



**BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA  
COMPLEJO REGIONAL SUR**

**FACULTAD EN MEDICINA**

**CARACTERIZACIÓN MOLECULAR Y RESULTADOS DEL  
TRATAMIENTO DE PACIENTE CON DIAGNÓSTICO DE  
ADENOCARCINOMA PULMONAR ETAPA IV EN DOS  
HOSPITALES DEREFERENCIA EN MÉXICO: ESTUDIO DE  
COHORTE RETROSPECTIVA**

---

**PARA OBTENER EL TÍTULO DE  
LICENCIADO EN MEDICINA**

**PRESENTA**

**AMAIRANY GUADALUPE VÉLEZ MARTÍNEZ**

**DIRECTORES DE TESIS**

**DR. RAÚL ROGELIO TREJO ROSALES**

**D.C. ADRIANA NIEVA VÁZQUEZ**

**TEHUACÁN, PUEBLA**

**AGOSTO 2022**

**CARACTERIZACIÓN MOLECULAR Y RESULTADOS DEL  
TRATAMIENTO DE PACIENTE CON DIAGNÓSTICO DE  
ADENOCARCINOMA PULMONAR ETAPA IV EN DOS  
HOSPITALES DEREFERENCIA EN MÉXICO: ESTUDIO DE  
COHORTE RETROSPECTIVA**

**PRESENTA**

**Amairany Guadalupe Vélez Martínez**

**Matrícula:201507212**

**Alumna de la Facultad de Medicina BUAP**

**Complejo Regional Sur.**

**ASESOR EXPERTO**

**Dr. Raúl Rogelio Trejo Rosales.**

**Oncología Médica, Subespecialidad Cáncer de Tórax, Centro Médico**

**Nacional Siglo XXI**

**ASESOR METODOLÓGICO.**

**D. en C. Adriana Nieva Vázquez,**

**Profesor Investigador titular de la Facultad de Medicina BUAP.**

**Bióloga Celular y Molecular**

**Complejo Regional Sur**

**ID: NSS494455**

Este trabajo fue realizado en la consulta externa de “Oncología médica de Centro Médico Nacional Siglo XXI” con el número de registro R-2021-785-006, Bajo la asistencia del Dr. Raúl Rogelio Trejo Rosales.



## ÍNDICE

OFICIO DE APROBACIÓN DE TESIS .....	7
RESUMEN.....	9
LISTA DE ABREVIATURAS .....	11
CAPÍTULO I.....	12
ANTECEDENTES GENERALES.....	12
Tendencias epidemiológicas en cáncer de pulmón. ....	12
Etapas avanzadas de cáncer pulmonar. ....	13
Factores de riesgo principales. ....	14
Factores de riesgo para cáncer pulmonar distintos al tabaco .....	<b>¡Error! Marcador no definido.</b>
Clasificación del cáncer de pulmón.....	16
Subtipos moleculares del cáncer pulmonar de células no pequeñas de tipo adenocarcinoma ..	16
ANTECEDENTES ESPECÍFICOS .....	17
Mutaciones de EGFR .....	17
El rearrreglo de ALK.....	23
Tratamiento del cáncer pulmonar avanzado.....	31
Papel de la quimioterapia .....	31
Tratamiento dirigido por alteraciones moleculares .....	32
CAPÍTULO II .....	35
Planteamiento del problema .....	35
OBJETIVOS .....	35
Objetivo general .....	35
Objetivos específicos.....	36
CAPÍTULO III .....	37
MATERIAL Y MÉTODOS .....	37
Diseño del estudio: Se trata de un estudio de cohorte, retrospectivo, analítico, multicéntrico..	37
Ubicación espacio temporal .....	37
Estrategia del trabajo.....	37
Selección de la muestra .....	41
Muestra.....	42
Criterios de selección de las unidades de muestreo .....	42
Criterios de inclusión .....	42
Criterios de exclusión.....	42
Criterios de eliminación .....	43

Diseño y tipo de muestreo .....	43
Tamaño de la muestra .....	43
Definición de las variables y escalas de medición .....	44
Métodos de recolección de datos .....	46
Diseño estadístico.....	46
BIOÉTICA. ....	47
CAPÍTULO IV .....	52
Resultados .....	52
Discusión.....	55
Conclusiones .....	56
CAPÍTULO V .....	58
ANEXOS.....	58
Anexo 1. Hoja de recolección de datos. ....	58
Anexo 2. Carta de no consentimiento informado.....	59
Anexo 3. Carta para protocolos sin implicaciones de bioseguridad.....	60
Anexo 4. Carta de no inconveniente por el director del Hospital. ....	61
Anexo 5. Clasificación TNM. ....	62
Bibliografía .....	64

## INDICE DE FIGURAS, TABLAS Y GRÁFICAS

Figura 1. Generalidades de la trascendencia actual del CP.....	12
Figura 2. Tratamiento de CP con TB .....	31
Tabla 1. Factores relacionados con mutación de EGFR.....	19
Tabla 2. Tipo de mutación encontrada en la población mexicana.....	19
Tabla 3. Manifestaciones clínicas más comunes en pacientes con Cáncer de pulmón.....	27
Tabla 4. Resumen de los tratamientos anti EGFR en adenocarcinoma pulmonar comparado con quimioterapia clásica.....	31
Tabla 5. Características clínicas.....	52
Tabla 6. Distribución de mutaciones.....	54
Gráfica 1. Mecanismos de resistencia en adenocarcinoma pulmonar con mutación de EGFR.....	13
Grafica 2. Mortalidad por cáncer de pulmón en hombres de 1930 a 2015.....	13
Gráfica 3. Subtipos moleculares del CPCNP de tipo adenocarcinoma.....	17
Gráfica 4. Mecanismos de resistencia en adenocarcinoma pulmonar con mutación de EGFR.....	22
Grafica 5. Distribución de sexo.....	51
Gráfica 6. Tabaquismo.....	51
Gráfica 7. Exposición a humo de leña.....	52
Grafica 8. Distribución histológica.....	53

# OFICIO DE APROBACIÓN DE TESIS



No. Of. TCRS-133/2022

Asunto: Oficio de aceptación

**AMAIRANY GUADALUPE VELEZ MARTINEZ**  
**ALUMNA DE LA LICENCIATURA EN ESTOMATOLOGÍA**  
**PRESENTE.**

Por medio de la presente me permito informarle que con fecha: **30 de mayo del 2022**, quedó REGISTRADO su tema de tesis “**Caracterización molecular y resultados del tratamiento de paciente con diagnóstico de Adenocarcinoma pulmonar etapa IV en dos Hospitales de referencia en México: Estudio de cohorte retrospectiva.**” con número de folio: ESCRS-2022-4/ES21, de la Licenciatura en **MEDICINA** del Complejo Regional Sur de acuerdo con lo dispuesto en el artículo 8 y 14 y demás relativos y aplicables al Reglamento general de titulación. Así mismo hago mención que los **asesores registrados** para su proyecto de investigación son los siguientes:

Asesora Metodológica:  
**D.C. Adriana Nieva Vazquez**  
Especialista en investigación  
NSS494455

Asesora Disciplinaria:  
**Sub esp. Raúl Rogelio Trejo Rosales**  
Sub especialista en Oncología médica

Le comento que el tiempo para la elaboración de su tesis será de **3 meses mínimo a un año máximo** para la conclusión a partir de esta fecha, de acuerdo con lo que marca el artículo 32.

Sin otro asunto particular por el momento me despidió de usted.

Atentamente  
“Pensar bien para vivir mejor”  
Tehuacán, Pue., a 30 de mayo del 2022.

