizados la positividad de EGFR excluía mutación en K ras mientras que un 25% de pacientes EGFR con mutación ausente presentaban mutación en K ras ( $p=0,14$ ). Todos los pacientes con sobre-expresión también tenían presente la mutación ( $p= 0,00$ ). No se observó una relación significativa entre la mutación y amplificación de EGFR ( $p=0,46$ ). Lo mismo fue registrado entre las mutaciones EGFR y Kras ( $p=0,14$ ). En cuanto a la relación entre Kras y sobreexpresión de EGFR, se observó que el 92% de los pacientes k-ras negativo eran EGFR positivo ( $p=0.03$ ) (Tabla 8).

**Tabla 8: Asociaciones entre variables y valores de p**

|          | <b>Mutación EGFR-<br/>Mutación K-<br/>ras</b> | <b>IHQ EGFR-<br/>Mutación<br/>EGFR</b> | <b>Mutación EGFR<br/>FISH EGFR</b> | <b>Mutación EGFR-<br/>Mutación k-<br/>ras</b> | <b>IHQ EGFR-<br/>Mutación K-<br/>ras</b> |
|----------|---|--|------------------------------------|---|--|
| <b>p</b> | 0,140   | 0,005                                  | 0,464                              | 0,140   | 0,03                                     |

En cuanto a la asociación entre Fumador y los distintos parámetros moleculares estudiados, se observó que un 73% de los pacientes con IHQ positiva para EGFR eran no fumadores mientras que en los fumadores prácticamente se dividen a partes iguales el resultado positivo y el negativo ( $p= 0,08$ ). En los pacientes fumadores, la mutación de EGFR no estaba presente en el 97% de los casos analizados ( $p=0,00$ ). La amplificación de EGFR fue registrada en el 80% de los no fumadores ( $p= 0,64$ ). La mutación de k-ras se observó en el 94% de los casos fumadores y ex fumadores frente a solo el 6% de los nunca fumadores ( $p= 0,11$ ). En relación a Her2 y hábito tabáquico los escasos tres resultados positivos no permiten sacar conclusiones con un interés estadístico mínimo (Tabla 9).

**Tabla 9: Determinaciones moleculares según hábito tabáquico n(%)**

| <b>Hábito tabáquico</b>     | <b>IHQ<br/>EGFR<br/>Positivo</b> | <b>Mutación<br/>EGFR<br/>Presente</b> | <b>FISH<br/>EGFR<br/>positivo</b> | <b>Mutación<br/>K ras<br/>presente</b> |
|-----------------------------|----------------------------------|---------------------------------------|-----------------------------------|--|
| <b>Fumador o Ex fumador</b> | 11(27)                           | 1(3)                                  | 1(20)                             | 14(94)                                 |
| <b>No fumador</b>           | 4(73)                            | 29(97)                                | 4(80)                             | 1(6)                                   |
| <b>Valor de p</b>           | 0,08                             | 0,001                                 | 0,64                              | 0,11                                   |

### **3. Análisis de Respuesta:**

De 131 pacientes incluidos en el estudio, dos pacientes (1,7%) fueron considerados no evaluables para actividad por retirada precoz del tratamiento con erlotinib, siendo considerados para la evaluación por IDT. En ninguno de los grupos de tratamiento se registró respuesta completa con una tendencia a un mayor porcentaje de respuestas parciales en el tratamiento con erlotinib (17% vs 6%) a diferencia del grupo de pacientes tratados con gefitinib que experimentaron mayor porcentaje de estabilización de la enfermedad (47% vs 35%) (tabla 10).

**Tabla 10: Respuesta al tratamiento**

|                               | <b>Pacientes tratados con gefitinib (%)</b> | <b>Pacientes tratados con erlotinib (%)</b> |
|-------------------------------|---|---|
| <b>Número</b>                 | 17  | 114   |
| <b>Respuesta completa</b>     | 0   | 0   |
| <b>Respuesta parcial (RP)</b> | 1 (6)                                       | 19 (17)                                     |
| <b>No cambios (NC)</b>        | 8 (47)                                      | 40 (35,7)                                   |
| <b>Progresión (PD)</b>        | 8 (47)                                      | 53 (47,3)                                   |
| <b>No evaluable</b>           | 0   | 2 (1,7)                                     |

#### **4. Toxicidades según el fármaco:**

Se consideraron evaluables para toxicidad los 131 pacientes incluidos en el estudio, quedando reflejadas los principales efectos secundarios y su intensidad registrados en la tabla 9. Destaca la mayor toxicidad registrada y en el grado de intensidad con el tratamiento de erlotinib tanto en la toxicidad cutánea cutánea, diarrea y de forma extraordinaria en toxicidad pulmonar y digestiva. Dicha toxicidad obligó a reducir la dosis de erlotinib en el 18% de los pacientes pero sin interrupción del mismo de forma definitiva frente a ningún caso utilizando gefitinib (tabla 11).

**Tabla 11: Toxicidades registradas**

|                             | <b>Pacientes tratados con gefitinib<br/>N (%)</b> | <b>Pacientes tratados con erlotinib<br/>N (%)</b> |
|-----------------------------|---|---|
| <b>Número</b>               | 17  | 114   |
| <b>Acné</b>                 |   |   |
| <b>grado 0</b>              | 7 (41)  | 41 (36,6)   |
| <b>grado 1</b>              | 8 (47)  | 31 (27,7)   |
| <b>grado 2</b>              | 2 (12)  | 24 (21,4)   |
| <b>grado 3</b>              | 0   | 14 (2,5)  |
| <b>grado 4</b>              | 0   | 2 (11,8)  |
| <b>Diarrea</b>              |   |   |
| <b>grado 0</b>              | 14 (82)   | 89 (79,5)   |
| <b>grado 1</b>              | 3 (18)  | 14 (12,5)   |
| <b>grado 2</b>              | 0   | 4 (3,5)   |
| <b>grado 3</b>              | 0   | 4 (3,5)   |
| <b>grado 4</b>              | 0   | 1 (1)   |
| <b>Toxicidad pulmonar</b>   |   |   |
| <b>grado 1</b>              | 0   | 1 (1)   |
| <b>grado 4</b>              | 0   | 1 (1)   |
| <b>Pancreatitis grado 4</b> | 0   | 1 (1)   |
| <b>Reducción dosis</b>      | 0   | 21 (18)   |

### **Análisis de supervivencia libre de progresión y Supervivencia global:**

Los 131 pacientes incluidos en el estudio fueron valorados para las variables de SLP y SG. En el momento del análisis del estudio solamente dos pacientes se encontraban vivos, uno de los cuales continúa en tratamiento activo con erlotinib y el otro se encuentra en progresión al mismo recibiendo tratamiento citotóxico. En el grupo de gefitinib la mediana de SLP fue de 73 días (23-560) frente a los 90 días obtenidos con erlotinib (17-2040) mientras que la mediana de SG fue de 282 (24-1585) y 210 (26-2040) respectivamente ( $p=0,00$ ) (Tabla 12).

**Tabla 12: Análisis de la SLP y SG**

|   | <b>Gefitinib (IC 95%)</b> | <b>Erlotinib (IC 95%)</b> |
|---|---------------------------|---------------------------|
| <b>Número</b>   | 17                        | 114                       |
| <b>Mediana de Supervivencia Libre de Progresión (IC al 95%)</b> | 73 (23-560)               | 90 (17-2040)              |
| <b>Mediana de Supervivencia Global (IC al 95%)</b>              | 282 (24-1585)             | 210 (26-2040)             |

**$p=0,00$**

#### 4.5 VARIABLES RELACIONADAS CON RESPUESTA, SLP Y SG:

##### A. Análisis de actividad relacionada con toxicidad cutánea

La mayoría de los pacientes que hacen respuesta parcial al tratamiento desarrollaron acné (80%) de forma que los pacientes respondedores y en no cambios hicieron más acné que los pacientes que progresaron de forma precoz a ITK ( $p=0,00$ ) (tabla 13).

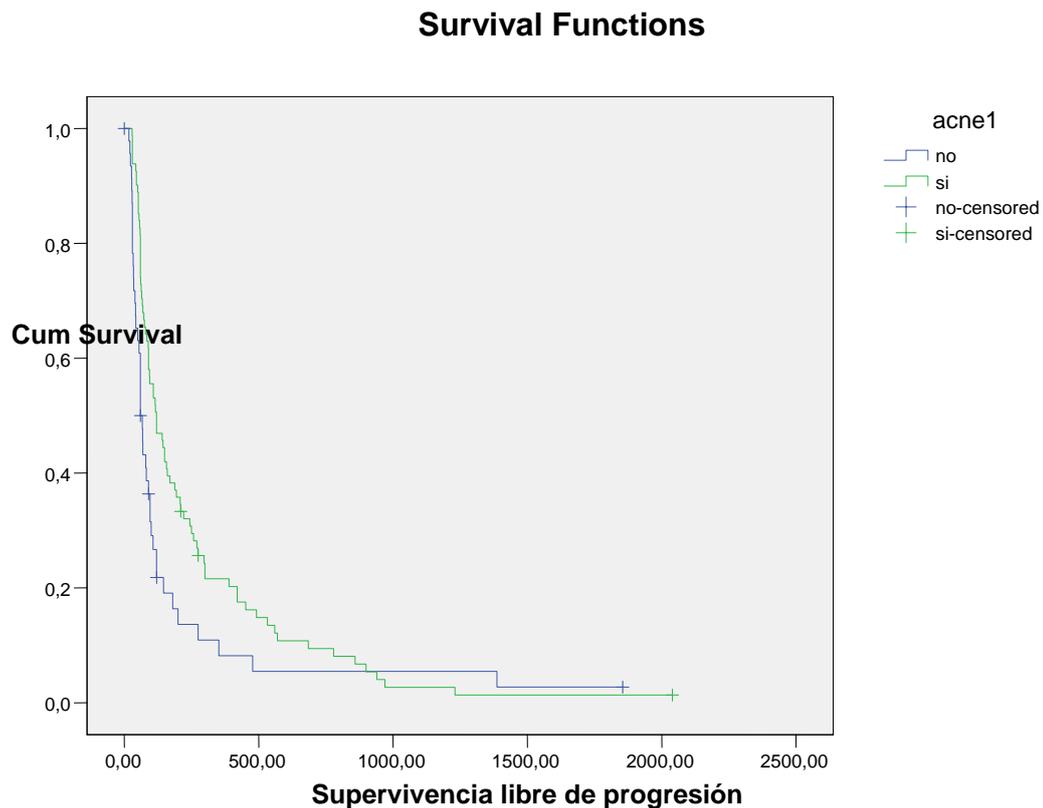
**Tabla 13: Respuesta y Supervivencia según toxicidad cutánea**

|                                      | <b>Acné</b>  | <b>No acné</b> |
|--------------------------------------|--------------|----------------|
|                                      | <b>N (%)</b> | <b>N (%)</b>   |
| <b>Pacientes que hacen respuesta</b> | 16(80)       | 4(20)          |
| <b>Pacientes que progresan</b>       | 28(49)       | 29(51)         |
| <b>SLP (mediana)</b>                 | 120          | 60             |
| <b>SG (mediana)</b>                  | 365          | 96             |

**$p=0,00$**

La mediana de SLP fue de 120 días (IC al 95%: 72,1-167,9) en pacientes con acné frente a 60 días que no lo hicieron ( $p=0,01$ ). Dicha mediana no guardó relación con el grado de intensidad de la toxicidad cutánea acné ( $p=0,16$ ). Así, en el grado I la mediana registrada en los pacientes fue de 144 días (64,5-223,5) frente a 90 días

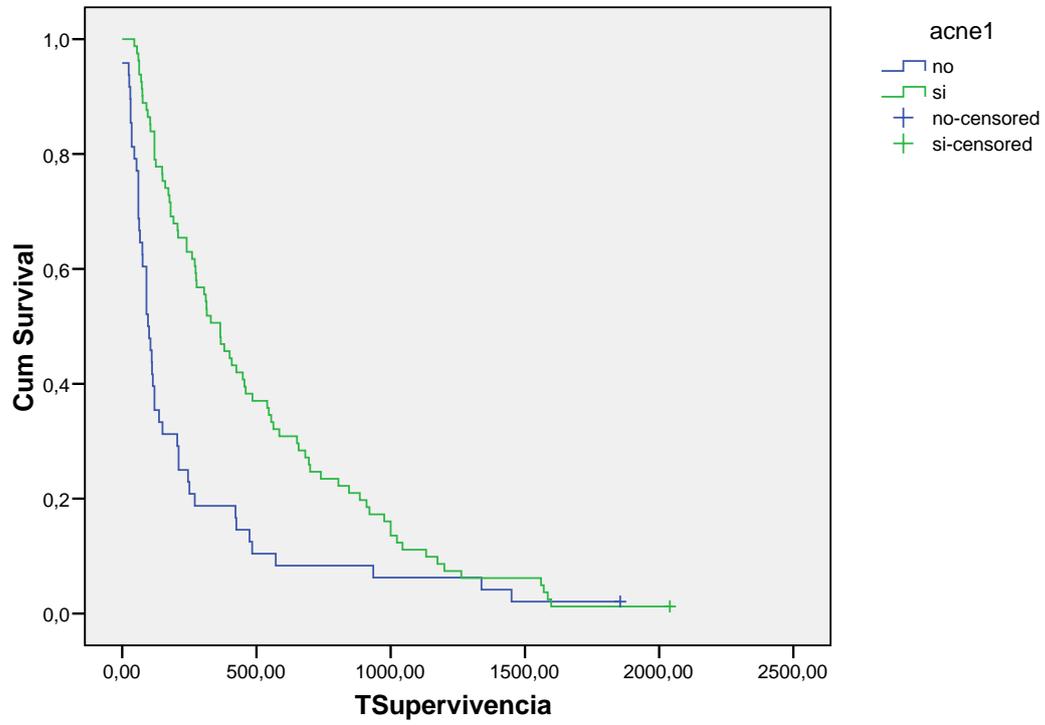
(66-113,9) con grado II y 116 días con grado III (51,8-180,1). Por ese motivo y al objeto de simplificar los resultados obtenidos se exponen los datos agrupados en acné si o no en cualquier grado en la curva de SLP (Figura 1).