  
**MTRA. MARIA DEYSI TAPIA ALVAREZ**  
Coordinador de Titulación y Egreso  
Complejo Regional Sur, BUAP.

qJgh8t5N2kvAITcqlr^dl3^e&%ti

mdt  
C.c.p. Archivo

## AGRADECIMIENTOS

Dedico esta tesis a cada una de las personas que han sido pilares importantes en mi formación profesional y personal el transcurso de mi camino. Mis padres y hermano, por apoyarme en cada proyecto y siempre permitir ampliar mis horizontes, por estar presentes aun en la distancia y darme las fuerzas y ánimos para seguir esforzándome cada día, todo lo debo a ustedes y jamás dejare de agradecer el infinito amor y sacrificio que me han brindado.

Al Dr. Rogelio por ser parte fundamental en una etapa más de mi desarrollo personal y académico dándome el ejemplo de esfuerzo, dedicación y disciplina para cumplir con mis objetivos. Por el tiempo invertido en mi formación y por acogerme en su equipo de trabajo como una familia.

A la Dra. Adriana Nieva por guiarme en el desarrollo de este trabajo y asesorarme. Una buena docente y un ejemplo a seguir como mujer investigadora.

A Mirka Itahí por estar siempre en todo momento a pesar de la distancia, por escucharme, apoyarme y hacerme creer en mi cada día.

A Gabriel Irigoyen por ser un apoyo, por las risas, por enseñarme y siempre motivarme en los momentos difíciles.

## RESUMEN

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

**Objetivo principal:** Determinar la frecuencia de mutación de EGFR y ALK en pacientes con cáncer de pulmón de células no pequeña de tipo adenocarcinoma metastásico (etapa IV) atendidos en Centro Médico Nacional Siglo XXI y en el Instituto Nacional de Cancerología en el periodo 2015 a 2021. Se trata de un estudio retrospectivo para medir la frecuencia de mutación de EGFR y ALK en CPCNP de tipo adenocarcinoma metastásico (etapa IV), además de los resultados del tratamiento con respecto a sobrevida global y supervivencia libre de progresión. El estudio se realizó en el Servicio de Oncología Médica, en el Hospital de Oncología, Centro Médico Nacional Siglo XXI, del Instituto Mexicano del Seguro Social, México. Además, se incluyeron pacientes del Instituto Nacional de Cancerología. Para el cálculo de tamaño de muestra se utilizó el programa Epiinfo versión 7, considerando una prevalencia de mutaciones en el gen EGFR del 35 %, un nivel de confianza del 90 % y un

margen de error esperado del 5 % de acuerdo con el estudio de realizado en el Instituto Nacional de Cancerología por O Arrieta y colaboradores por lo que se requiere de un total de 246 pacientes. Para ser incluidos en este estudio, los individuos con cáncer pulmonar metastásico de reciente diagnóstico que cumpla con los siguientes criterios al momento del enrolamiento: Pacientes de 18 años de edad o mayores, Pacientes de ambos sexos, cáncer de pulmón de células no pequeñas (NSCLC) confirmado histológicamente o citológicamente, Enfermedad metastásica en estadio IV, subtipo histológico de NSCLC de tipo adenocarcinoma, pacientes asignados por el médico tratante a cualquier terapia (es decir, quimioterapia, agentes dirigidos, inmunoterapia) o cuidados paliativos, material suficiente para la determinación de las características moleculares de acuerdo con criterios establecidos por el equipo utilizado (Rotor gene Q QIAGEN en caso de mutaciones EGFR y VENTANA ALK (D5F3) CDx Assay en el caso de mutaciones ALK.

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

**Aspectos éticos:** Se trata de un estudio riesgo mínimo. La información recabada fue resguardada por el Dr. Rogelio Trejo Rosales. En ningún momento se divulgó el nombre de los pacientes. Sólo el equipo de investigación tuvo acceso a la información clínica y de patología, así como a los resultados del estudio. Toda la información fue tratada con la confidencialidad necesaria de acuerdo a los principios de bioética vigentes consignados en la Ley General de Salud y la Declaración de Helsinki.

**Recursos e infraestructura:** El estudio se llevó a cabo en el área de Oncología Médica. Se solicitaron las laminillas de revisión y/o bloques de parafina para el análisis al departamento de patología. Para procesamiento de muestras se solicitó financiamiento a través de las convocatorias correspondientes del Instituto Mexicano del Seguro social. El análisis de resultados se realizó en el departamento de Oncología Médica. El análisis molecular se realizó utilizando el equipo propio de la institución. El uso del equipo no tuvo costo alguno para

la institución.

## **LISTA DE ABREVIATURAS**

- CP. Cáncer de pulmón
- CED. Captura Electrónica de Datos
- ECOG. Eastern Cooperative Oncology GroupFU. Seguimiento
- IMSS. Instituto Mexicano del Seguro SocialIT. Inmunoterapia
- LA. América Latina
- NSCLC. Cáncer de pulmón de células no pequeñas (no microcitico)OS.  
Supervivencia global
- TB. Terapia blanco
- EGFR. Receptor de factor de crecimiento epidérmico
- ALK. Cinasa de Linfoma anaplásico

## CAPÍTULO I

### ANTECEDENTES GENERALES.

#### Tendencias epidemiológicas en cáncer de pulmón.

El cáncer pulmonar es definido como una neoplasia maligna que tiene su origen a partir de células pulmonares y/o bronquiales.

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

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

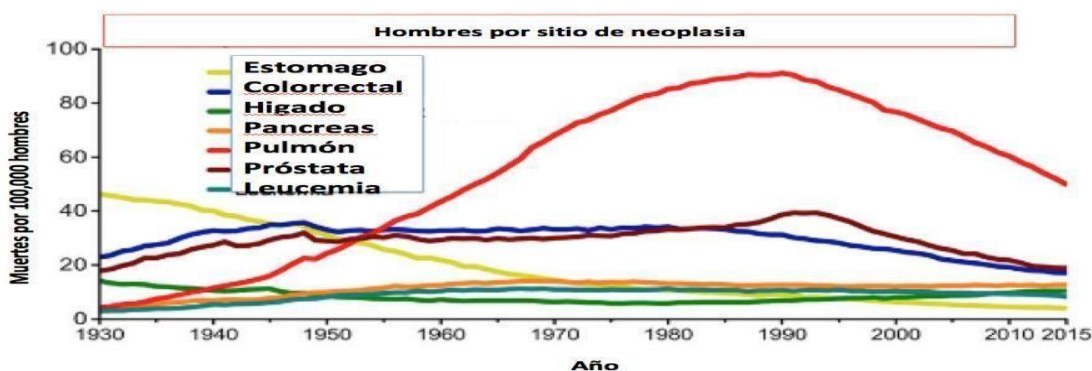


“La incidencia del CP depende de variables como la edad, el género, etnia, el estado socioeconómico y la ubicación geográfica” (2). Las tasas de incidencia han disminuido en las últimas décadas, lo cual es más notorio en el sexo masculino comparado con el femenino, lo cual refleja diferencias históricas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

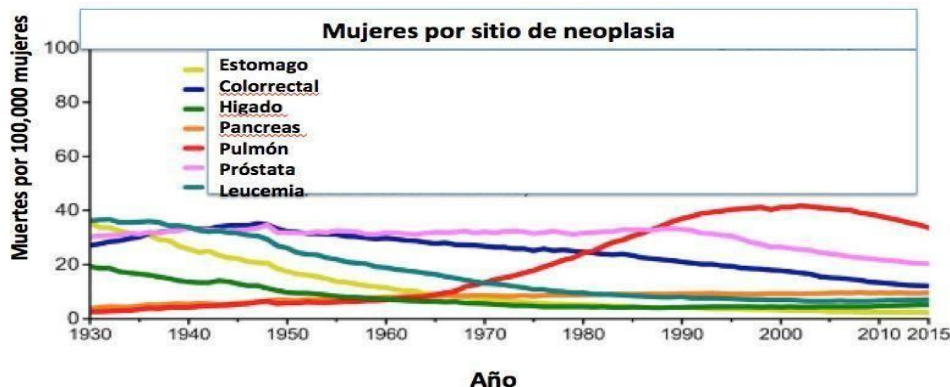
### Etapas avanzadas de cáncer pulmonar.

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

A principios de la década de 1990 mostró un decremento anual de aproximadamente 1.5 %.



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



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

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

### **Factores de riesgo principales.**

*El papel del tabaquismo:* El cáncer pulmonar es una patología prevenible en la mayoría de los casos. El 61.2 % de casos con cáncer de pulmón ocurre en exfumadores, mientras que el 20.9 % de los pacientes diagnosticados es un fumador actual. Sin embargo, el 17.9 % de los casos de CP se presentan en personas que nunca fumaron (6). La relación del cáncer pulmonar con el tabaquismo fue expuesta en 1964 por el “Surgeon General’s Report”, con una influencia ideal para el bienestar general. La frecuencia del tabaquismo en los hombres disminuyó del 51% al 21,6% en 2014 en los Estados Unidos. En las mujeres, la disminución fue del 33,3% al 16,5%. En general, se espera que 1.300 millones de personas fumen en todo el mundo (8,9). Aunque esta dependencia al tabaco tiene una conducta decreciente en las naciones desarrolladas, en todo caso, se mantiene o incluso se expande en las naciones emergentes (4).

Se han descrito más de 8.000 mezclas en el tabaco y en el humo que produce, de las cuales 70 son agentes cancerígenos según la Organización Mundial para la búsqueda de Cáncer. Los más significativos son los hidrocarburos policíclicos aromáticos, las aminas aromáticas, las nitrosaminas inestables, los aldehídos y los hidrocarburos imprevisibles, los metales (níquel, arsénico y cromo), el radioelemento  $^{210}\text{Po}$  y otros componentes naturales. El miembro central en la carcinogénesis del tabaco son los aductos de ADN formados. Éstos suelen ser extraídos por los marcos proteicos de fijación de la base del ADN. En el caso de que estos sean derrochadores o estén sobredimensionados, los aductos del ADN provocan una codificación errónea, con cambio de las cualidades del silenciador del crecimiento como TP53, RASSF1A y FHIT. Este ciclo puede incluir igualmente algunos epigenéticos que favorecen el cambio maligno (10).

### **Otros factores de exposición**

*“Exposición a biomasa, polución aérea y exposición a radón:* La evidencia indica que la exposición a biomasa está ligada al desarrollo de CP. En un metaanálisis realizado en población china en 2006 se encontró un OR de 2.12 (IC 1.81- 2.47) para desarrollar CP en

pacientes expuestos a biomasa. Un estudio realizado en el Instituto Nacional de Cancerología por Arrieta et al (11), relacionó la exposición a biomasa con adenocarcinoma con mutación de EGFR.”

La polución aérea es uno de los grandes problemas ecológicos de las sociedades modernas. El crecimiento urbano e industrial desmesurado, ha llevado a que los individuos que viven en grandes ciudades estén expuestos a altas concentraciones de contaminantes en su vida diaria. “La concentración de estos contaminantes en el medio ambiente, entre los que se cuentan el ozono, dióxido de nitrógeno, dióxido de azufre y la materia particulada ó PM (particulate matter) depende del parque vehicular, las emisiones de fábricas y la dirección de las corrientes aéreas. Se estima que en nuestro país 38 mil personas murieron entre 2001 y 2005 por enfermedades relacionadas a la polución aérea (12).”

Según estimaciones de la OMS, “la contaminación del aire causó 165 000 muertes por cáncer de pulmón a nivel mundial en 2004, de las cuales 108 000 fueron causadas por la contaminación del aire exterior” (13).

La principal revisión, siendo un estudio de naturaleza prospectiva, que busca una conexión causal entre la contaminación del aire y el CP es el estudio ESCAPE. Se trata de una investigación de 17 estudios europeos de 9 naciones europeas donde se desglosaron los niveles de PM10, PM2.5 y óxidos de nitrógeno. La cohorte completa, con más de 300.000 individuos y 2.095 casos de CP, mostró una relación realmente crítica del cáncer de pulmón y las PM10 (proporción de peligro [HR] 1,22 [IC del 95%: 1,03-1,45]. En el caso de las PM2,5, el HR fue de 1,18 (0,96-1,46). No se encontró ninguna relación con los óxidos de nitrógeno. Esta revisión se concentra en demostrar un patrón hacia el déficit de cambios de agudeza en pacientes de regiones de alta contaminación estimada por PM2.5. (14).

Un factor más de riesgo relacionado con la PC es la exposición al radón.

“El radón es un gas inerte procedente de la desintegración del uranio y es una causa natural importante para la CP. El radón está disponible en el suelo, las rocas y las aguas subterráneas, y puede acumularse en los hogares. Los resultados de la desintegración del radón, el polonio 218 y el polonio 214 están equipados para irradiar partículas alfa, que son partículas de alta energía y alta masa compuestas por dos protones y dos neutrones que causan transformaciones de las bases del ADN y roturas de la cadena cromosómica, lo que está relacionado con su potencial cancerígeno.”

No existe información sobre la relación de exposición a radón y mutaciones sensibilizantes (16).

### **Clasificación del Cáncer pulmonar.**

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

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

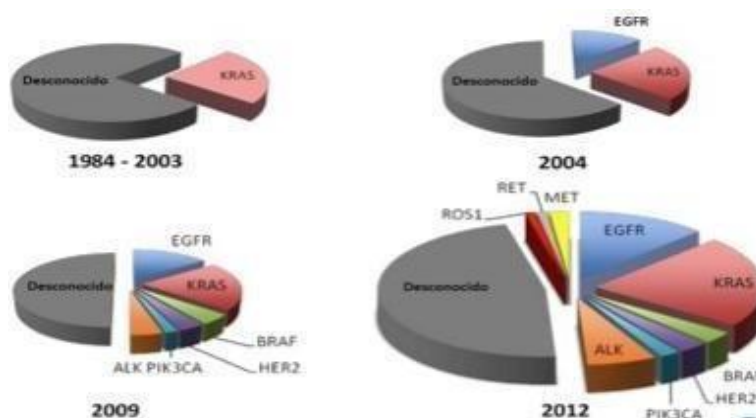
“Las histologías epiteliales constituyen las más frecuentes y pueden agruparse para su estudio como carcinoma pulmonar de células no pequeñas (CPCNP o NSCLC por sus siglas en inglés). Por inmunohistoquímica en los adenocarcinomas pulmonares suele observarse una neoplasia TTF1 (+), Napsina (+) que representan los marcadores más sensibles y específicos respectivamente, además de elevada frecuencia de CK7 +. Los carcinomas epidermoides son positivos para p40 y p63” (16).

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

En las últimas décadas la genética tumoral ha permitido la reclasificación de CP, con base en mutaciones *key driver* específicas. Esto ha ampliado el panorama respecto al entendimiento del adenocarcinoma pulmonar y al abanico de posibilidades de tratamiento. Puede observarse la evolución de la clasificación del CP en la gráfica 3. La clasificación basada en la genética molecular ha probado en algunos estudios en CP elegir tratamientos dirigidos a blancos

moleculares terapéuticos.

“En algunos casos esto se ha traducido en mejores tasas de respuesta y de supervivencia libre de progresión y supervivencia global”.