**Figura 1: SLP según toxicidad cutánea (p=0.01)**

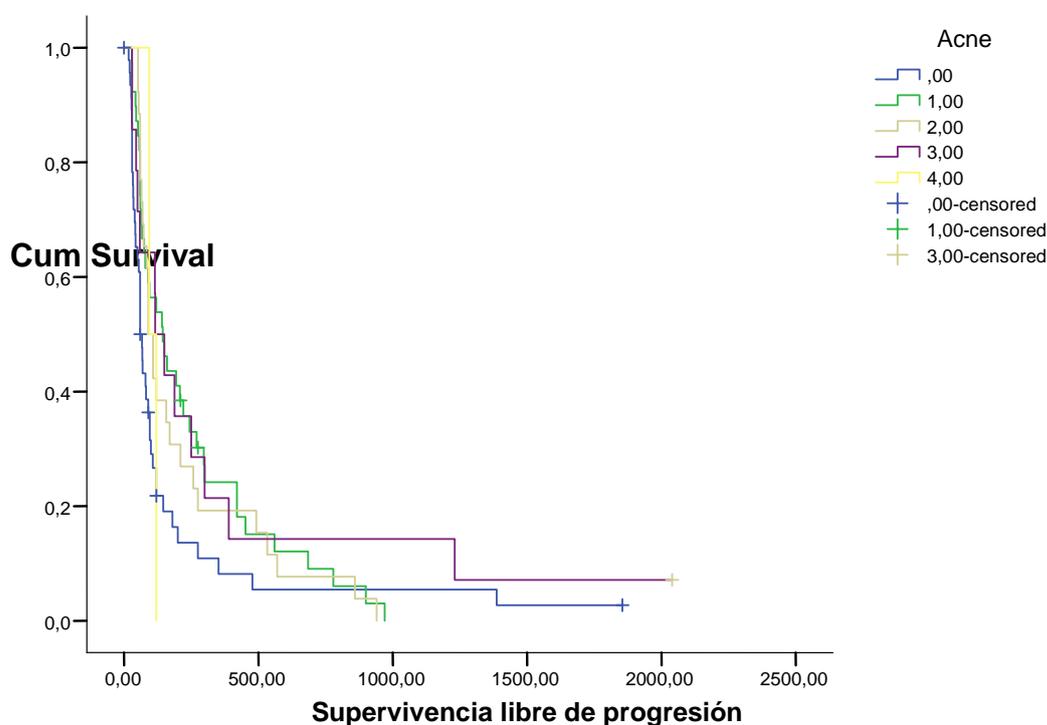
Respecto a la mediana de supervivencia global según toxicidad fue de 365 días (271,9-458) en pacientes que desarrollaron acné y de 96 días (67,1-124,8) en pacientes sin acné ( p=0,00) (figura 2). No hubo diferencias en SLP y SG entre los dos grupos de tratamiento gefitinib o erlotinib entre sí en relación a la toxicidad cutánea.

### Survival Functions



**Figura 2: SG según toxicidad cutánea (p= 0,00)**

### Survival Functions



**Figura 3: SLP según grados de acné**

#### B. Análisis actividad relacionada con la toxicidad en forma diarrea

El 40% de los pacientes que hicieron respuesta al tratamiento presentaron diarrea frente al 23% de los que hicieron no cambios y el 10% de los que progresaron de forma temprana al tratamiento ( $p=0,02$ ).

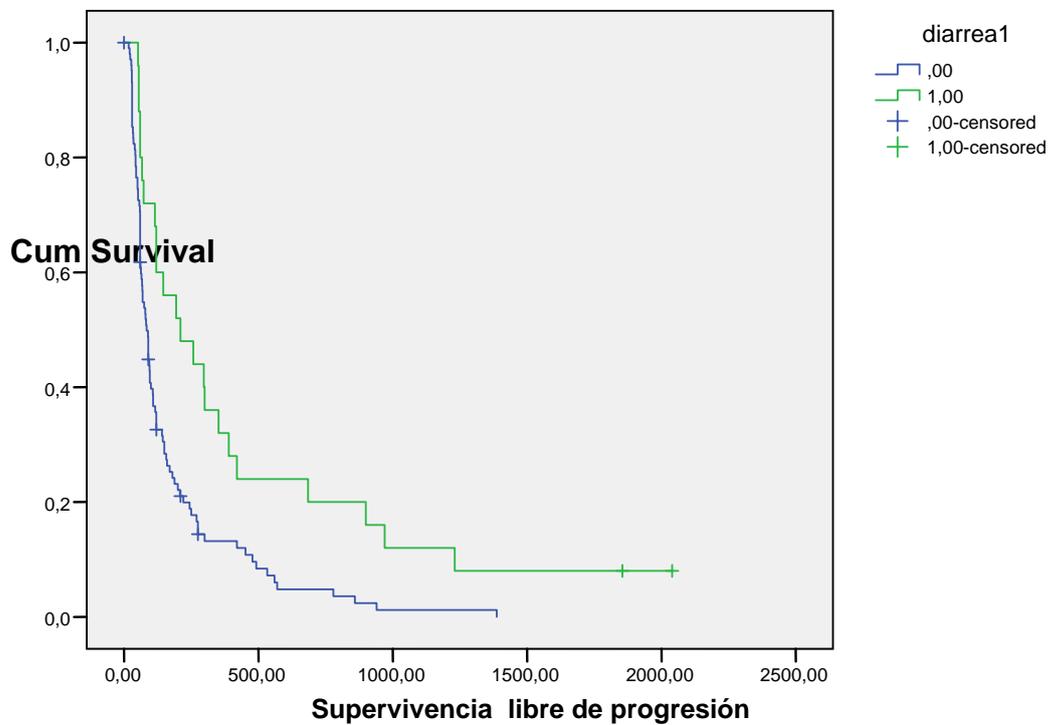
La mediana de SLP en los 25 pacientes (19,3%) que hicieron diarrea fue de 210 días (27,2-392,8) frente a 84 días (66,1-101,9) que no presentaron ( $p=0,001$ ). La mediana de SG en los pacientes con diarrea fue de 484 días (4,2-963,7) frente a 205 días (123,6-286,3) de los que no la presentaron ( $p=0,00$ ) (tabla 14). Tampoco hubo diferencias en SLP y SG entre los dos grupos de pacientes.

**Tabla 14: Respuesta y Supervivencia según diarrea**

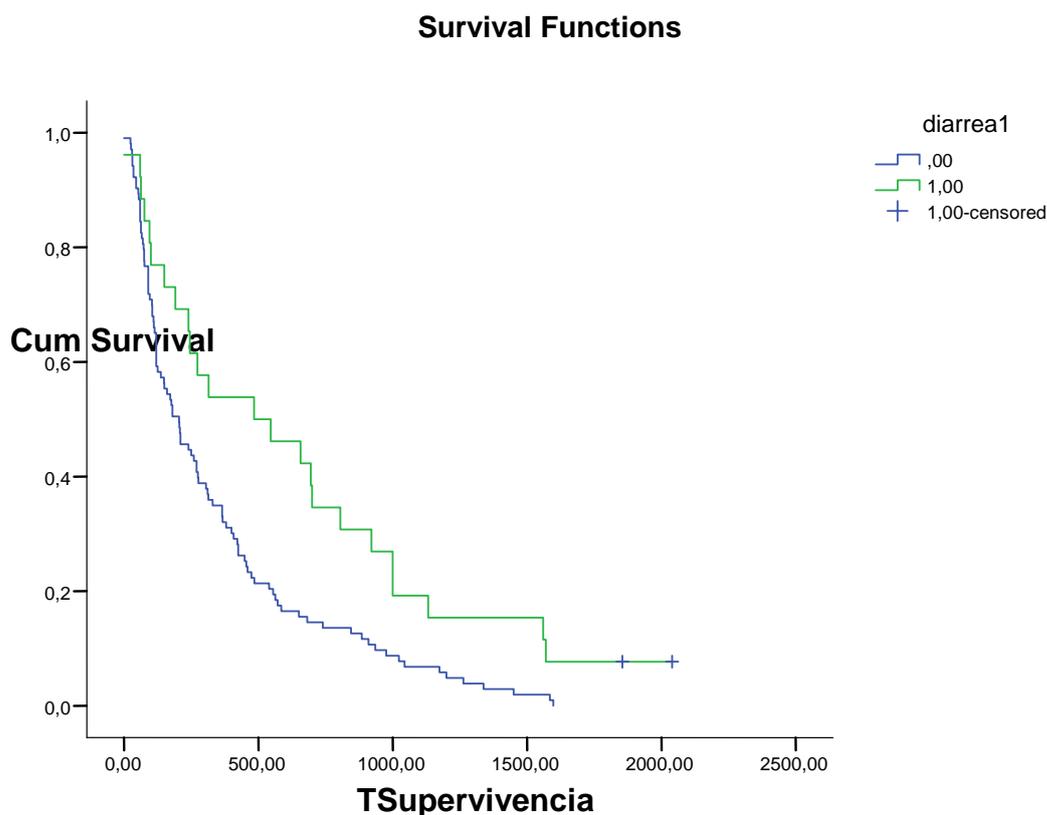
|                                      | <b>Diarrea</b> | <b>No diarrea</b> |
|--------------------------------------|----------------|-------------------|
| <b>Pacientes que hacen respuesta</b> | 8(40)          | 12(60)            |
| <b>Pacientes que progresan</b>       | 6(10)          | 51(90)            |
| <b>SLP (mediana)</b>                 | 210            | 84                |
| <b>SG (mediana)</b>                  | 484            | 205               |

**p=0,02**

**Survival Functions**



**Figura 4: SLP según toxicidad en forma de diarrea (p=0,00)**



**Figura 5: SG según toxicidad en forma de diarrea (p=0,00)**

C. Análisis de la actividad en relación con el hábito tabáquico y género

Respecto al hábito tabáquico el 70% de pacientes que experimentaron respuesta eran no fumadores mientras que entre los pacientes que progresaron el 84% eran fumadores o ex fumadores (p=0,00).

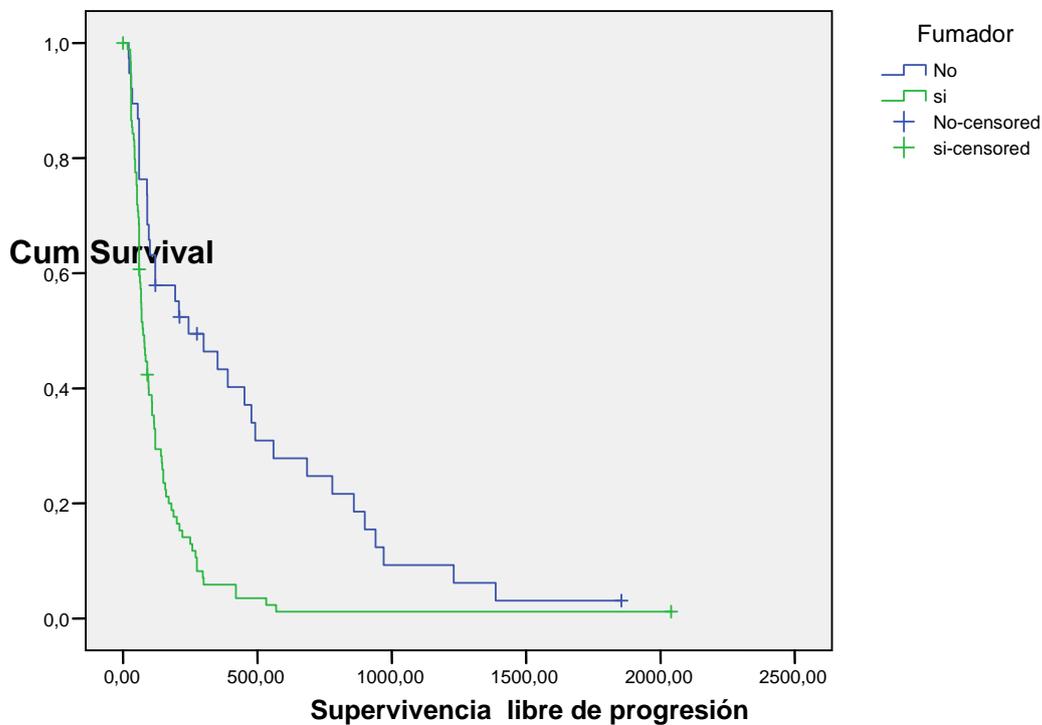
La mediana de SLP en los pacientes nunca fumadores (29,4% del total) fue de 244 días (29,9-458,1) frente a 75 días en los fumadores en activo o ex fumadores (59,2-90,7) (p=0,00). La mediana de SG en no fumadores fue de 484 días (132,1-835,8) y en fumadores de 180 días (123,1-236,8) (Tabla 15) (p=0,00). Tampoco se encontraron diferencias entre gefitinib y erlotinib en relación al hábito tabáquico.

**Tabla 15: Respuesta y Supervivencia según hábito tabáquico**

|                                      | <b>Fumador</b> | <b>No fumador</b> |
|--------------------------------------|----------------|-------------------|
| <b>Pacientes que hacen respuesta</b> | 6(30)          | 14(70)            |
| <b>Pacientes que progresan</b>       | 48(84)         | 9(16)             |
| <b>SLP (mediana)</b>                 | 75             | 244               |
| <b>SG (mediana)</b>                  | 180            | 484               |

**p=0,00**

**Survival Functions**



**Figura 6: SLP según hábito tabáquico (p=0,00)**

Dada la posible actuación como factor de confusión del sexo con el hábito tabáquico se determinaron las curvas de SLP en pacientes fumadores según sexo observándose una intensa relación entre ambas variables de tal forma que las mujeres representaron el 63,2% de los no fumadores frente al 36,8% de los hombres. Por el contrario, los

hombres representaron el 82,4% de los casos fumadores o ex fumadores. En pacientes hombres y fumadores la mediana de SLP fue de 73 días (57,4-88,5) frente a 90 días en las mujeres fumadoras (57,4-122,5) ( $p=0,48$ ). En no fumadores la mediana de SLP fue de 96 días en hombres y 352 en mujeres siendo la mediana de SG de 275 (164-385) y de 563(81-1044) respectivamente ( $p=0,20$ ). (Tablas 16 y 17).