**Gráfica 3.** Subtipos moleculares del CPCNP de tipo adenocarcinoma

## ANTECEDENTES ESPECÍFICOS

### Mutaciones de EGFR

“El receptor del factor crecimiento epidermoide o EGFR constituye una glucoproteína transmembrana que está compuesta por un dominio extracelular amino-terminal para la unión con ligandos, una hélice transmembrana hidrófoba y un dominio citoplasmático con el dominio tirosina quinasa así como una región carboxi-terminal con residuos de tirosina y los elementos reguladores del receptor”.

“En humanos, el gen que codifica el EGFR se encuentra en el brazo corto (región p13-p12) del cromosoma 7. Este gen está compuesto por 28 exones que ocupan un segmento de 75 kb y codifican a una proteína precursora de 1 210 aminoácidos que posee una corta secuencia líder hidrofóbica en su extremo N- terminal usada para su inserción en la membrana, siendo posteriormente eliminada por procesamiento proteolítico, Y quedan finalmente 1 186 aminoácidos, los que forman una sola cadena polipeptídica.”

EGFR tiene varios ligandos que pueden activarlo, como por ejemplo el factor transformador de crecimiento (TGF) o el factor de crecimiento epidérmico (EGF).

“Cuando EGFR se une con estos ligandos ocurre una oligomerización del receptor que activa la porción tirosina quinasa de la molécula y origina la autofosforilación de ambos dominios del receptor. Estas tirosinas fosforiladas sirven como sitios de unión para diferentes

moléculas transductoras de señales citoplasmáticas”. Esto pone en marcha la fuente de señalización intracelular que da lugar a la multiplicación celular, la protección contra la apoptosis y el registro de calidad. Las células neoplásicas y ordinarias dependen de la señalización del EGFR, pero en las células típicas esta señalización está completamente controlada mientras que las células de crecimiento dependen de esta vía (17). Estos cambios hacen que la célula transformada sea "dependiente" del marcado del EGFR. Los cambios más sucesivos son borrados de nucleótidos 9, 12, 15, 18 o 24 en el exón 19 y transformaciones puntuales CTG/CGG en el exón 21 (L858R) (18).

Las alteraciones genéticas encontradas en el gen (EGFR) se relacionan con mayor frecuencia con el adenocarcinoma pulmonar. El receptor EGFR potencia las vías de señalización a través de una cascada de eventos que tienen implicaciones en procesos celulares, como apoptosis, angiogénesis, crecimiento celular y proliferación. (17)

“La frecuencia de la mutación en los CP de células no pequeñas es del 5–35% dependiendo de la población estudiada. Es más frecuentes en mujeres, no fumadores, histología de adenocarcinoma y raza asiática.” Aun con esto se debe tener en cuenta que los marcadores clínicos no son tan confiables en cuanto a sensibilidad y especificidad se refiere y que por lo tanto su presencia o ausencia no incluye o descarta la presencia de esta mutación específica. (17). –Aproximadamente 75% de casos diagnosticados con mutación en el gen del EGFR responde al tratamiento con anti EGFR, comparando con los pacientes que no presentan esta mutación que solo responde un 10 %.

“La mutación de EGFR corresponde a un marcador predictivo, sin embargo, no pronóstico. Por tal motivo se sugiere indicar la realización de estudio molecular para EGFR en todos los pacientes con adenocarcinoma pulmonar y tumores pulmonares mixtos con componente de adenocarcinoma que puedan ser candidatos a tratamiento con terapia blanco anti EGFR” (19-21).

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

“En los últimos años se han desarrollado anticuerpos específicos que reconocen las proteínas codificadas por las formas más frecuentemente mutadas del EGFR (L858R y DEL E746-

A750). Las series más recientes muestran una sensibilidad aceptable 47-83% y una alta especificidad, cercana al 100%. Estos estudios indican una mayor sensibilidad y especificidad para el anticuerpo específico para la mutación L858R” (22,23).

En un estudio realizado en nuestro país en el Instituto Nacional de Cancerología se encontró asociación a exposición a humo de leña con esta mutación sensibilizante. Pueden observarse los factores relacionados con pacientes en la tabla 1. Como es notorio, la frecuencia de mutación de EGFR en CP de tipo adenocarcinoma resultó más elevada comparada con lo reportado en población anglosajona y con mayor similitud a lo reportado en población asiática (11). El tipo de mutación encontrada se resumen en la tabla 2.

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

Característica	Frecuencia mutación EGFR	Valor de p
No tabaquismo vs tabaquismo	40.8 vs 21.1%	<0.001
Adenocarcinoma vs otras histologías	35.7 vs 13.9%	<0.001
Mujeres vs hombres	38.3 vs 22%	0.001

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

Característica	Frecuencia
Delección 19	63%
Mutación exón 21	26 %
Mutación exón 20	8.4 %
Mutaciones complejas	9.2 %
Exón 18	9.2 %

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

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

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

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

“En el mercado existen múltiples métodos de extracción de ADN disponibles y que son aplicables a muestras fijadas en formol e incluidas en parafina. Estos métodos son válidos si proporcionan un ADN de calidad y concentración adecuada (por encima de 15 ng/ml). Los métodos robotizados (Qiacube o Magpure, por ejemplo) proporcionan un ADN de menor concentración que los métodos *in house*.”

“Para muestras sólidas incluidas en parafina se recomienda una extracción manual basada en proteinasa K a una concentración de 20 ng/ml y solución detergente tipo Tween20 al 50% en estufa o baño a 55°C durante 24h, seguido de hervido a 100°C y centrifugación a 12.000 rpm, tras lo cual se extrae la fase líquida con el ADN en suspensión. Cualquier método que proporcione un ADN medido en espectrofotómetro, nanodrop o similar por encima de 15 ng/ml es susceptible de ser aceptado y, por tanto, de análisis molecular de calidad “(24).

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

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

“En la mayoría de los laboratorios donde actualmente se realizan las determinaciones del EGFR, las técnicas utilizadas son las siguientes: secuenciación automática, Scorpion Amplification Refractory Mutation System (SARMS), PNA-LNA clamp y pirosecuenciación Existen otras formas de llevar a cabo estos análisis, como son plataformas

Sequenom, basadas en tecnología «MassArray», e incluso otras plataformas más sofisticadas” (25-28).

### **Secuenciación automática**

La secuenciación automática es la que posee una sensibilidad menor. Para conseguir que esta sensibilidad sea mayor se necesitan macro o microdisecar las muestras que serán analizadas, así al menos 80% de las células serán de origen tumoral con lo cual podemos lograr que el porcentaje de falsos negativos sea menor.

Se recomienda ampliamente utilizar doble secuenciación, esto significa realizar una secuenciación en forward y reverse), a través de un secuenciador automático

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

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

Esta técnica resulta de la combinación de dos técnicas: las sondas Scorpions y una amplificación refractaria para la detección de mutaciones. “El procedimiento de laboratorio requiere un equipo de PCR capaz de detectar en tiempo real la reacción con PCR en función de la fluorescencia que se va generando en cada ciclo con el uso de sondas fluorescentes. Esta técnica tiene la ventaja de su alta sensibilidad”. Para esto es necesario contar con un equipo de PCR en tiempo real.

“Esta técnica permite solamente detectar las mutaciones específicas para las que está diseñado el ensayo. Actualmente, existe un kit comercial de la compañía DxS (Qiagen) para la detección de las mutaciones más frecuentes”.

### **PNA-LNA clamp**

Este procedimiento está basado en la reacción de PCR combinada con un oligotipo PNA (ácido nucleico peptídico) o LNA (ácido nucleico bloqueado) que es diseñado sobre una secuencia de origen, lo cual pone en marcha la detección de las secuencias que no están

bloqueadas o inhibidas por este tipo de cebador, aumentando de esta forma la sensibilidad en la identificación de mutaciones para las cuales fue creado dicho ensayo. Logrando así una ventaja marcada en aumento de la sensibilidad para la prueba. Aun así, esta prueba es considerada como una técnica dirigida a mutaciones específicas por lo cual requiere que el personal a realizar tenga experiencia en el campo.

### **Pirosecuenciación**

Es una técnica en la que se practica la secuenciación de ADN que se basa en el principio básico de la secuenciación realizada por síntesis.

“A diferencia del procedimiento de Sanger, donde la terminación de la cadena se lleva a cabo con la incorporación de dideoxinucleótidos, en la pirosecuenciación la detección se basa en la liberación del pirofosfato cuando se produce la incorporación de un nucleótido mediante la ADN polimerasa.”

“El pirofosfato liberado es convertido en ATP por la ATP sulfurilasa en presencia de adenosina-5' fosfosulfato. El ATP formado permite la conversión de luciferina en oxiluciferina, produciéndose luz que es proporcional a la cantidad de ATP generado.”

La ventaja significativa que muestra esta técnica es que permite identificar cambios de secuencia con la misma efectividad que la secuenciación genómica estándar pero con una sensibilidad aún mayor.

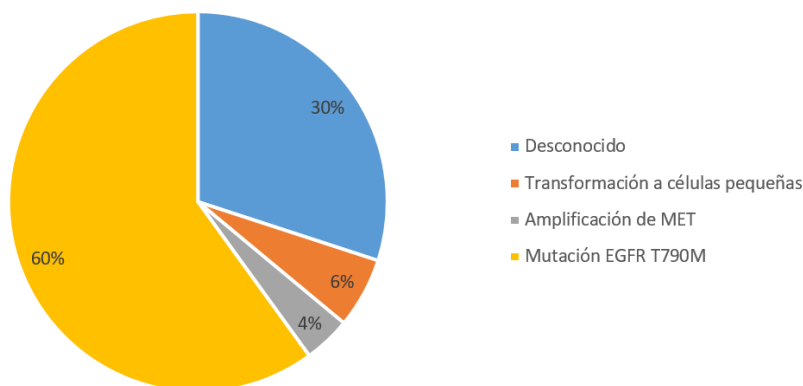
“Requiere un equipamiento especial, un software dedicado y experiencia en la técnica. Recientemente se ha comercializado un EGFR pyro kit (Qiagen)” (29-35).

### **Resistencia a tratamientos antiEGFR**

La forma habitual de progresión está representada por la mutación T790M, que corresponde al mecanismo de resistencia en el 60 % de los casos. Este mecanismo de resistencia ha motivado la creación de medicamentos dirigidos contra la mutación T790M, conocidos como anti EGFR de tercera generación. Además, se ha buscado bloquear vías de señalización paralelas como mTOR. Este proceso cumple una función importante en la regulación de las señalizaciones que desencadenan como respuesta a un aumento en las actividades celulares, de angiogénesis, supervivencia y proliferación. También se le ha relacionado como un mecanismo de resistencia a tratamientos antiEGFR. “En líneas celulares sensibles como en

resistentes, el inhibidor de mTOR everolimus, reduce la expresión de EGFR”. (23).

**Gráfica 4.** Mecanismos de resistencia en adenocarcinoma pulmonar con mutación de EGFR



### El rearrreglo de ALK

“La Cinasa de Linfoma anaplásico (ALK), se trata de un oncogen de fusión que constituye del 4-7%, del total de los adenocarcinomas pulmonares y que implica la inversión del brazo corto del cromosoma 2 y afecta a los genes que codifican para ALK (2p23.2) y la proteína 4 asociada al microtúbulo del equinodermo (EML4) (2p21) o, raramente, a los genes en otros cromosomas”

“El oncogen (ALK) fusiona los exones 1-13 del EML4 (Proteínas similares asociadas a microtúbulos) e implican la parte del extremo N-terminal del gen EML4 y el dominio de cinasa en la parte C-terminal del gen ALK. (36,37) El producto proteico tiene una cinasa constitutivamente activa de ALK puesto que el dominio básico del gen EML4 proporciona un mecanismo para la dimerización de la nueva proteína quimérica. Existen múltiples variantes quiméricas y se han identificado numerosas variantes de reordenamiento del gen de fusión EML4-ALK en los diferentes tipos de cáncer pulmonar (38, 39).

“La reordenación génica implica una inversión y translocación cromosómica, la hibridación in situ fluorescente (FISH) es el método elegido para la detección de todas las formas de reordenamiento del gen ALK, y fue el ensayo utilizado para detectar esta aberración genética en los primeros ensayos clínicos del inhibidor de ALK, crizotinib”.

“La detección de ALK con la inmunohistoquímica (IHC) es viable teniendo en cuenta su bajo costo y su alta reproducibilidad, sensibilidad y especificidad, las IHC se conciben para los pacientes con carcinoma de pulmón de células escamosas en combinación con la prueba

FISH y que se utiliza para confirmar los resultados positivos de la IHC (40). Este gen de fusión lleva a la activación de mecanismos de supervivencia y proliferación celular”.

El rearrreglo de ALK se encuentran predominantemente en el adenocarcinoma pulmonar o carcinomas mixtos pulmonares con componente de adenocarcinoma. El rearrreglo de ALK es más frecuente en adenocarcinomas con histología sólida o con células en anillo de sello, en estudios occidentales, sin embargo, resultados como este no han sido obtenidos en papcientes asiáticos. Se ha descrito que existe una mayor prevalencia en las mutaciones del arreglo de ALK en pacientes nunca fumadores y jóvenes. La identificación de pacientes con este grupo de características clínicas en la consulta/practica clínica es un factor importante que permite reconocer a aquellos pacientes con probabilidad de ser susceptibles a tratamientos dirigidos altamente efectivos contra este tipo de mutaciones y que a diferencia de la quimioterapia habitual son administrados vía oral, mostrando así una superioridad en términos de supervivencia libre de progresión. Sin embargo estas características antes mencionadas no resultan ser suficientes para excluir o elegir pacientes candidatos a la identificación de este rearreglo genético de ALK y por consecuencia a la administración de la nueva terapia blanco.

“La guía CAP/IASLC/AMP sugiere que las pruebas de ALK se hagan sólo a los pacientes con adenocarcinoma y CP mixto con un componente de adenocarcinoma en muestras de CP completamente extirpadas.”

“La prueba ALK también se recomienda para muestras limitadas, como las muestras de biopsia y de citología, cuando no se puede excluir por completo el componente de adenocarcinoma” (41-44).

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

Al igual que fue mencionado con las pruebas para EGFR, en el caso de la búsqueda de este gen de fusión, lo más importante es el número de células disponibles en el tejido a analizar. Si la cantidad de células es suficiente, la prueba puede ser llevada a cabo en tejido sólido y en citológicos. Aún no está definido el número necesario de células tumorales para realizar la determinación inmunohistoquímica de la proteína ALK El número de células tumorales necesarias para la determinación inmunohistoquímica de la proteína ALK.

“Para la técnica FISH se requiere un mínimo de 50 células tumorales. Existen diferentes enfoques para las muestras de frotis citológico, pero el más adecuado con las muestras de citología es generalmente el bloque celular”.

“Los tumores con un diámetro de 3cm o menos deben ser procesados en su totalidad. Se recomienda la fijación por inmersión, o cuando corresponda, por insuflación, con formaldehído tamponado al 10%. La prefijación con algunos fijadores a base de alcohol puede alterar la antigenicidad del tejido o la integridad del DNA”.