**Tabla 16: Supervivencia en pacientes fumadores**

| <b>Pacientes Fumadores</b> | <b>Hombres</b> | <b>Mujeres</b> |
|----------------------------|----------------|----------------|
| <b>SLP (mediana)</b>       | 73(57-88)      | 90(57-122)     |
| <b>SG (mediana)</b>        | 160(93-226)    | 210(95-324)    |

**$p=0,48$**

**Tabla 17: Supervivencia en pacientes no fumadores**

| <b>Pacientes no fumadores</b> | <b>Hombres</b> | <b>Mujeres</b> |
|-------------------------------|----------------|----------------|
| <b>SLP (mediana)</b>          | 96(0-312)      | 352(0-743)     |
| <b>SG (mediana)</b>           | 275(164-385)   | 563(81-1044)   |

**$p=0,20$**

### Survival Functions

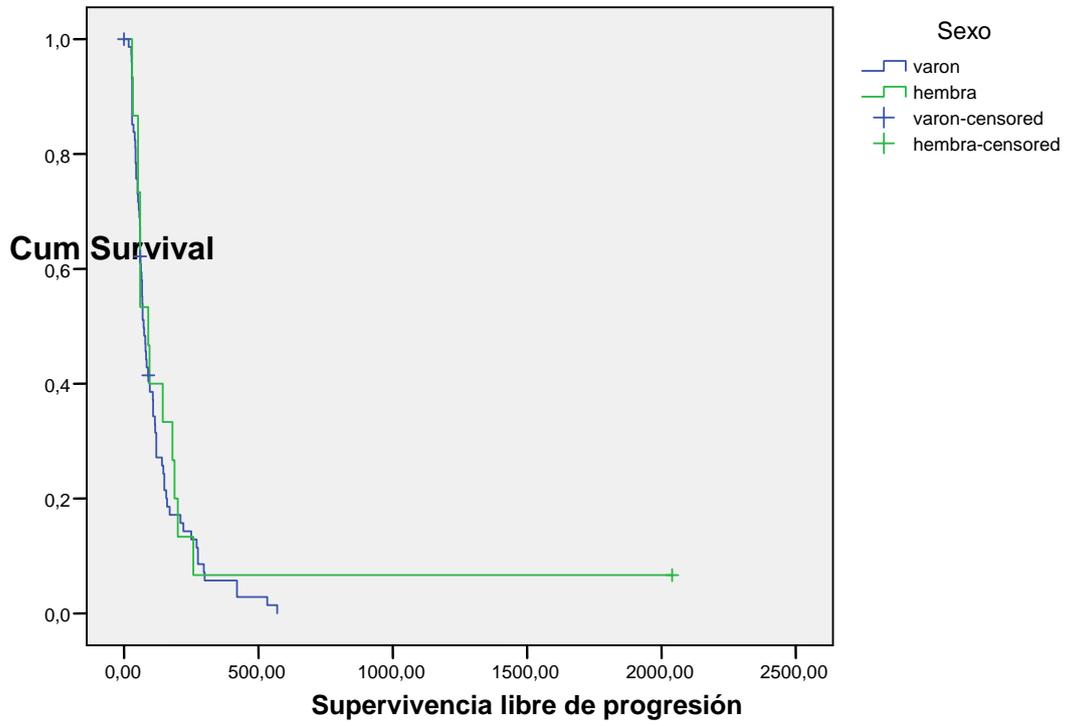
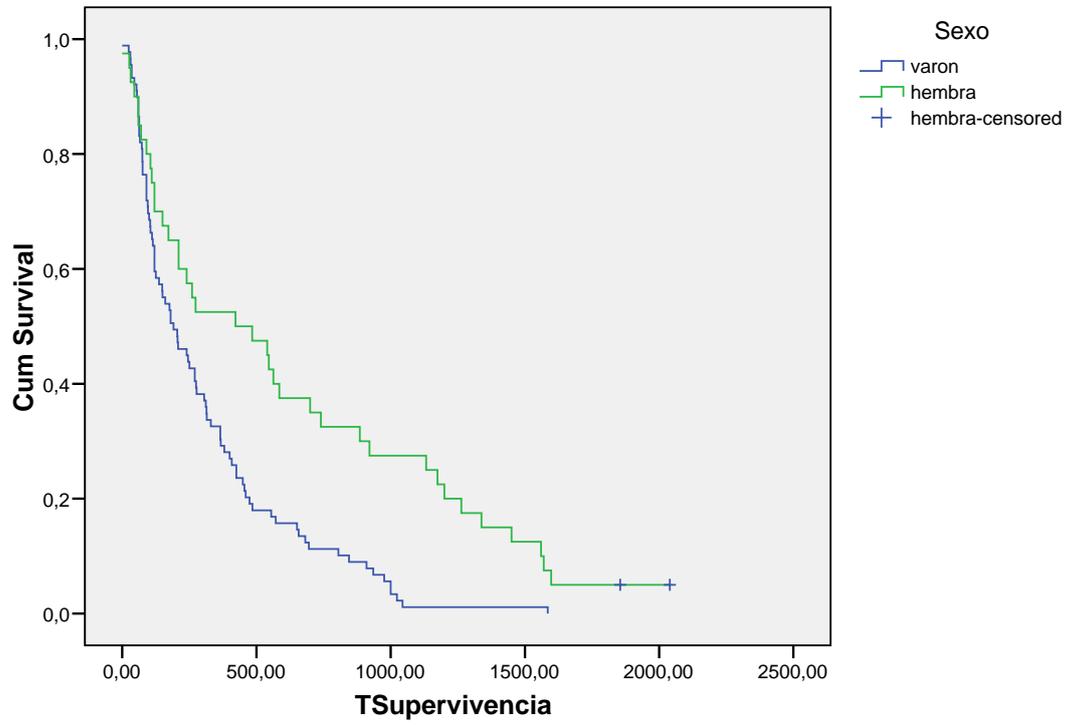


Figura 7: SLP según género (p=N/A)

### Survival Functions



**Figura 8: SG según género (p=N/A)**

## Survival Functions

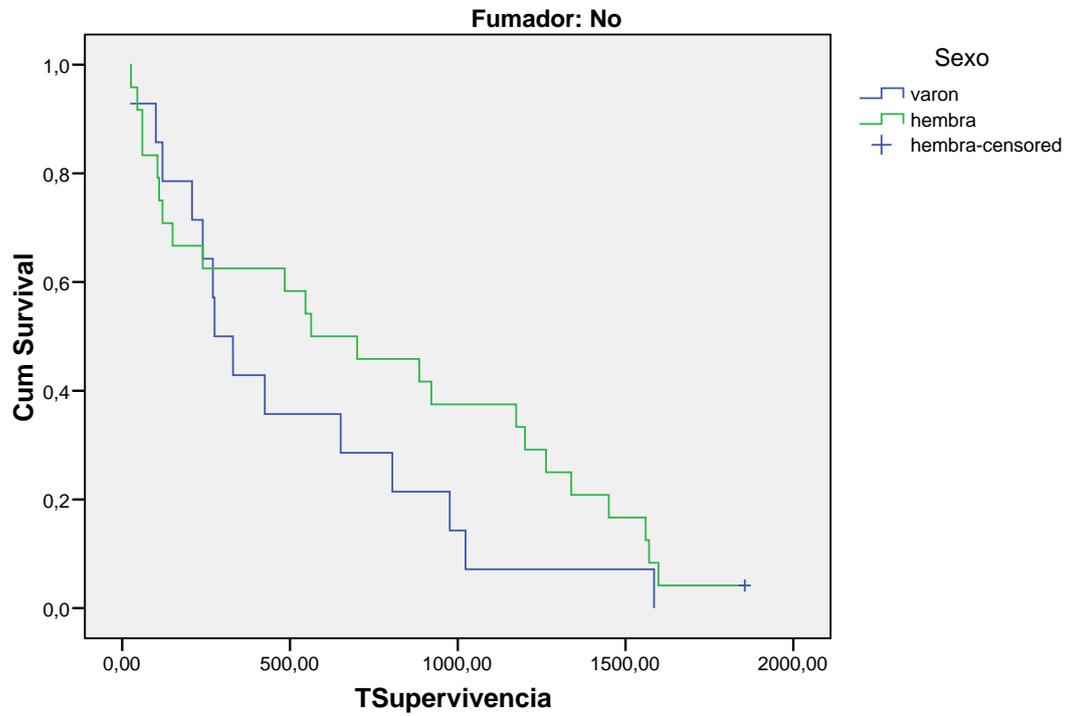
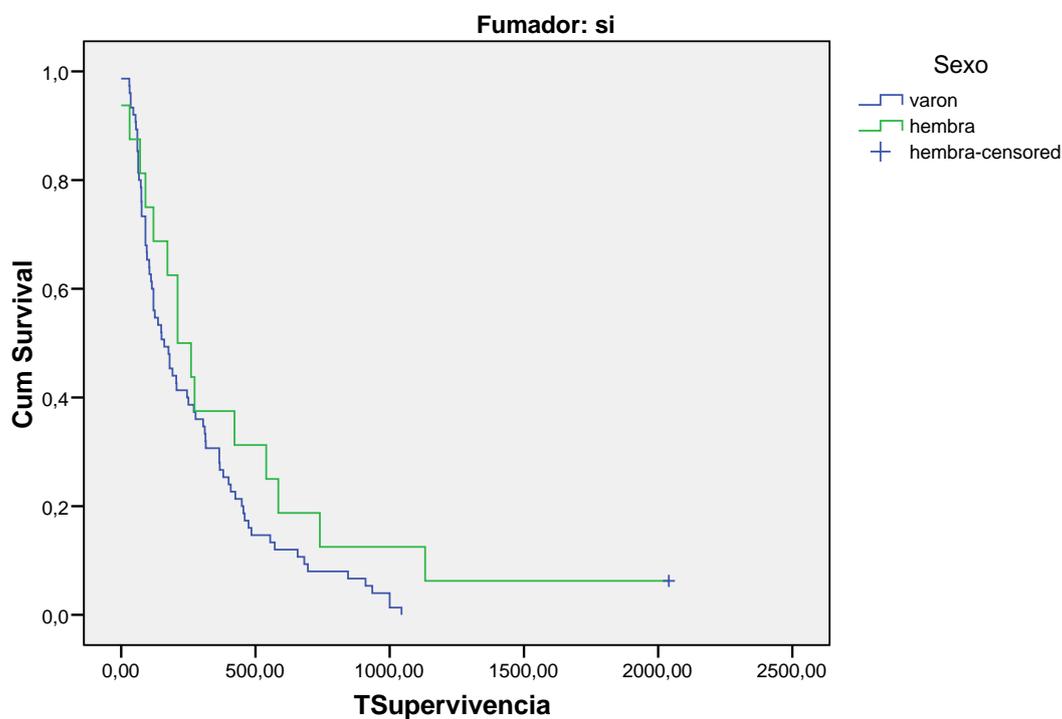


Figura 9: SG según género en no fumadores ( $p=0,20$ )

## Survival Functions



**Figura 10: SG según género en fumadores (p=0,48)**

### D. Análisis de actividad y relación con la histología

En relación a la predicción de respuestas, la histología con mayor porcentaje de respuesta fue adenocarcinoma con un 75% frente al 5% en carcinoma epidermoide ( $p=0,27$ ). Se calculó la SLP en los distintos subtipos, siendo la mediana de 116 días en los epidermoides (80,7-151,2), 90 en los adenocarcinomas (54,2-125,7), 79 en los

carcinomas indiferenciados (46,2-111,7) y de 96 días en los bronquioloalveolares (0-201,1) (p=0,47).

Al analizar la SG respecto a histologías se observó que para el subtipo epidermoide la mediana de SG fue de 180 días (90,6-269,3), para el adenocarcinoma fue de 245 días (171,5-318,4), en los tumores indiferenciados 270 días (8,6-531,3) y por último en los bronquioloalveolares fue de 120 días (92,2-147,7) (Tabla 18) (p= 0,13).

**Tabla 18: Respuesta y Supervivencia según histología:**

|                               | Epidermoide | Adenocarcinoma | Indiferenciado | Bronquioloalveolar | p   |
|-------------------------------|-------------|----------------|----------------|--------------------|-----|
| Pacientes que hacen respuesta | 1(5)        | 15(75)         | 2(10)          | 2(10)              |     |
| SLP (mediana)                 | 116(80-151) | 90(54-125)     | 79             | 96                 | 0,4 |
| SG (mediana)                  | 180(90-269) | 245(171-318)   | 270(8-531)     | 120(92-147)        | 0,1 |

### Survival Functions

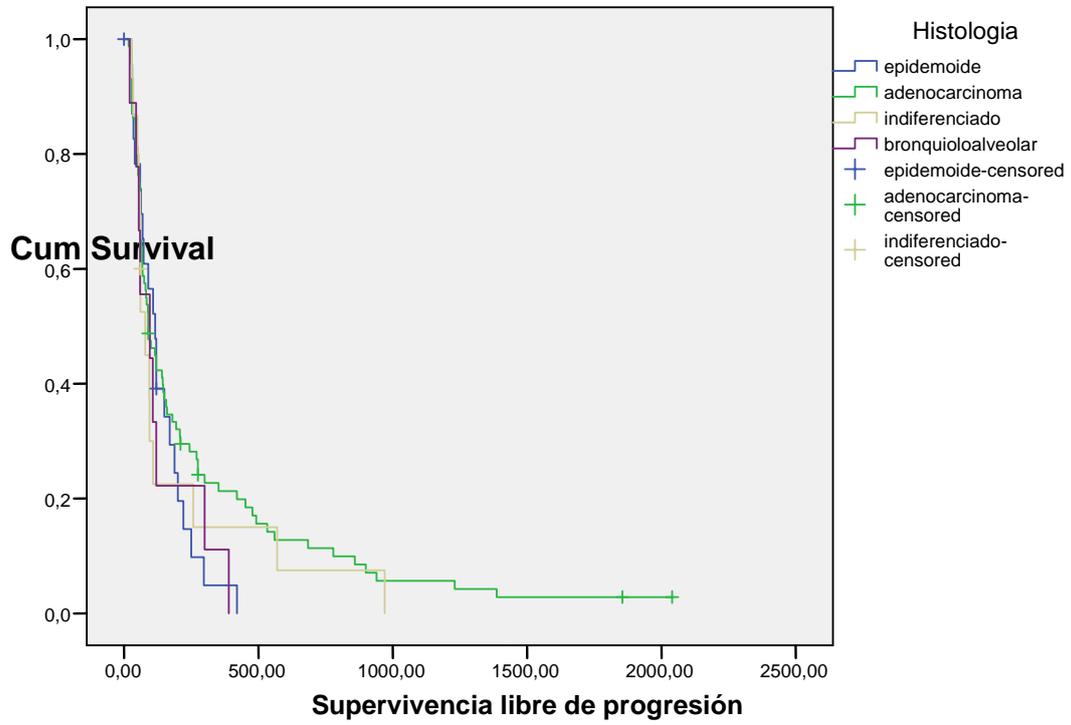
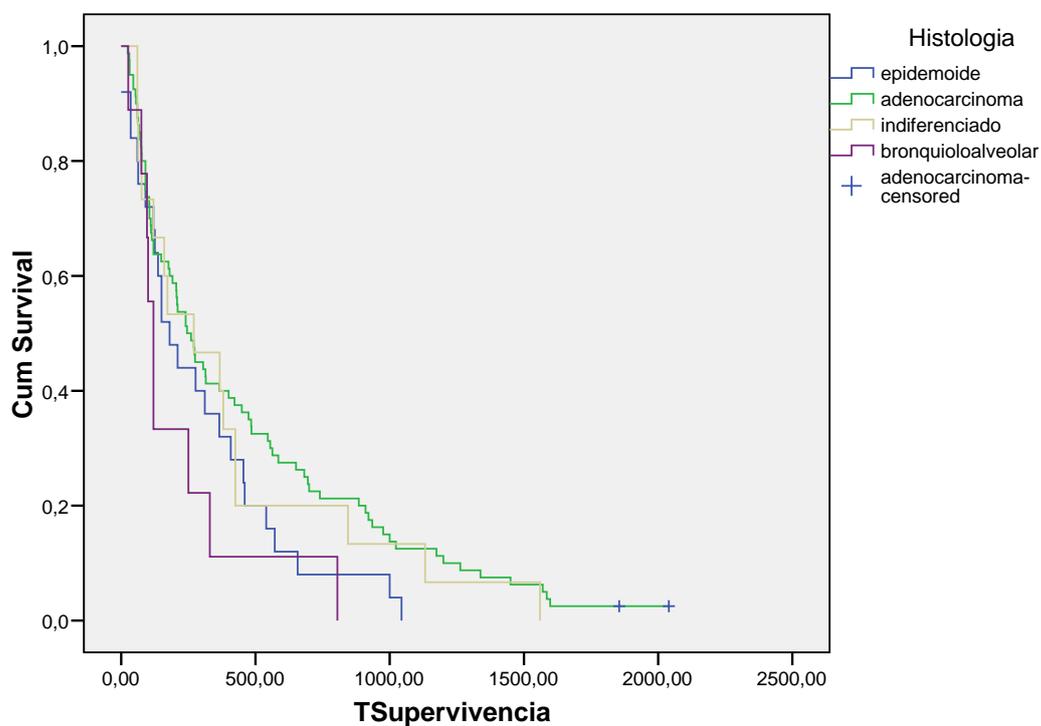


Figura 11: SLP según histología

## Survival Functions



**Figura 12: SG según histología**

### E. Analisis de actividad y Factores moleculares:

En relación a la asociación entre sobreexpresión de EGFR y respuestas obtenidas se observó un 100% de casos positivos en los pacientes respondedores mientras que la sobreexpresión de EGFR se observó en el 50% de pacientes que experimentaron progresión ( $p=0,01$ ).

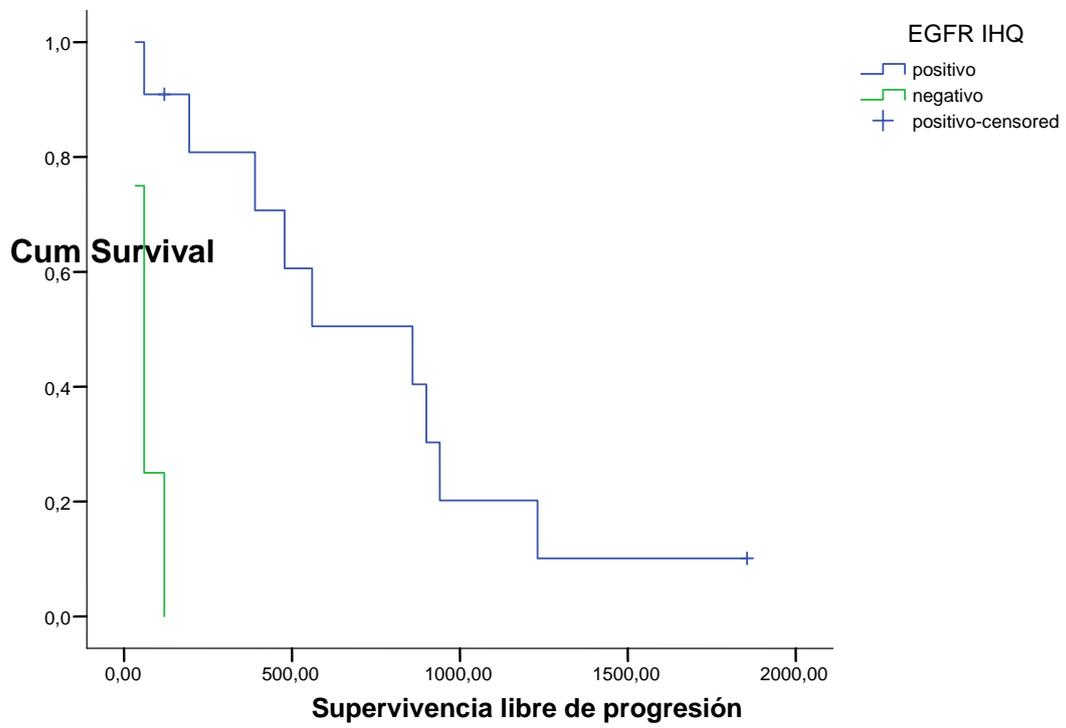
Para conocer el valor de la expresión por inmunohistoquímica de EGFR se seleccionó el grupo de pacientes no fumadores y en ellos se obtuvieron las curvas de tiempo a la progresión correspondientes para EGFR positivo y negativo. En pacientes No

fumadores se obtiene para pacientes con sobreexpresión de EGFR (positivo) una mediana de SLP de 859 días (284,4-1433,5) mientras que si el EGFR es negativo la mediana es de 60 días (37,9-82)  $p=0,00$ . Si analizamos los pacientes no fumadores el EGFR es positivo en 14 de los 30 casos analizados no se observan los mismos resultados obtenidos en el grupo de No fumadores. La mediana de SLP con sobreexpresión, sin discriminar por hábito tabáquico fue de 69 días (41,4-96,5) frente a 94 días (43-144,9) en su ausencia ( $p=0,94$ ). La mediana de SG en pacientes con sobreexpresión, sin discriminar por hábito tabáquico fue de 277 días (0-611,5) frente a 240 días (97,5-382,4) en su ausencia (Tabla 19) ( $p=0,03$ ).

**Tabla 19: Respuestas y supervivencia según IHQ EGFR**

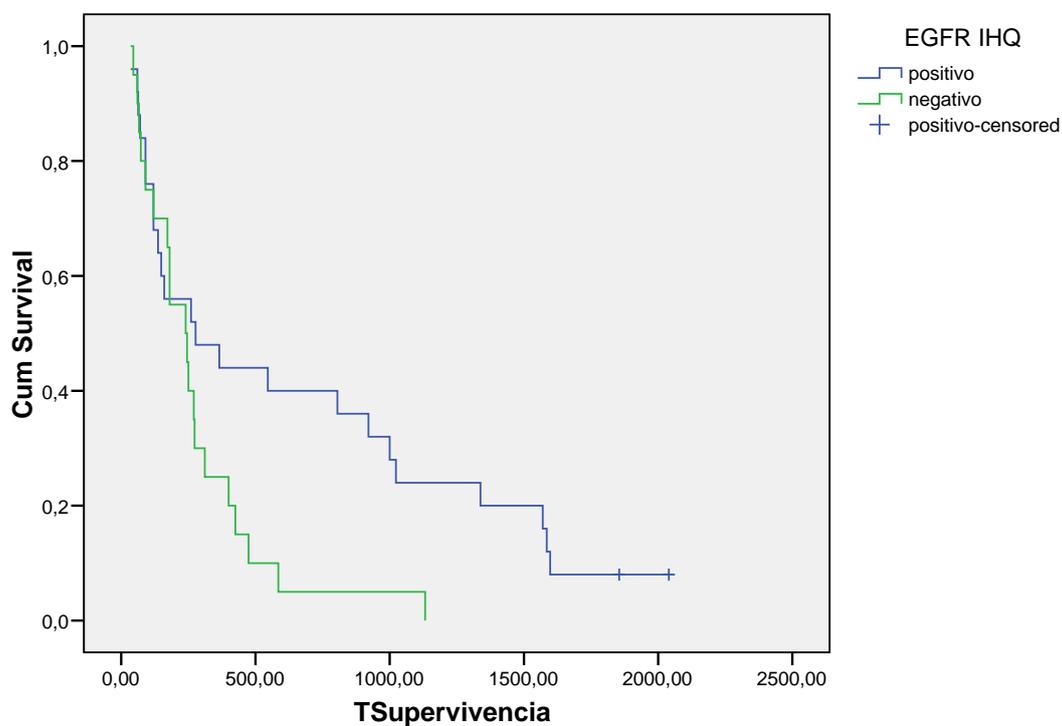
|  | <b>EGFR<br/>positivo<br/>N:25</b> | <b>EGFR<br/>negativo<br/>N:20</b> | <b>Valor de<br/>p</b> |
|--|-----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------|
| <b>Pacientes que hacen<br/>respuesta</b> | 8(32)                             | 0(0)                              | 0,01                  |
| <b>Pacientes que progresan</b>           | 11 (44)                           | 11(55)                            | 0,01                  |
| <b>SLP (mediana)</b>                     | 69(41-96)                         | 94(43-144)                        | 0,94                  |
| <b>SG (mediana)</b>                      | 277(0-611)                        | 240(97-382)                       | 0,03                  |

### Survival Functions



**Figura 13: SLP según sobre-expresión de EGFR (p=0,94)**

### Survival Functions



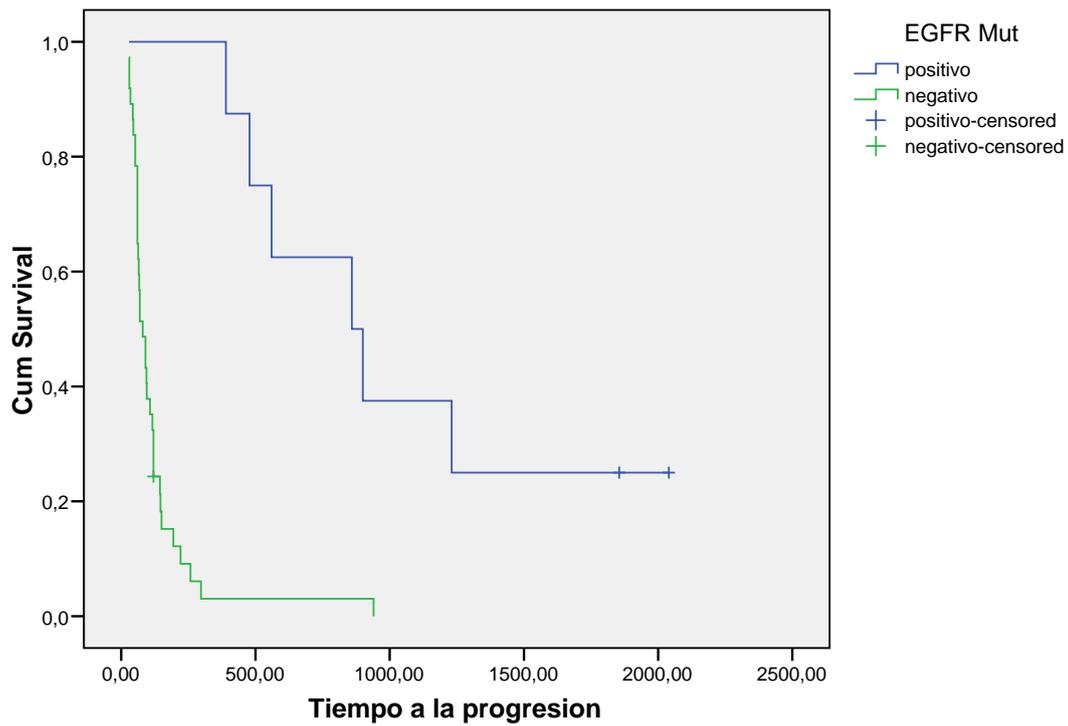
**Figura 14: SG según sobre-expresión de EGFR ( $p=0,03$ )**

El análisis de la mutación EGFR muestra que el 100% de pacientes respondedores la tenían presente, mientras que en pacientes que hicieron no cambios o progresión la mutación estaba ausente en todos. En los ocho pacientes con presencia de mutación la mediana de SLP fue de 859 días (387,7-1330,2) frente a 80 días (52,5-107,4) sin ella ( $p=0,00$ ). La mediana de SG en los casos con mutación fue de 1338 días (579,8-2096,1) y de 180 en los casos sin mutación (71,8-288,1) (Tabla 20) ( $p=0,00$ ).