“Las soluciones descalcificadoras ácidas utilizadas en muestras de biopsia ósea pueden interferir con la IHC y alterar la prueba FISH. Se recomienda un periodo de fijación de más de 6 horas y menos de 48 horas, especialmente cuando se tengan que hacer pruebas de biomarcadores (para las que la integridad del DNA es importante”.

“Un defecto o un exceso de fijación pueden tener efectos nocivos en el DNA y sobre los epítomos de una proteína antigénica”.

“La sonda FISH de rotura (o break-apart) fue desarrollada para la detección de fusiones de genes creados por translocaciones intracromosomales”

FISH break-apart ha resultado ser un método de diagnóstico confiable en el medio quirúrgico, debido a que su aplicación es más sencilla en especímenes FFPE, incluso cuando no se conocen las parejas exactas de fusión.

Las sondas FISH ALK break-apart han contribuido con éxito en la práctica habitual en la detección de linfomas y tumores mesenquimales y en la identificación o descubrimiento del reordenamiento de ALK encontrado en un subgrupo raro de cáncer pulmonar de células no pequeñas. “Sin embargo, en este último escenario, la prueba FISH se ha enfrentado a complicaciones inesperadas, principalmente debido a que las variantes comunes de fusión se producen entre ALK (2p23.2) y el gen situado muy cerca de EML4 (2p21) a través de inversiones intracromosomales”.

“Rara vez el gen ALK se fusiona con otros genes por translocación intracromosomal. Por lo tanto, la técnica FISH break-apart para detectar el reordenamiento del gen ALK, se debe realizar teniendo especial consideración en aspectos técnicos y a la interpretación de los resultados”. “Las zonas genómicas homólogas a las sondas 5' y 3' están molecularmente muy cercanas y estas señales se visualizan como fusionadas, próximas o adyacentes en las células normales. Por el contrario, cuando el gen de fusión EML4-ALK está presente, la señal verde

de 5' ALK se aleja bastante de la señal roja de 3' ALK (aproximadamente 12,5 Mb), y las señales se ven como si estuvieran divididas”. En realidad, las señales 3' y 5' se pueden visualizar o muy alejadas o muy próximas entre sí en las células huéspedes tumorales anormales debido a diversos grados de condensación y reordenamientos tridimensionales de la cromatina.

“Del mismo modo, debido a la proximidad de EML4 y ALK, la división puede ser tan estrecha que las señales pueden parecer fusionadas en el reordenamiento ALK. Además, esta región genómica parece ser altamente inestable, y las regiones homólogas a una de las sondas se pueden perder, y por consiguiente, la señal correspondiente también”. Dependiendo de esto la célula tumoral puede presentar una amplia combinación de señales de co-localización 5'-3' ALK o señales aisladas de 5' o 3' ALK.

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

“Mientras que una célula tiene un patrón dividido (ALK positivo) cuando las señales 5' y 3' están separadas, sin importar el número de señales aisladas reales”. “La separación entre las señales de 5' y 3' debe ser dos o más veces el diámetro de la señal más grande. El número de señales aisladas 5' y 3' no necesita ser el mismo, por ejemplo, una célula con dos copias de la señal aislada 5' y tres copias de la señal aislada 3' se clasifica como patrón dividido”.

“El número de señales fusionadas 5'-3' acompañantes en la célula no es relevante para la clasificación de patrones. Patrón aislado 3' (positivo). Se considera que una célula tiene un patrón aislado 3' cuando sólo están presentes las señales aisladas 3' y no hay ninguna señal 5' aislada. Cuando una célula tiene tanto señales aisladas 3' como 5', con más señales 3' que 5', la clasificación correcta es la de patrón dividido, y no la de patrón aislado 3'. El número de señales fusionadas acompañantes no es relevante para la clasificación de patrones. Aunque la sonda FISH break-apart se ha utilizado como norma general para el diagnóstico de cáncer de pulmón ALK-positivo, sigue siendo difícil evaluar la verdadera sensibilidad y especificidad de la prueba”.

“La mayor discordancia entre FISH y otras modalidades surge debido a razones técnicas.

Sin embargo, FISH puede generar verdaderos resultados falsos positivos o falsos negativos, que pueden tener un impacto significativo en el manejo de la enfermedad. Los resultados falsos positivos son especialmente difíciles de demostrar, principalmente debido a la limitada sensibilidad bien conocida de la RT-PCR y la IHC. Sin embargo, hay algunos indicios clínicos de que un diagnóstico basado en resultados de FISH predice la respuesta al tratamiento con un inhibidor de ALK con menos exactitud que una combinación de FISH, IHC y RT-PCR, y los casos clínicamente discordantes raramente incluyen verdaderos falsos positivos con los resultados de FISH”

“Las nuevas tecnologías, como la secuenciación masiva en paralelo en todo el genoma, pueden ayudar a demostrar la existencia de resultados falsos positivos de FISH. Por el contrario, algunos casos de resultados falsos negativos de FISH están bien documentados en la literatura”. “En tales casos, los patrones de señales FISH atípicos pueden o no ser vistos. Los mecanismos genómicos subyacentes a los resultados falsos negativos de FISH no han quedado completamente claros, pero cabe la posibilidad de que los complejos reordenamientos genéticos e inserciones crípticas puedan contribuir a ello”. (40-44)

### Curso Clínico

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

**Tabla 3.** *Manifestaciones clínicas más comunes en pacientes con Cáncer de pulmón.*

Manifestación clínica	Frecuencia
Tos	50-75%
Hemoptisis	25-50%

Disnea	25%
Dolor torácico.	20%

Las manifestaciones menos comunes incluyen los síntomas o anomalías de laboratorio de metástasis a distancia o síndromes paraneoplásicos. Cuando cualquiera de estas manifestaciones está presente en un caso con sospecha de cáncer pulmonar, deben impulsar pruebas adicionales. “El cáncer de pulmón siempre debe sospecharse en un fumador actual o exfumador con nueva aparición de tos o hemoptisis”.

“Tanto el cáncer de pulmón de células no pequeñas (NSCLC) como el cáncer de pulmón de células pequeñas (SCLC) pueden presentarse con síntomas similares, y pocas características clínicas los distinguen de manera confiable entre sí”.

Las características que sugieren SCLC incluyen síntomas de progresión rápida y la presencia de síndromes paraneoplásicos (p. Ej., Síndrome de hormona antidiurética inapropiada), metástasis mediastínica multiestación voluminosa, síndrome de la vena cava superior y metástasis cerebrales y óseas. Por el contrario, el síndrome de Pancoast y la hipercalcemia se encuentran con mayor frecuencia en pacientes con NSCLC (3, 4, 7).

La extensión metastásica puede identificarse en los síntomas de presentación debido a que estos suelen llegar a presentarse en etapas tardías de la enfermedad, o incluso más tarde del transcurso de la misma. (10).

Los sitios más frecuentes de metástasis a distancia son el hígado, las glándulas suprarrenales, los huesos y el cerebro. Las metástasis hepáticas sintomáticas son poco frecuentes en las primeras etapas del curso de la enfermedad. Las metástasis hepáticas asintomáticas pueden detectarse en el momento de la presentación mediante anomalías de las enzimas hepáticas, TC o tomografía por emisión de positrones (PET).

“Entre los pacientes con CPCNP reseca en el tórax, se ha identificado evidencia de metástasis hepática en la TC en aproximadamente el 3% de los casos” (16).

La metástasis del cáncer de pulmón a los huesos suele ser sintomática. Los niveles elevados de fosfatasa alcalina acompañados de dolor torácico, espalda y extremidades pueden ser significativos en pacientes con metástasis ósea. El calcio sérico puede estar elevado debido a una enfermedad ósea extensa. Aproximadamente el 20 % de los pacientes con NSCLC tienen metástasis óseas en la presentación. Suprarrenales: las glándulas suprarrenales son un sitio

frecuente de metástasis, pero estas metástasis rara vez son sintomáticas. Las manifestaciones neurológicas del cáncer de pulmón incluyen metástasis y síndromes paraneoplásicos.