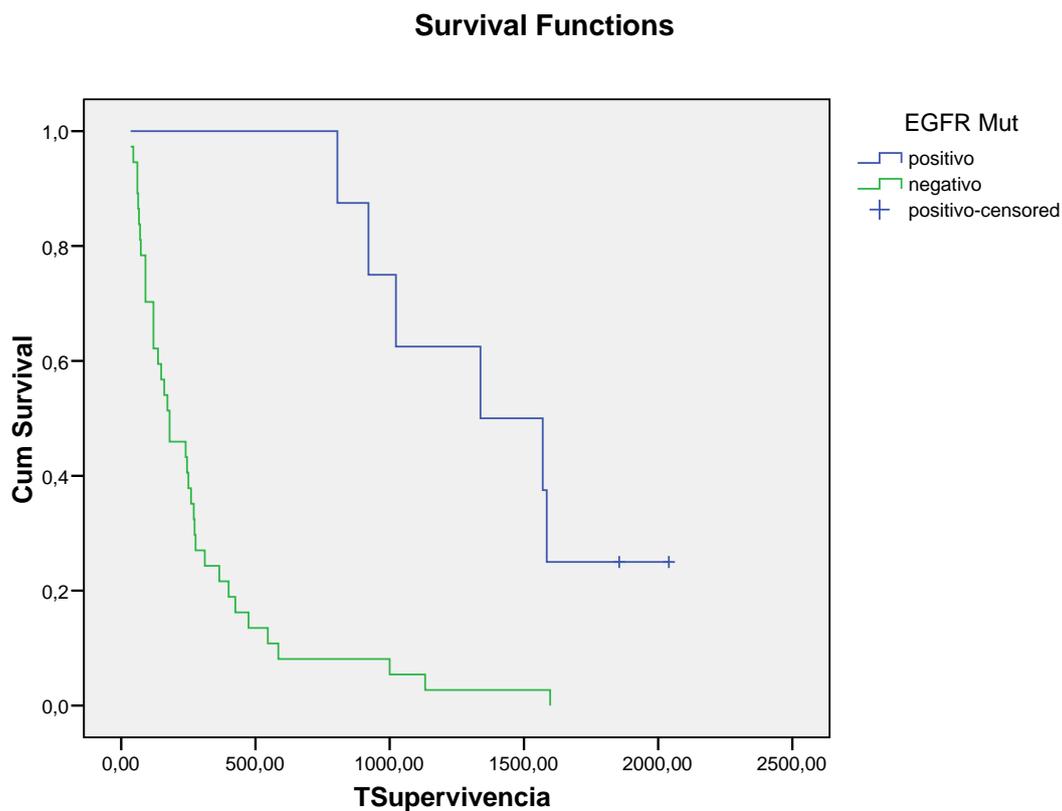
**Tabla 20: Respuestas y supervivencia según mutación EGFR**

|                               | Mutación EGFR presente<br>N: 8 | Mutación EGFR ausente: N: 37 | Valor de p |
|-------------------------------|--------------------------------|------------------------------|------------|
| Pacientes que hacen respuesta | 8(100)                         | 0(0)                         | 0,00       |
| Pacientes que progresan       | 0(0)                           | 22 (59)                      | 0,00       |
| Mediana de SLP (Límites)      | 859(387-1330)                  | 80(52-107)                   | 0,00       |
| Mediana de SG                 | 1338(579-2096)                 | 180(71-288)                  | 0,00       |

**Survival Functions**



**Figura 15: SLP según mutación de EGFR (p=0,00)**



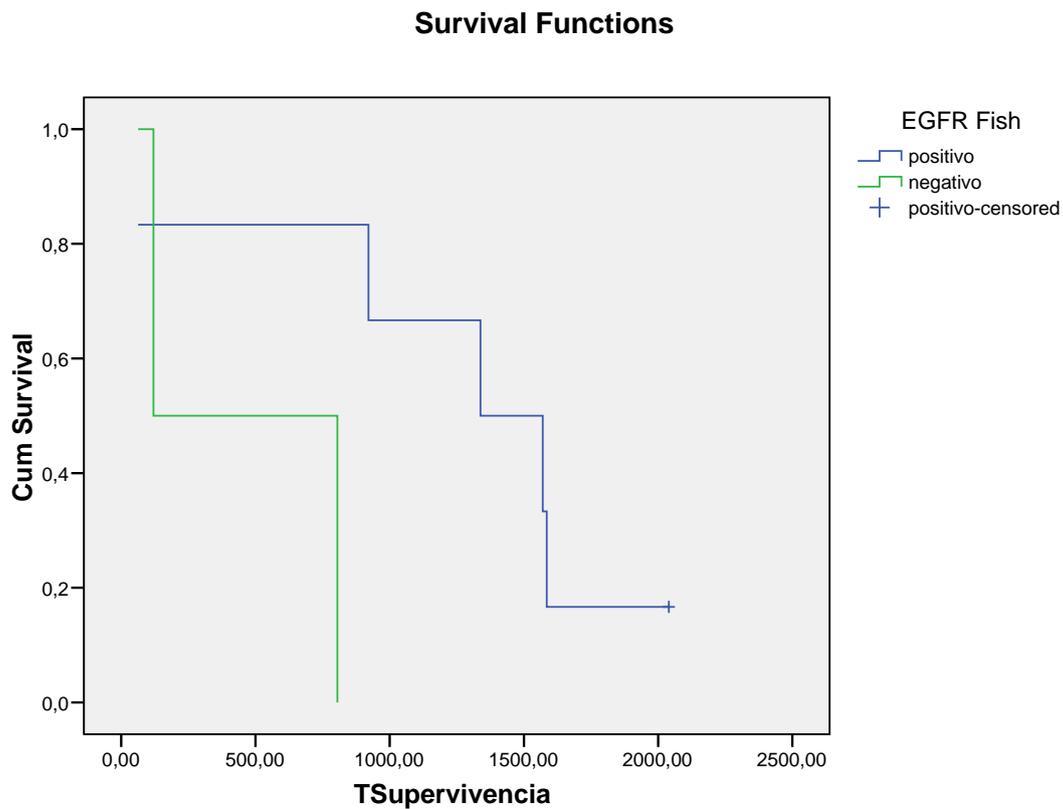
**Figura 16: SG según mutación EGFR (p=0,00)**

En relación a la amplificación de EGFR el 83,5% de pacientes respondedores en los que se pudo determinar tal característica molecular fueron positivos mientras que en pacientes que hicieron estabilización o progresión el resultado fue que el único paciente que progresó donde se pudo realizar la determinación esta fue también positiva (p=0,16).

La mediana de SG en pacientes con amplificación EGFR fue de 1338 días (559-2116,91) y en pacientes sin amplificación fue de 120 días (Tabla 21) (p=0,07).

**Tabla 21: Respuesta y Supervivencia según amplificación EGFR**

|                                      | EGFR FISH positivo<br>N:6 | EGFR FISH<br>negativo N:2 | Valor de<br>p |
|--------------------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------|
| <b>Pacientes que hacen respuesta</b> | 5(83)                     | 1(50)                     | 0,16          |
| <b>Pacientes que progresan</b>       | 1(17)                     | 0(0)                      | 0,16          |
| <b>SG (mediana)</b>                  | 1338(559-2116)            | 120(N/A)                  | 0,07          |



**Figura 17: SG según amplificación de EGFR (p=0,07)**

Analizando la mutación de K-ras se observó su ausencia en todos los pacientes respondedores independientemente de la categoría de la misma p=0,28.

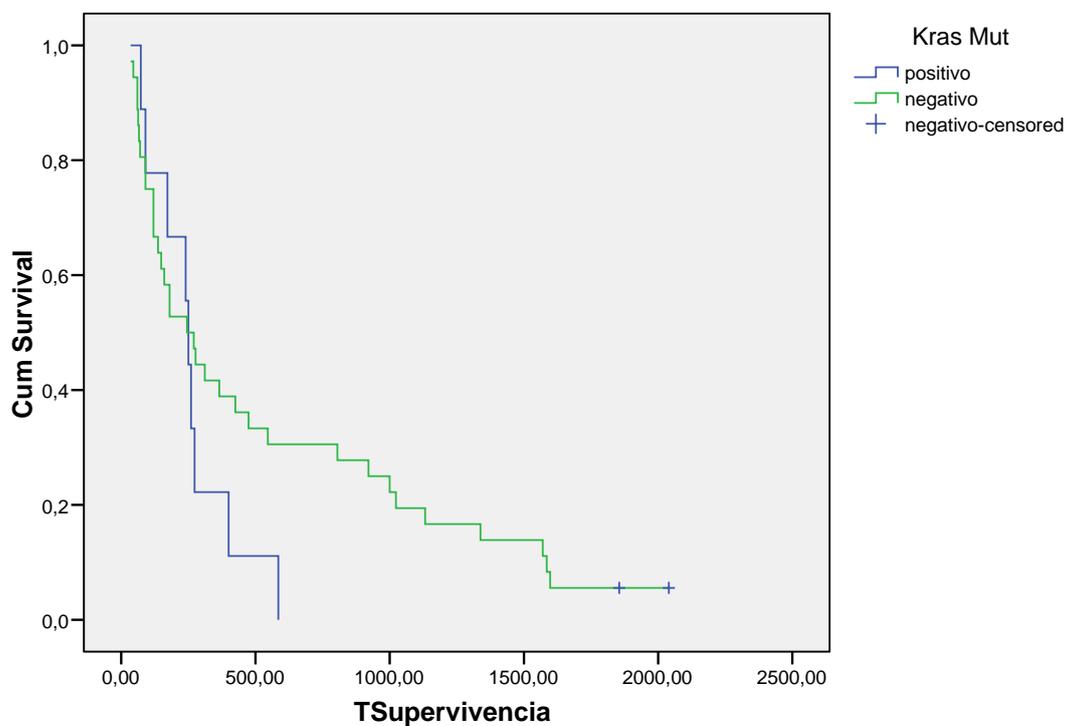
En los pacientes donde se presentó mutación de k-ras se obtuvo una mediana de SLP de 90 días (28,6-151,3) mientras que en casos donde no hay mutación de K-ras la mediana

es de 116 días (71,9-160,1)  $p=0,05$ . La mediana de SG en pacientes K ras mutados fue de 250 días (220,7-279,2), muy similar a los 245 días de los no mutados (107,4-382,5) (Tabla 22) ( $p=0,22$ ).

**Tabla 22: Respuesta y supervivencia según mutación K ras**

|                                      | <b>K ras mutado</b><br><b>N:9</b> | <b>K ras no mutado</b><br><b>N:36</b> | <b>Valor de p</b> |
|--------------------------------------|-----------------------------------|---------------------------------------|-------------------|
| <b>Pacientes que hacen respuesta</b> | 0(0)                              | 8(22)                                 | 0,28              |
| <b>Pacientes que progresan</b>       | 5(55)                             | 17(47)                                | 0,28              |
| <b>SLP (mediana)</b>                 | 90(28-151)                        | 116(71-160)                           | 0,05              |
| <b>SG (mediana)</b>                  | 250(220-279)                      | 245(107-382)                          | 0,22              |

### Survival Functions



**Figura 18: SG según mutación en k-ras ( $p=0,22$ )**

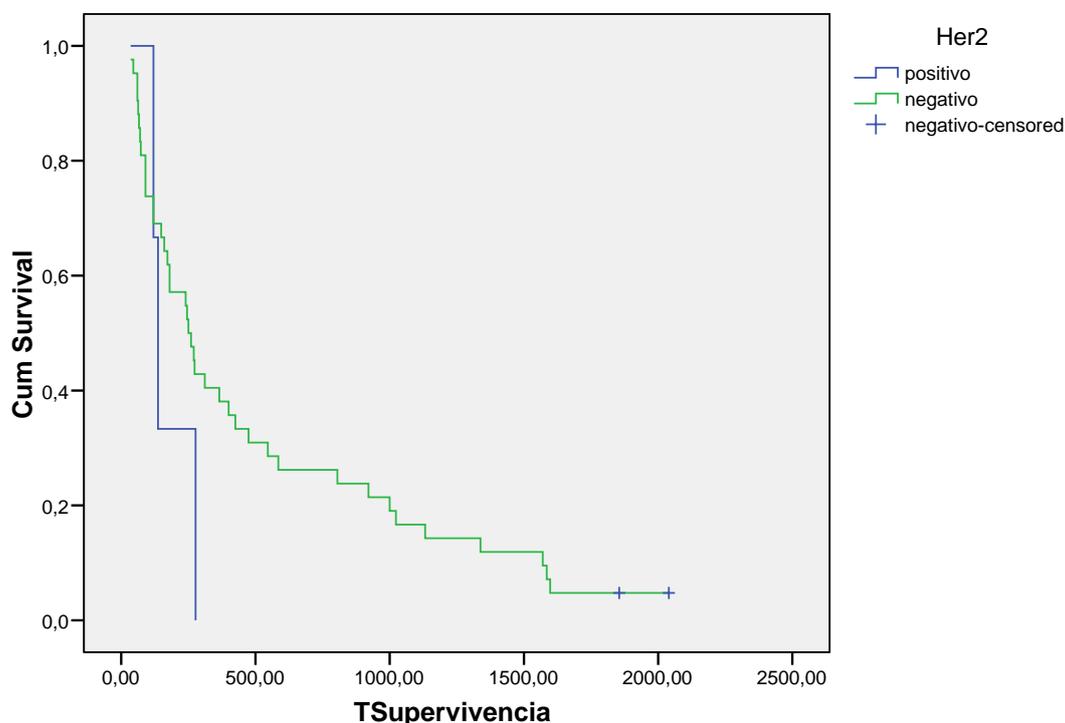
En pacientes con sobreexpresión de Her2 (tres) todos los pacientes que hicieron respuesta fueron Her2 negativos ( $p=0,67$ ).

La mediana de SG fue de 137 días (109,7-164,2) en los Her2 positivos mientras que en los Her2 negativos fue de 250 días (151,5-348,4) (Tabla 23) ( $p=0,27$ ).