Las manifestaciones clínicas de metástasis en el sistema nervioso central pueden presentarse de la misma forma que en otros tumores, estos síntomas incluyen, vómitos, al

Los síntomas de la metástasis del sistema nervioso central son similares a los de otros tumores e incluyen dolor de cabeza, vómitos, pérdida del campo visual, hemiparesia, déficit de pares craneales y convulsiones.

“En pacientes con NSCLC, la frecuencia de metástasis cerebral es mayor con el adenocarcinoma y menor con el carcinoma de células escamosas. El riesgo de metástasis cerebral aumenta con el tamaño del tumor primario más grande y la presencia de compromiso de los ganglios regionales”. (18, 19).

### **Factores pronósticos**

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

“El estadio es una poderosa variable de pronóstico que resume la información incluida en los tres factores separados: T, N y M. Por supuesto, tomados por separado, estos factores son factores de pronóstico: un tamaño creciente del tumor empeora el pronóstico y la afectación de los ganglios linfáticos es per se un factor importante”.

“La diseminación pleural es una característica de pronóstico negativo y, a partir de la séptima edición, un paciente con diseminación pleural ahora se considera M1a “(7). “En pacientes metastásicos, un solo sitio metastásico es menos perjudicial que las metástasis múltiples”(8).

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

“La histología puede desempeñar un papel en el resultado: un gran estudio de población

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

“Se ha sugerido que las siguientes características se asocian con un pronóstico más favorable: estado normal de p53 ; sin expresión de EGFR; recuento bajo de microvasos; baja expresión de VEGF; sin sobreexpresión de c-erbB-2 con un efecto posiblemente restringido a la histología no escamosa; Expresión de Bcl-2; baja expresión de KI67; ausencia de mutación KRAS (26); Positividad TTF-1; alto nivel de expresión de p16, expresión de ERCC1 baja o nula (CPCNP avanzado tratado con quimioterapia a base de platino); baja expresión de  $\beta$ -tubulina de clase III, en pacientes resecados; baja expresión de survivina, sólo en pacientes resecados”.

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

### **Tratamiento del cáncer pulmonar avanzado.**

“En las últimas dos décadas hemos visto la transición de tratamientos no personalizados de tipo quimioterapia citotóxica a terapias dirigidas a sitios puntuales de vías de señalización celulares, esto es, terapia blanco (TB), para posteriormente volver a tratamientos no personalizados que activan a las células T para que sean éstas las que tengan un efecto sobre las células neoplásicas, esto es, la inmunoterapia (IT).

“La IT no solo difiere en los mecanismos de acción sino también en el perfil de reacciones adversas que requieren monitoreos especiales y conocimiento por el personal que trabaja con enfermos con cáncer”.

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

### **Papel de la quimioterapia**

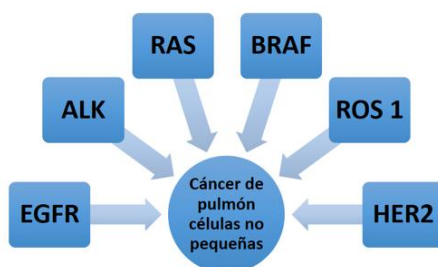
“En pacientes con CPCNP etapa clínica IV de estirpe adenocarcinoma el esquema de platino más pemetrexed es superior a otros esquemas de quimioterapia basados en platinos. Un meta análisis de 4 ensayos clínicos aleatorizados comparo la eficacia y toxicidad de la combinación con platino más pemetrexed en primera línea de tratamiento”. Para realizar el análisis de resultados de acuerdo a histología se incluyeron solamente 3 ensayos clínicos (1 792 pacientes). “La combinación platino más pemetrexed se asoció significativamente con beneficio del 13% en SG comparado con otros esquemas de quimioterapia basados en platinos (HR=0.87, IC 95% 0.77 – 0.98, p=0.02, I<sup>2</sup>=14%)”.

“En un análisis pre establecido de un ensayo clínico, fase III, aleatorizado de no inferioridad que comparó la combinación de cisplatino más pemetrexed vs cisplatino gemcitabina se demostró la superioridad de cisplatino más pemetrexed en pacientes con histología de adenocarcinoma” (47-49).

## Tratamiento dirigido por alteraciones moleculares

Tratamiento de adenocarcinoma pulmonar con mutación de EGFR

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



**Figura 2.** Tratamiento de CP con TB

“Los estudios iniciales que utilizaron TB en CP como una enfermedad homogénea fallaron. Sin embargo, un estudio de 2004 mostró por primera vez mejores desenlaces oncológicos en pacientes con mutaciones somáticas en el exón 19 y 21, ubicadas en el dominio tirosin cinasa del factor de crecimiento epidérmico (EGFR) tratados con TB” (20). “Estudios fase III realizados posteriormente mostrarían superioridad de las tres principales terapias blanco (gefitinib, erlotinib y afatinib) contra EGFR sobre la quimioterapia convencional” (Tabla 4) (22-24).

**Tabla 4.** Resumen de los tratamientos anti EGFR en adenocarcinoma pulmonar comparado con quimioterapia clásica.

ESTUDIO	TTO		N=(EGFR)	TRO	SLPm
IPASS (2009)	Gefitinib vs CBP-PACLI		261	71.2% vs 47.3	9.5 vs 6.3
WJTOG 3405 (2010)	Gefitinib vs CDDP-DOCE		172	62.1 vs 32.2%	9.2 vs 6.3
NEJGSG00	Gefitinib vs CBP-PACLI		224	73.7% vs 30.7%	10.8 vs 5.4
EURTAC	Erlotinib vs CDDP-		173	58.1% vs 14.9%	9.7 vs 5.2

		DOCE		
OPTIMAL	Erlotinib vs GMZ CBP	154	83% vs 36%	13.7 vs 4.6
LUXLUNG 3	Afatinib vs CDDP- PEMETREXED	345	56% vs 23%	11.1 vs 6.9
LUXLUNG 6	Afatinib vs GMZ- CDDP	364	66.9 vs 23%	11.0 vs 5.6

"En base a estos estudios la terapia antiEGFR se estableció como el tratamiento estándar en pacientes con CP metastásico con las mutaciones descritas tomando no solo en cuenta los mejores desenlaces oncológicos sino también el mejor perfil de toxicidad, con menos reacciones adversas hematológicas, neuropatía, fatiga y alopecia. La mutación de EGFR está presente en el 33.2 % de la población mexicana, en el 15 % de la población anglosajona y 40 % de la población asiática. El fenotipo clásico pero no definitivo de pacientes con esta mutación es de mujeres, no fumadoras, de origen asiático con histología de adenocarcinoma"

"Existen mutaciones en el receptor de EGFR que confieren resistencia a la TB convencionales de primera y segunda generación (gefitinib, erlotinib y afatinib). Particularmente importante es la mutación T790M en el exón 20 de EGFR que predice falta de respuesta a estos fármacos. Para superar la resistencia conferida por esta mutación, se cuenta ahora con un fármaco activo de tercera generación, osimertinib, que ha mostrado ser activo tanto en primera como segunda línea de tratamiento" (23).

"En una revisión sistemática con 96 estudios aleatorizados que utilizó las bases de datos de MEDLINE y EMBASE, en primera línea de tratamiento, mostró evidencia de alta calidad en el uso de anti EGFR como gefitinib, erlotinib, afatinib, dacomitinib e icotinib en pacientes con mutaciones sensibilizantes de EGFR"

"Los anti EGFR se asociaron a una mayor probabilidad de tasa de respuesta, mayor probabilidad de supervivencia libre de progresión y mayor calidad de vida" (50).