**Tabla 23: Respuesta y supervivencia según IHQ Her2**

|                                      | <b>Her 2 positivo<br/>N:2</b> | <b>Her 2 negativo<br/>N:43</b> | <b>Valor de p</b> |
|--------------------------------------|-------------------------------|--------------------------------|-------------------|
| <b>Pacientes que hacen respuesta</b> | 0(0)                          | 8(19)                          | 0,67              |
| <b>Pacientes que progresan</b>       | 2(100)                        | 20(46)                         | 0,67              |
| <b>SG (mediana)</b>                  | 137(109-164)                  | 250(151-348)                   | 0,27              |

### Survival Functions



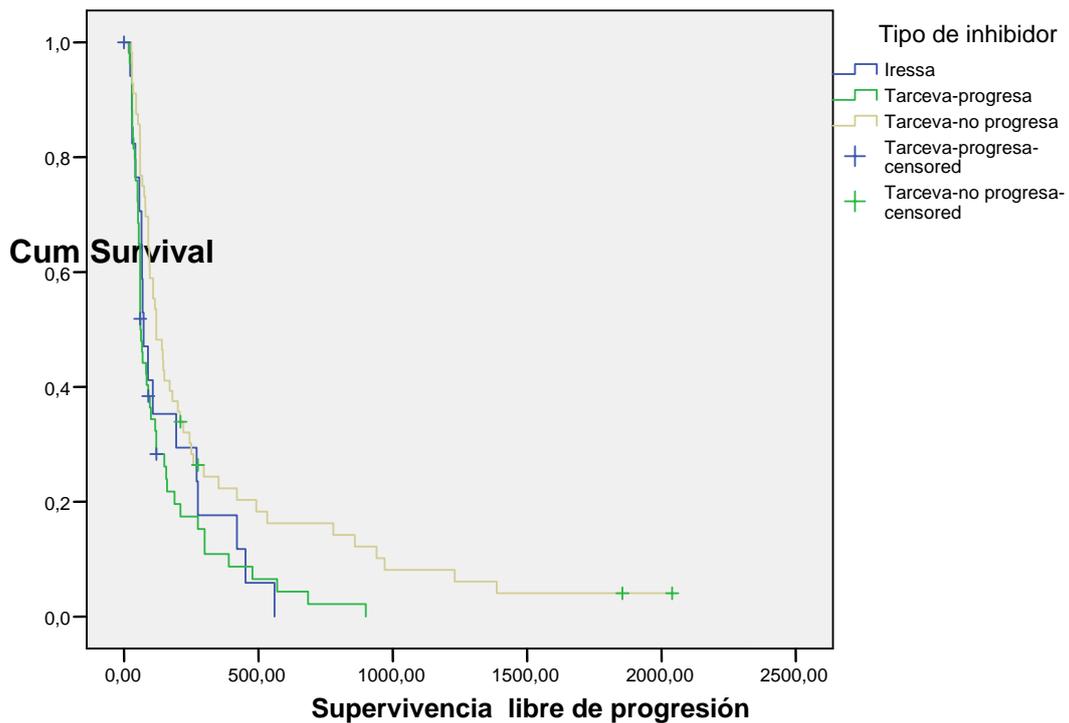
**Figura 19: SG según sobre-expresión de Her 2 (p=0,27)**

Tiempo a la progresión según respuesta a tratamiento previo: 17 pacientes fueron tratados con Gefitinib estando todos ellos en situación de progresión a la terapia previa situación que se dio también en 55 de los pacientes tratados con Erlotinib mientras que 56 pacientes tratados con Erlotinib no estaban en progresión a terapia previa. La mediana de SLP de los pacientes tratados con Gefitinib fue de 73 días (43,4-102,5), en los pacientes de Erlotinib en progresión fue de 61 días (51,9-70) mientras que en los pacientes de Erlotinib sin progresión a la terapia previa la mediana fue de 120 días (76,3-163,9) (p=0,00). La mediana de SG fue de 120 días en pacientes con erlotinib en progresión a tratamiento previo (79,3-160,6) y de 277 días en casos de no progresión (158,4-395,5) (Tabla 24) (p=0,00).

**Tabla 24: Supervivencia según progresión a tratamiento previo**

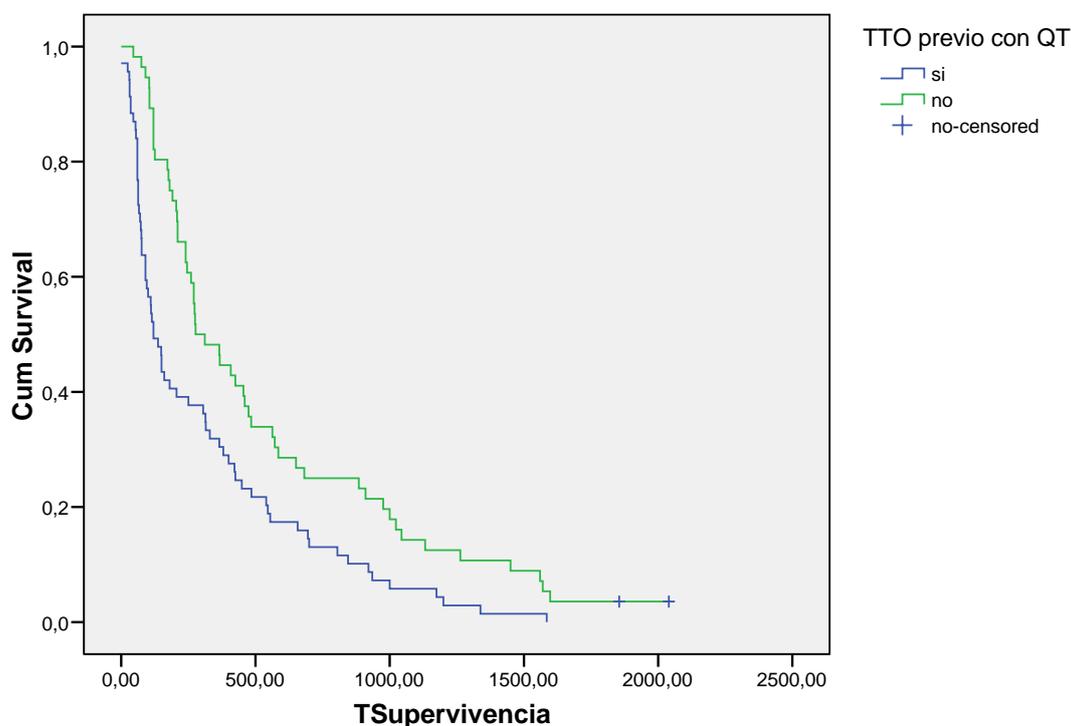
|                      | Pacientes tratados Gefitinib (todos previamente tratados) | Pacientes tratados con erlotinib en progresión a tratamiento previo | Pacientes tratados con erlotinib sin progresión a tratamiento previo | p    |
|----------------------|---|---|--|------|
| <b>SLP (mediana)</b> | 73(43-102)  | 61(51-70)   | 120(76-163)  | 0,00 |
| <b>SG (mediana)</b>  | 282(24-1585)  | 120(79-160)   | 277(158-395)   | 0,00 |

**Survival Functions**



**Figura 20: SLP según progresión a tratamiento previo (p=0,00)**

### Survival Functions



**Figura 21: SG según progresión a tratamiento previo (p=0,00)**

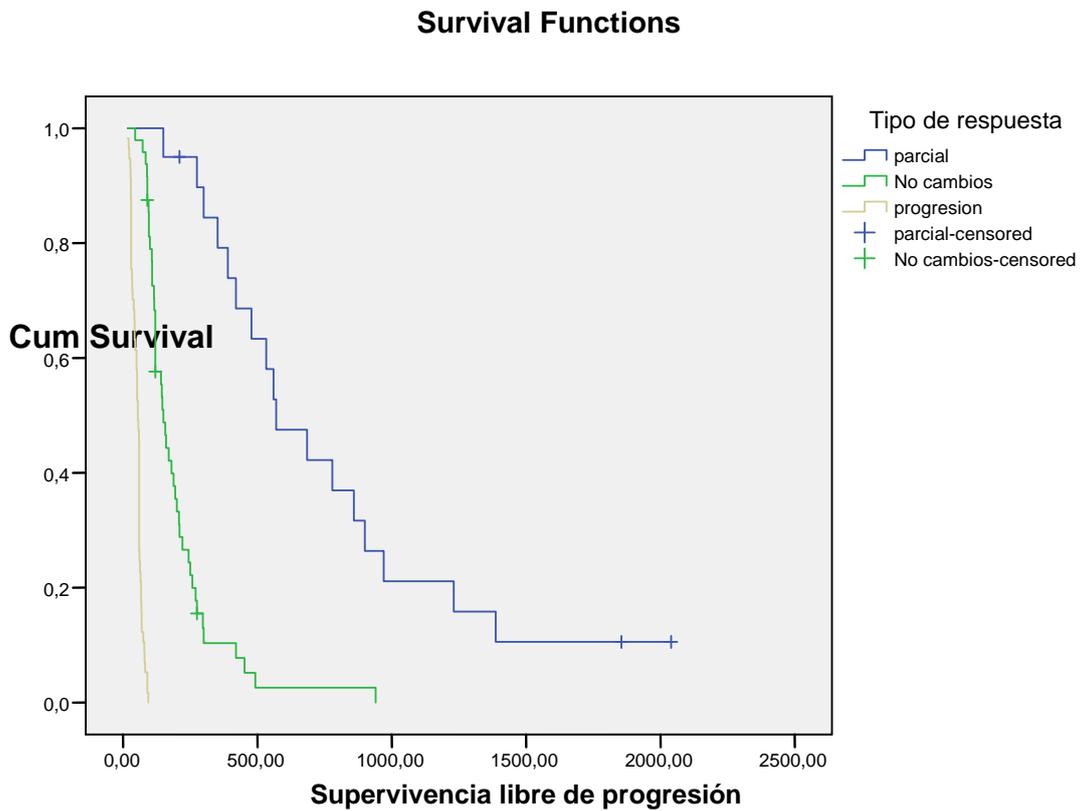
Según la respuesta experimentada al tratamiento con ITK los pacientes con respuesta (parcial o completa) tuvieron una mediana de SLP de 570 días (354,4-785,5), de 150 días en pacientes con no cambios (125,3-174,6) y de 55 días en los pacientes que progresaron (50,8-59,1) (Tabla 25) (p=0,00).

La mediana de SG en pacientes respondedores fue de 921 días (673,3-1168,6), en los pacientes con respuesta en no cambios fue de 305 días (174,8-435,1) y en los que hicieron progresión fue de 95 días (68,1-121,8) p=0,00.

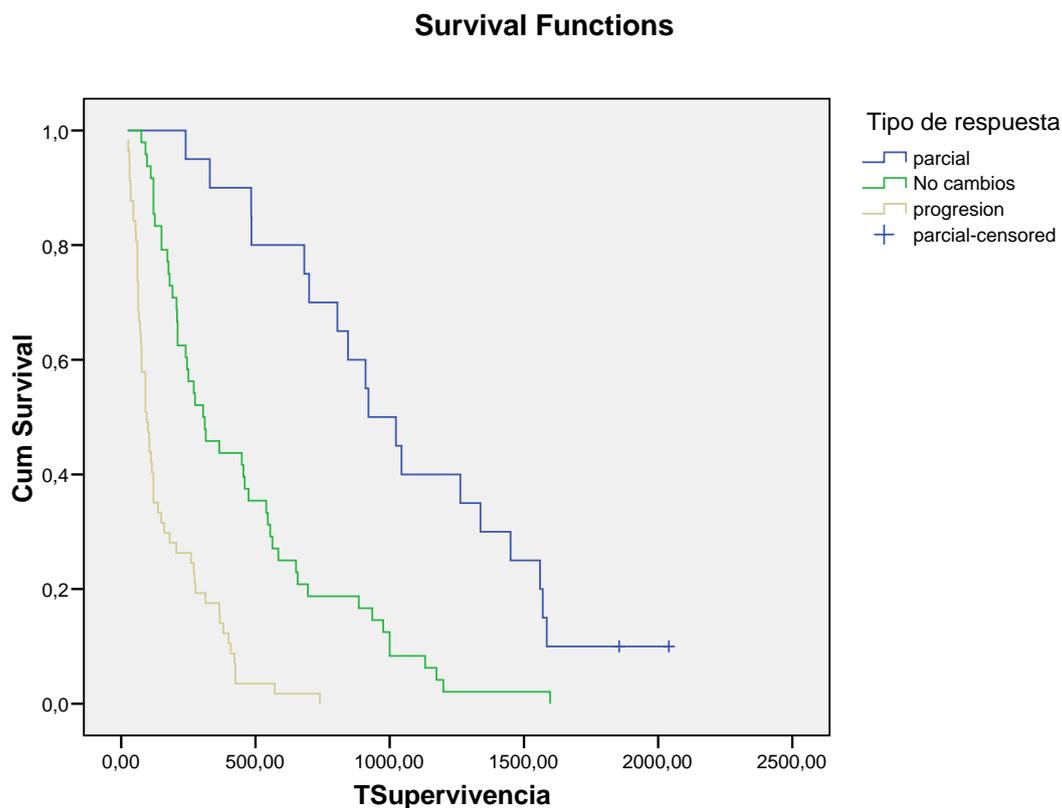
**Tabla 25: Supervivencia según tipo de respuesta al ITK**

|                      | Respuesta parcial | No cambios   | Progresión |
|----------------------|-------------------|--------------|------------|
| <b>SLP (mediana)</b> | 570(354-785)      | 150(125-174) | 55(50-59)  |
| <b>SG (mediana)</b>  | 921(673-1168)     | 305(174-435) | 95(68-121) |

**p=0,00**



**Figura 22: SLP según respuesta al ITK (p=0,00)**



**Figura 23: SG según respuesta al ITK (p=0,00)**

Estado general del paciente según Índice de Karnofsky: se observó que a medida que el paciente no respondía el estado general del paciente era peor en sus valores medios. Así en pacientes respondedores la mediana de Índice fue del 80% mientras que en pacientes que progresaron fue del 70% (p=0,24).

En ninguna de las variables analizadas a excepción de la existencia de progresión o no al tratamiento previo existieron diferencias significativas entre los dos ITK al analizar SLP y SG en función de las distintas variables.

## DISCUSIÓN

El cáncer de pulmón (CP) representa un problema de salud debido a su incidencia y mortalidad elevada en la sociedad occidental con cifras de supervivencia en torno al 5% a los 5 años<sup>1,2</sup>. Su incidencia y mortalidad en la mayoría de las estadísticas se sitúa en 60 y 55 respectivamente por cada 100.000 habitantes<sup>1,2</sup>.

Más de la mitad de los diagnósticos del CP se hacen en un estadio avanzado y otra mitad de los casos se convierten en una enfermedad avanzada tras su diagnóstico y tratamiento como enfermedad localizada<sup>4</sup>. La utilización de agentes citotóxicos se ha considerado como el tratamiento estándar para los pacientes con CPNM localmente avanzado y avanzado, ofreciendo hasta el momento cifras de supervivencia inferiores al año en la mayoría de los casos asociado a efectos adversos. Combinaciones de agentes citotóxicos de tercera generación y la asociación con fármacos antiangiogénicos o con inhibidores de la vía del EGFR en una población seleccionada parecen haber conseguido supervivencias superiores al año (E4599, FLEX).

Con la incorporación de fármacos ITK tanto en primera como en subsiguientes líneas de tratamiento, ha tomado relevancia la búsqueda de variables relacionadas con un mejor comportamiento en la supervivencia de los pacientes independientemente del tratamiento recibido, así como otros factores relacionados con un determinado agente antitumoral y la obtención de un mayor beneficio terapéutico. Todo ello, ha conllevado la importancia de buscar y desligar factores pronósticos y predictivos de respuesta para optimizar el tratamiento en cada paciente. En el momento actual se admiten o se han descrito como factores pronóstico aquellos relacionados con el estadio de la enfermedad, la pérdida de peso, el estado general, el género, el tipo histológico y el hábito tabáquico<sup>20,21</sup>. Asimismo, han aparecido recientemente datos relacionando la histología y la determinación de distintos biomarcadores con una mayor posibilidad de respuesta y supervivencia con agentes utilizados en el tratamiento del CP<sup>20,21</sup>.

Las pequeñas moléculas inhibitoras del receptor del factor de crecimiento epidérmico, erlotinib y gefitinib han demostrado tanto su eficacia y efectividad en pacientes no seleccionados previamente tratados con agentes citotóxicos (BR-21, TITAN,

INTEREST, TRUST) así como su eficacia en primera línea de tratamiento en pacientes seleccionados por la presencia de mutación del EGFR tanto en población asiática como caucásica (IPASS, EURTAC). Con estos datos cabe la pregunta de si existe en realidad una forma de determinar con exactitud los pacientes que se van a beneficiar de este tipo de agente antitumoral sin perjudicar o descartar a otros que potencialmente pudiesen también beneficiarse incluso con la ausencia de mutación<sup>23</sup>. Existen asimismo otras variables no biológicas, tanto clínicas como histológicas relacionadas con mayor posibilidad de respuesta a ITK y presencia de mutación en el EGFR, tales como la histología adenocarcinoma, etnia asiática, ausencia de hábito tabáquico y género femenino, incluso pudiendo suponer una forma de enriquecer (seleccionar) la población a la que hacer la prueba de la mutación o administrar de forma directa ya el tratamiento con ITK. Los datos del estudio TRUST mostraron inferioridad del erlotinib comparado con la combinación de cisplatino- gemcitabina en primera línea de tratamiento de CP avanzado sin determinación previa de la mutación de EGFR motivo por el que resulta recomendable la búsqueda de la mutación en población enriquecida<sup>23</sup>.

En la tesis presente se revisaron 131 pacientes tratados con gefitinib o erlotinib analizándose eficacia, toxicidad/perfil de seguridad y variables que pudieran haber demostrado valor predictivo y/o pronóstico. Las características de la serie de pacientes analizados no difieren en cuanto a la supervivencia ni a sus características con las típicas del CPNM tratado en otras series, por lo que no parecen haber influido en los resultados (90% de pacientes en estadio IV, buen estado general, 30% de pacientes fumadores, 70% de adenocarcinomas, 30% género femenino).

Analizando la eficacia los datos obtenidos concuerdan con lo publicado previamente y en relación con este tema, siendo las supervivencias algo superiores en la población analizada para la tesis. De una forma general se obtuvieron un 6% de respuestas parciales en pacientes tratados con gefitinib y 17% con erlotinib con medianas de SG de 282 y 210 días respectivamente. En ese sentido, en el estudio ISEL se obtuvo una mediana de SG de 5.6 meses en los pacientes tratados con gefitinib y el estudio BR21 de 6.7 meses con erlotinib. Similares resultados se han obtenido con otros fármacos en segunda línea de tratamiento tales como Docetaxel, Pemetrexed o Vinflunina con RO del 10% y cifras de SG en torno a 5-7 meses.

En la valoración del perfil de toxicidad se registró una toxicidad cutánea tipo rash en el 59% de pacientes tratados con gefitinib, mayor que los datos existentes que detallan en torno al 20-25% de rash en los distintos estudios fase III publicados con gefitinib (ISEL, INTEREST, IPASS). No se recogieron casos de toxicidades grado 3 y 4 con este fármaco a diferencia de los estudios existentes que cifran la incidencia en torno al 6-8% de rash grado 3 y 4. En nuestra experiencia erlotinib provocó un rash en el 63% de los pacientes siendo grado 3 y 4 en un 13% de los casos. En el estudio BR21 se detalló 81% de rash, de los cuales el 10% fueron catalogados como grados 3-4, similar a nuestra experiencia, reflejando una mayor toxicidad de erlotinib respecto a gefitinib en términos generales. El otro efecto secundario más frecuente, la diarrea, se desarrolló en el 18% de pacientes con gefitinib y el 19% con erlotinib siendo los grados 3-4 inexistentes con gefitinib y del 4% con erlotinib. Si comparamos estos datos con los descritos en la literatura, en el estudio pivotal de gefitinib (estudio ISEL)<sup>30</sup> se describió un 35% de diarrea (grados 3-4 del 4%) mientras que con erlotinib (estudio BR21)<sup>26</sup> dicha toxicidad se describió en el 54% (6% grados 3-4). La toxicidad pulmonar intersitial se observó en dos (2%) pacientes con erlotinib, datos similares al 1,3% publicado en el estudio BR21. En nuestra serie, un 18% de los tratados con erlotinib tuvieron que reducir la dosis inicial administrada o retirar el fármaco debido a toxicidad, cifra similar al 10-15% publicado hasta el momento con dicho agente<sup>26</sup>. En ningún caso se recogió una reducción o retirada de gefitinib debido a toxicidad en contra de lo publicado que recoge una interrupción del tratamiento en el 3%. Dichos datos reafirman la idea de una mejor tolerancia con gefitinib con respecto a erlotinib, sin influencia en los resultados. En esa línea cabe destacar, la experiencia de un paciente diagnosticado de pancreatitis y que estaba recibiendo en ese momento erlotinib, ya descrito en la literatura como un efecto adverso muy infrecuente (< del 1%)<sup>26</sup>.

En el estudio presente se confirma que la presencia de cualquier grado de toxicidad como rash cutáneo y diarrea tuvieron un significado predictivo de RO y mejor supervivencia a los dos ITK, coincidiendo con datos descritos en la literatura<sup>22</sup>. El 80% de RO alcanzado en aquellos pacientes que hicieron esa toxicidad con una mediana de supervivencia cuatro veces superior con respecto a los que no la desarrollaron, coincidiendo con lo descrito por Pérez Soler y cols<sup>29</sup>. En ese estudio, el autor describe en un análisis de factores predictivos de respuesta a erlotinib como la presencia de rash fue el factor predictivo de respuesta más importante (HR 0.15). Asimismo también fue

significativo ( $p=0,02$ ) el incremento de respuestas objetivas (40% vs 10%) y SG (484 vs 205 días) en pacientes que presentaron la diarrea que confirman el valor predictivo de dicha toxicidad.

A diferencia con otros autores, nuestro análisis no encontró relación entre el grado de rash y RO y/o la SG de una forma proporcional. No obstante, no existe una unanimidad al respecto y en otros estudios, en especial con gefitinib, no se ha demostrado dicha asociación.

Se encontró asociación entre ausencia de tabaquismo y respuesta a ITK y SG con medianas de SG tres veces superiores en pacientes nunca fumadores respecto a fumadores y ex fumadores. Estos datos coinciden con lo descrito por otros autores. De igual modo el hábito tabáquico o estatus ex fumador, guardó una relación con el género, estando más relacionado con el masculino que con el femenino que estuvo más vinculado a su vez con el estatus no fumador. Por ese motivo hubo un fenómeno de confusión que no permitió establecer un valor predictivo pero sí pronóstico del género. De esa forma en el trabajo se ha recogido una mayor supervivencia en las mujeres no fumadoras con respecto a los hombres sin influencia en las respuestas al tratamiento.

El género analizado de una forma estratificada según hábito tabáquico comparando género masculino y femenino por separado en fumadores o no fumadores no fue predictivo de respuesta ( $p=0,48$  en fumadores y  $0,20$  en no fumadores) aunque con tendencia a la superioridad en RO, SLP y SG del género femenino. Tampoco se observó relación entre el estado general del paciente según Índice de Karnofsky y RO, SLP y SG no siendo factor pronóstico ni predictivo de respuesta ( $p=0,24$ ). Sin embargo la respuesta o estabilización al tratamiento previo a ITK fue predictivo de respuesta con mayor RO, SLP y SG que pacientes que comenzaron tratamiento con ITK en respuesta o no cambios respecto a los que lo comenzaron en progresión ( $p=0,00$ ).

La histología en este trabajo se comportó como un factor predictivo de respuesta a ITK. El 75% de los pacientes que hicieron respuesta fueron adenocarcinomas frente a un 5% de respuestas que hicieron los carcinomas epidermoides, de forma similar a los estudios publicados<sup>25</sup>. De forma curiosa, la SLP fue superior en los epidermoides quizás debido a la escasa muestra de esta histología y a la dispersión de los valores incluyendo largos supervivientes en este subgrupo. Esta posible causa justifica que la mediana de SG haya tendido a la superioridad en los pacientes con adenocarcinoma pero sin alcanzar la

significación estadística. En este sentido los resultados coinciden parcialmente con lo publicado hasta el momento referente a la histología adenocarcinoma con valor pronóstico y predictivo de respuesta aunque en nuestro trabajo con la salvedad estadística descrita. Asimismo las curvas de SLP comienzan a separarse a partir de la mitad de eventos, valor de la mediana de SLP, momento a partir del que se observa que los supervivientes comienzan a ser claramente los adenocarcinomas. No está de más reseñar el posible sesgo diagnóstico en el sentido de que en el 75% de los pacientes fue hecho en base a citologías con escasa dotación celular y sin biopsia con material limitado en muchos casos.

Se obtuvo significación estadística en la asociación entre sobreexpresión de EGFR y respuestas de tal forma que actuó como factor predictivo. Todos los pacientes que respondieron al tratamiento con ITK tenían sobre-expresión de proteína mientras que los que progresaron antes de las 4-8 semanas de tratamiento no la presentaban. De igual forma los paciente con sobre-expresión tuvieron una mejor SG con respecto a los que no la presentaban (277 frente a 240 días;  $p=0,03$ ). Por el contrario hubo una tendencia a una mejor SLP para aquellos pacientes con ausencia de sobre-expresión (94 vs 69;  $p=0,9$ ) quizás explicable por la no estandarización de los periodos de seguimiento de la muestra o población analizada (tabla 19). El posible valor predictivo de la sobre-expresión de EGFR, ha sido ampliamente estudiada siendo el primer biomarcador descrito en la literatura. Los datos son contradictorios y no parece existir relación entre respuesta tumoral y sobreexpresión de EGFR de forma generalizada. En alguno de los estudios publicados incluyendo esta determinación en pacientes tratados con gefitinib (IDEAL 1-2, INTEREST) no encontraron relación entre dicha determinación con el beneficio terapéutico. Sin embargo, en el estudio ISEL los pacientes tratados con gefitinib y con sobre-expresión de EGFR tuvieron una mayor supervivencia global con respecto a los que recibieron placebo ( $p=0,04$ )<sup>30</sup>. De igual forma, en el estudio BR21 los pacientes con sobre-expresión tuvieron una mejor supervivencia cuando fueron tratados con erlotinib respecto a los que recibieron placebo<sup>26</sup>. Esta falta de consenso refleja las limitaciones intrínsecas a la técnica y su reproducibilidad así como problemas en la heterogeneidad y tamaños de las muestras analizadas en los distintos estudios.

Por otra parte, en el análisis presente de esta tesis, la determinación de la presencia de mutación resultó predictiva de respuesta así como de mejor SLP y SG al tratamiento

con ITK ( $p=0,00$ ). Ningún paciente con mutación presentó progresión de la enfermedad o no cambios al tratamiento con ITK mientras que ningún paciente con ausencia de mutación tuvo respuesta al tratamiento. La mediana de SLP (859 vs 80;  $p=0,0$ ) y SG (1338 vs 180;  $p=0,00$ ) fue de forma significativa muy favorable a los pacientes con mutación tratados con ITK, comportándose por ello como un factor predictivo de respuesta y supervivencia a ITK más robusto en nuestro trabajo en comparación con los resultados descritos anteriormente con la sobre-expresión (tabla 20). Esta idea coincide con la mayoría de los estudios publicados en la literatura tanto con erlotinib como con gefitinib<sup>31</sup> en los que se otorgo un valor predictivo a la presencia de mutación. Sin embargo, en el estudio BR21 la presencia de mutaciones no tuvo asociación con respuesta o supervivencia de forma significativa<sup>26</sup>. Algunos grupos de investigadores opinan que la presencia de mutación podría tener más valor pronóstico que predictivo en base a sub-análisis de los estudios INTACT y TRIBUTE que indican mejor pronóstico en pacientes con mutación independientemente de que fueran tratados con TKI o no. En el momento actual esta cuestión aun no está resuelta ya que incluso dos estudios retrospectivos de pacientes tratados sólo con cirugía no mostraron valor pronóstico de la mutación.

Los pacientes con amplificación de EGFR tuvieron tendencia a una mayor tasa de respuestas (84 vs 50%;  $p=0,16$ ) y mayor SG (1338 vs 120;  $p=0,07$ ) (tabla 21). La ausencia de significación estadística probablemente se debió al escaso número de pacientes donde se pudo realizar la amplificación. No obstante, los resultados van en la línea de los datos descritos por otros autores. Un análisis retrospectivo del estudio BR21 mostró como los pacientes tratados con erlotinib y amplificación de EGFR fueron los que consiguieron mayores respuestas y supervivencia. A su vez y en la misma línea en el estudio ISEL, la amplificación fue predictivo de respuesta y supervivencia en pacientes tratados con gefitinib. Por el contrario, en el ensayo INTEREST los autores no describieron una relación entre la presencia de amplificación y mejores resultados en respuestas, SLP y SG con gefitinib respecto a docetaxel en segunda línea<sup>32</sup>. La relación biológica entre sobre-expresión, mutación y amplificación de EGFR no está clara, aunque en términos generales se puede decir que nuestros resultados apoyan los descritos por otros autores en la proporción de casos con una u otra determinación presente, siendo la mutación la más restrictiva en su presencia en una población caucasiana no seleccionada (menos del 20% de la población). En general, parece que

tumores con mutación muestran amplificación génica y que ambos tienen parecido valor predictivo en respuesta y supervivencia tanto en nuestra serie como en las de otros autores (INTEREST, BR.21 y ISEL) e independientemente del ITK utilizado. La única diferencia estriba en el porcentaje de pacientes no seleccionados con CPNM que presentan la amplificación o mutación, siendo más frecuente la amplificación (en torno al 30-50%) con respecto a la mutación (menos del 20%).

En el estudio presente, la presencia de mutación en k-ras fue predictivo de no respuesta a ITK de tal forma que ningún paciente portador de ella hizo respuesta. En ausencia de la misma las respuestas y progresiones fueron del 22 y 47% respectivamente ( $p=0,28$ ). Hubo tendencia a una mayor SLP en no mutados (116 vs 90;  $p=0,05$ ) aunque sin diferencias en SG (245 vs 250;  $p=0,22$ ) (tabla 22). El escaso número de determinaciones realizadas obliga a la prudencia en la extracción de conclusiones. Sin embargo, en la serie analizada en esta tesis, los resultados descritos en cuanto a su valor predictivo, el porcentaje de pacientes con presencia de k-ras (20%) y su relación con una ausencia de sobre-expresión, coinciden con los datos publicados por otras series<sup>31</sup>. En ese sentido, un estudio retrospectivo llevado a cabo en el Memorial Sloan-Kettering de Nueva York, describe como en una muestra de nueve pacientes con dicha mutación no hubo ninguna respuesta a ITK. Contrariamente, el estudio BR21 obtuvo similares medianas de SG en los pacientes portadores como no portadores de mutación k-ras, una vez más en una pequeña población analizada. Los datos en general, teniendo en cuenta la limitación de la característica retrospectiva y escaso número de pacientes estudiados (incluido nuestro trabajo) parecen indicar que la mutación en k-ras se asocia con resistencia intrínseca a ITK.

Por último, el análisis realizado en esta tesis relacionado con la sobre-expresión de HER-2 mostró tendencia a una mayor tasa de respuestas (19 vs 0;  $p=0,67$ ) y SG (250 vs 137;  $p=0,27$ ) en pacientes que no sobre-expresaron la proteína (tabla 23). De nuevo este dato no debe considerarse como maduro dado el escaso número de pacientes analizados así como la ausencia de otros estudios publicados basados en el análisis de la sobre-expresión de HER-2. Solo existen datos relacionados con la presencia de amplificación y mutación de este biomarcador y su relación con respuesta y supervivencia para el tratamiento con ITK y con resultados contradictorios<sup>31</sup>.

## CONCLUSIONES

1. En el trabajo presente, la determinación del estado EGFR como amplificación se detectó en el 75% de los casos analizados, como sobre-expresión el 55% y como mutación en el 18%. La mutación en k-ras se constató en el 20% y la sobre-expresión de HER2 en el 4% de las determinaciones. Estos porcentajes coinciden con los datos publicados en la literatura.
2. De forma global se registró un 10% de respuestas objetivas (ninguna completa) en segunda y sucesivas líneas de tratamiento. Hubo un mayor porcentaje de respuesta objetivas a favor del empleo de erlotinib (17%) con respecto a gefitinib (6%), sin diferencias en las medianas de SLP (73 vs 90 días) y SG (282 vs 210). Estos resultados se encuentran dentro de los límites descritos en la literatura.
3. Ambos ITK fueron tolerados, con un predominio de toxicidad cutánea y diarrea registrados en un mayor porcentaje grado 3-4 en los pacientes que recibieron erlotinib (15 y 5%) con respecto a gefitinib (ningún caso). Un 20% de pacientes tratados con erlotinib requirieron un descenso en la dosis o retirada del tratamiento frente a ningún caso con gefitinib. Estos datos coinciden con los descritos en la literatura.
4. Las variables relacionadas con valor predictivo tanto para respuesta, SLP y SG fueron: La presencia de toxicidad en forma de rash o diarrea, la ausencia de hábito tabáquico, la respuesta o estabilización al tratamiento previo a ITK y la presencia de mutación en el EGFR.
5. La sobre-expresión de EGFR se comportó como una variable predictiva de respuesta y de mejor SG.

6. La histología adenocarcinoma y la ausencia de mutación en k-ras se comportaron como variables predictivas solo para respuesta.
7. La sobre-expresión de HER2, y el estado general según Índice de Karnofsky no fueron predictivos de respuesta, SLP ni SG.
8. Los hallazgos encontrados en relación con factores relacionados con beneficio clínico al tratamiento con ITK coinciden con la literatura otorgando a la determinación del estado de mutación de EGFR un valor predictivo predominante sobre el resto de variables biológicas analizadas.

## ANEXO 1. INDICE DE KARNOFSKY

100% Normal

90% Actividad Normal. Signos mínimos de evidencia de enfermedad

80% Actividad normal con esfuerzo. Algunos signos de enfermedad

70% Se cuida por si mismo. No puede llevar a cabo actividad normal o trabajar

60% Requiere asistencia ocasional. Capaz de cuidar de sus propias necesidades

50% Precisa considerable asistencia y frecuente asistencia médica

40% Incapacidad importante. Precisa cuidados especiales

30% Incapacidad severa. Se precisa hospitalización

20% Gravemente enfermo

10% Moribundo, enfermedad en progresión

0% Fallecido

## ANEXO 2. CRITERIOS DE EVALUACIÓN DE RESPUESTA DE LA OMS

**2.1 Lesión medible:** aquella en la que puede medirse tamaño en dos dimensiones. Se emplea el producto del diámetro mayor y el diámetro perpendicular a él más largo.

Tipos de respuesta: se evalúan por el cambio de la suma de los productos de los diámetros especificados. No se especifica un número máximo de lesiones. Se distingue:

- Respuesta completa: desaparición de toda la enfermedad conocida, confirmada a las cuatro o más semanas
- Respuesta parcial: descenso mayor o igual al 50% desde la medición basal, confirmado a las cuatro o más semanas
- Progresión de la enfermedad: incremento mayor o igual al 25% en el tamaño de una o más lesiones, o aparición de nuevas lesiones
- No cambios: no cumple criterios de respuesta parcial ni de progresión

**2.2 Lesiones evaluables no medibles:** (por ejemplo, linfangitis carcinomatosa, carcinomatosis peritoneal, ...)

- Respuesta completa: desaparición de toda enfermedad conocida, confirmada a las cuatro o más semanas
- Respuesta parcial: descenso estimado mayor o igual al 50%, confirmado a las cuatro semanas
- Progresión de la enfermedad: incremento estimado mayor o igual al 25% en lesiones existentes, o aparición de nuevas lesiones
- No cambios: no cumple criterios de respuesta parcial ni progresión

### ANEXO 3: GRADOS DE TOXICIDAD CUTÁNEA (ESCALA NCI-CTCAE V3)

Grado 0: no existe toxicidad

Grado 1: afecta a la cara y no se acompaña de síntomas

Grado 2: igual que en 1 pero asociado a prurito y afectando un área inferior al 50% de la superficie corporal

Grado 3: cuando la erupción se extiende además de la cara, al tórax y la espalda o a más del 50% de la superficie corporal, o el desarrollo de lesiones dolorosas, confluentes, maculares, populares, vesiculares o descamativas

Grado 4: en forma de una dermatitis exfoliativa generalizada y/o con presencia de úlceras

## **ANEXO 4: GRADOS DE DIARREA NCI-CTCAE**

Grado 1: < 4 deposiciones/día sobre el hábito normal

Grado 2: 4-6 deposiciones/día sobre el hábito normal

Grado 3: > 7 deposiciones/día sobre el hábito normal

Grado 4: alteraciones hemodinámicas o datos de deshidratación severa

## BIBLIOGRAFÍA

1. De Angelis R, Francisci S, Baili P, et al. The EUROCORE-4 database on cancer survival in Europe: Data standardisation, quality control and methods of statistical analysis. *European Journal of Cancer* 2009;(5):909-930.
2. Ferlay J, Bray F, Pisani P, Parkin DM. *Globocan 2002. Cancer incidence, mortality and prevalence worldwide. IARC Cancerbase n° 5 versión 2.0.* IARC Press, Lyon 2004.
3. Zielinsky S. Diversity in cancer rates, control programs matches diversity of European Union. *Journal of the National Cancer Institute* 2005; 97(19): 1398-1399.
4. Edelman MJ, Gándara DR. Cáncer de pulmón. En: Casciato DA, Lowitz BB, eds. *Oncología Clínica*, 4ª ed. Philadelphia, PA: Lippincott Williams & Wilkins Publishers, 2001: 158.
5. David S. Schump, Nasser K, Altorki C, et al. Non – small cell cancer: In: De Vita VT, Hellman S, Rosenberg SA. *Principles and Practice of Oncology*, 7th ed. Philadelphia, PA: Lippincott Williams & Wilkins Publishers, 2005: 753-810.
6. Denduluri N, Gutierrez ME. Small cell lung cancer. En: Abraham J, Gulley JL, Allegra CJ, eds. *Handbook of Clinical Oncology*, 2nd ed. Philadelphia, PA: Lippincott Williams & Wilkins Publishers, 2005:35.
7. Travis WD, Brambilla E, Muller-Hermelink HK, Harris CC (eds.) *World Health Organization classification of tumours. Pathology and genetics of tumours of the lung, pleura, thymus and Herat.* Lyon: IARC Press, 2004.
8. Groome PA, Bolejack V, Crowley JJ, et al. The IASLC Lung Cancer Staging Project: Validation of the proposals for revision of the T, N and M descriptors and consequent stage groupings in the forthcoming (seventh) TNM classification for lung cancer. *J Thorac Oncol* 2007(2); 694-705.
9. Le Chevalier T, Brisingand D, Douillard JY, et al. Randomized study of vinorelbine and cisplatin versus vindesine and cisplatin versus vinorelbine alone in advanced non-small-cell lung cancer: Results of a European multicenter trial including 612 patients. *J Clin Oncol*, 1994; 12:360-367.

10. Rapp E, Pater JJ, Willan A et al. Chemotherapy can prolong survival in patients with advanced non-small cell lung cancer- report of a Canadian multicenter randomized trial. *J Clin Oncol*, 1988;(6): 633-641.
11. Jaakkimainen L, Goddwin PJ, Pater J et al. Counting the costs of chemotherapy in a National Cancer Institute of Canada randomized trial in non small cell lung cancer. *J Clin Oncol* 1990;(8):1301-1309.
12. Non small cell lung cancer collaborative group: chemotherapy in non small lung cancer: A meta-analysis using updated data on individual patients from 52 randomised clinical trials. *Br Med J* 1995;(311): 899-909.
13. Sandler A. Phase III trial of cisplatin with or without gemcitabine in advanced or metastatic NSCLC. *Proc. ASCO* 1998; (17): 454.
14. Schiller JH. A randomized phase III ECOG trial in advanced non small cell lung cancer. *New Engl J Med* 2002;(346): 92-98.
15. Hanna H, Shepherd FA, Fossella FV et al. Randomized phase III trial of pemetrexed versus docetaxel in patients with non small cell lung cancer previously treated with chemotherapy. *J Clin Oncol* 2004; (22): 1589-1597.
16. Scagliotti GV, Parikh P, Von Pawel J et al. Phase III study comparing cisplatin plus gemcitabine with cisplatin plus pemetrexed in chemotherapy naive patients with advanced stage non small cell lung cancer. *J Clin Oncol* 2008; (21): 3543-3551.
17. Kosmidis P, Mylonakis N, Nicolaides C, et al. Paclitaxel plus carboplatin versus gemcitabine plus paclitaxel in advanced non-small-cell lung cancer: a phase III randomized trial. *J Clin Oncol* 2002; (20): 3578-3585.
18. Fossella FV, De Vore R, Kerr RN et al: randomized phase III trial of docetaxel versus vinorelbine or ifosfamide in patients with advanced non small cell lung cancer previously treated with platinum – containing chemotherapy regimens. *J Clin Oncol* 2000; (18): 2354-2362.
19. Ramlau R, Gervais R, Krzakowsky M, et al. Phase III study comparing oral topotecan versus intravenous docetaxel in patients with pretreated advanced non small cell lung cancer. *J Clin Oncol* 2006; (18): 2800-2807.
20. Millar VA, Kris MG, Shah N et al. Bronchioalveolar pathologic subtype and smoking history predict sensitivity to gefitinib in advanced non small cell lung cancer. *J Clin Oncol* 2004;(22): 1103-1109.

21. Miller V, Herbst RS, Prager D, et al. Long survival of never smoking non small cell lung cancer patients treated with erlotinib and chemotherapy: subgroup analysis of TRIBUTE. *J Clin Oncol* 2004; (22): suppl.14, abstract 7012.
22. Mohamed MK, Ramalingam S, Li Y. Skin rash and good performance status predict improved survival with gefitinib in patients with advanced NSCLC. *Ann Oncol* 2005; (5): 780-785.
23. Thomas J, Lynch MD, Daphne W 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): 2129-2139.
24. Takano T, Ohe Y, Sakamoto H, et al. Epidermal growth factor receptor gene mutations and increased copy number predict gefitinib sensitivity in patients with recurrent non small cell lung cancer. *J Clin Oncol* 2005; (28): 6829-6837.
25. Tsao M, Akira S, Cutz J, et al. Erlotinib in lung cancer – molecular and clinical predictors of outcome. *N Engl J Med* 2005; (353): 133-144.
26. Shepherd FA, Pereira JR, Ciuleanu T, et al. Erlotinib in previously treated non small cell lung cancer. *N Engl J Med* 2005; (353): 123-132.
27. Miller AB, Hooqstraten B, Staquet M et al. Reporting results of cancer treatment. *Cancer* 1981; (47): 207-214.
28. Kaplan EL, Meier P. Nonparametric estimation from incomplete observation. *J Am Stat Assoc* 1958; (53): 457-481.
29. Pérez-Soler R, Cappuzzo F, Leon L, et al. Time course of skin toxicity secondary to erlotinib therapy in patients with non small cell lung cancer. *J Clin Oncol* 2011; (29): abstract ASCO 7610.
30. Thatcher N, Chang A, Parikh P, et al. Gefitinib plus best supportive care in previously treated patients with refractory advanced non small cell lung cancer: results from a randomised, placebo controlled, multicentre study (ISEL). *Lancet* 2005; (366): 1527-1537.
31. Provencio M, García-Campelo R, Isla D, et al. Clinical-molecular factors predicting response and survival for tyrosine-kinase inhibitors. *Clin Transl Oncol* 2009; (11): 428-436.
32. Cullen M, Thatcher N. Gefitinib or docetaxel in advanced non small cell lung cancer. *Lancet* 2008; (9652): 1809-1818.