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

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

## **CAPÍTULO II**

### **Planteamiento del problema**

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

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

### **OBJETIVOS**

#### **Objetivo general**

Determinar la frecuencia de mutación de EGFR y ALK en pacientes con cáncer de pulmón de células no pequeñas de tipo adenocarcinoma metastásico (etapa IV) atendidos en Centro

Médico Nacional Siglo XXI y el Instituto Nacional de Cancerología en el periodo 2015 a 2021.

### **Objetivos específicos.**

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

## **CAPÍTULO III**

### **MATERIAL Y MÉTODOS**

**Diseño del estudio:** Se trata de un estudio de cohorte, retrospectivo, analítico, multicéntrico.

#### **Ubicación espacio temporal**

Casos con cáncer de pulmón de células no pequeñas de tipo adenocarcinoma metastásico (etapa IV) atendidos en el Hospital de Oncología de Centro Médico Siglo XXI en el periodo de enero de 2015 a septiembre de 2021. Por otra parte, se trabajó de forma conjunta con el Instituto Nacional de Cancerología.

#### **Estrategia del trabajo**

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

Se realizó una búsqueda de los casos de pacientes con adenocarcinoma pulmonar, atendidos en el periodo de enero de 2015 a septiembre 2021 con material de patología disponible. Se solicitaron las laminillas de revisión y bloques de parafina de los casos identificados. Siendo en nuestra unidad posible realizar la determinación de las mismas mediante el equipo utilizado (Rotor gene Q QIAGEN en caso de mutaciones EGFR y VENTANA ALK (D5F3) CDx Assay en el caso de mutaciones ALK).

#### **Información clínica**

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

Con el objetivo de realizar la etapificación de la enfermedad se consideró la Clasificación TNM edición 8. (Véase anexo 5) Solo fueron incluidos casos con enfermedad metastásica

(etapa IV).

La información que se recolectó de cada paciente fue la siguiente:

1.- Factores demográficos: sexo, edad, peso, historial de tabaquismo e índice tabáquico. 2.- Los factores socioeconómicos a considerar son: nivel educativo y nivel de ingresos en pesos mexicanos.

Historia médica/oncológica: incluye la fecha de diagnóstico del cáncer pulmonar, histología (adenocarcinoma, escamoso) y marcadores moleculares (EGFR, ALK, PD-L1).

Fechas de cirugía de cáncer de pulmón, fecha de inicio de tratamiento sistémico.

Los tratamientos sistémicos considerados fueron: quimioterapia, terapia blanco e inmunoterapia, según sea el caso.

### **Información histopatológica y molecular**

Para el diagnóstico histológico se solicitó la participación del departamento de patología que cuenta con patólogos expertos en el diagnóstico de estas neoplasias. Se realizó la confirmación histológica del cáncer pulmonar dentro de la misma institución. Las laminillas y bloques de parafina no salieron del Hospital de Oncología.

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

### **Información de imagen**

Para confirmar la enfermedad metastásica (etapa IV) se pidió la participación de la Dra. Maritza Ocampo quien es médico radiólogo del Hospital de Oncología, CMN SXXI. Finalmente se realizó una comparación de las poblaciones con y sin mutaciones identificadas y de la supervivencia global en las poblaciones con y sin mutaciones de ALK y EGFR.

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

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

## **Procesamiento de las muestras**

### **Extracción de DNA**

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

### **Plataforma, manufactura y metodología según mutación**

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

Se utilizó, para EGFR la plataforma Therascreen EGFR RQG y Roto-Gene Q. La manufactura estuvo a cargo de Qiagen. La qPCR a realizar se buscaron deleciones en el exón 19, mutación en L858R, G719X, S768I, inserciones en el exón 20 y T790 en el exón 20.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Ganglios linfáticos malignos. Se consideraron ganglios patológicos los ganglios linfáticos de más de 15 mm en el eje corto medido por tomografía o PET. En el seguimiento, solo el eje corto del ganglio fue medido.

Lesiones líticas óseas o lesiones óseas mixtas (líticas y blásticas). Lesiones identificadas por tomografía o PET que tienen un componente de tejido blando que cumple con la definición de enfermedad medible.

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

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

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

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

Las lesiones no blanco fueron las lesiones no medibles descritas como *enfermedad no medible* (descrita previamente). Estas lesiones se registraron, sin embargo, no fue necesaria su medición. En los casos en que no estuvieran presentes previamente, representaron sitios de progresión de la enfermedad.

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

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

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

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

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

### **Selección de la muestra**

Casos con cáncer de pulmón de células no pequeñas de tipo adenocarcinoma metastásico

(etapa IV) atendidos en el Hospital de Oncología de Centro Médico Siglo XXI en el periodo de enero de 2015 a septiembre de 2018 con material de patología disponible para su realizar el panel de mutaciones de EGFR y ALK.

## **Muestra**

### **Criterios de selección de las unidades de muestreo**

#### **Criterios de inclusión**

Se incluyeron todos los casos comprendidos en el rango de tiempo de enero de 2015 a septiembre 2021 y que cuenten con el diagnóstico confirmado de CPCNP de tipo adenocarcinoma metastásico pulmonar (etapa IV) con laminillas de revisión/bloques de parafina suficientes para su análisis.

#### **Criterios de inclusión**

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

#### **Criterios de exclusión**

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

### Criterios de eliminación

No hay criterios de eliminación para el estudio.

### Diseño y tipo de muestreo

Muestreo no probabilístico a conveniencia.

### Tamaño de la muestra

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

## Definición de las variables y escalas de medición

	DEFINICIÓN	VARIABLE	RELACIÓN	ESCALA
EDAD	AÑOS CUMPLIDOS EN EL MOMENTO DEL ESTUDIO	CUANTITATIVA DISCRETA	DESCRIPTIVA	< 20 AÑOS 21-30 AÑOS 31-40 AÑOS 41-50 AÑOS 51-60 AÑOS 61-70 AÑOS MAYOR 70 AÑOS
GENERO	CARACTERISTICASFENOTIPICAS DEL INDIVIDUO	CUALITATIVA NOMINAL	DESCRIPTIVA	MASCULINO FEMENINO
MODALIDAD DE TRATAMIENTO: QUIRÚRGICO	RESECCIÓN QUIRURGICA TUMOR DE DEL TÓRAX	CUALITATIVA DICOTÓMICA	CONFUSORA	SI NO
MODALIDAD DE TRATAMIENTO: QUIMIOTERAPIA	TIPO DE TRATAMIENTO DE QUIMIOTERAPIA RECIBIDO POR EL PACIENTE	CUALITATIVA NOMINAL	CONFUSORA	CISPLATINO CARBOPLATINO PEMETREXED GEMCITABINA VINORELBINE
MODALIDAD DE TRATAMIENTO RADIOTERAPIA	TRATAMIENTO CONRADIACIÓN IONIZANTE A TUMOR PRIMARIO DE TÓRAX	CUALITATIVA DICOTOMICA	CONFUSORA	SI NO
TABAQUISMO	HISTORIA O HÁBITO ACTUAL DE CONSUMO DE TABACO CORRESPONDIENTE A UN CIGARRILLO DIARIO POR 1 O MÁS AÑOS.	CAULITATIVA DICOTOMICA	CONFUSORA	SI NO
ETILISMO	HISTORIA O HÁBITO ACTUAL DE CONSUMO DEBEBIDAS ALCHÓLICAS QUE RESULTA EN UN ESTADO FÍSICO O PSICOLÓGICO PATOLÓGICO	CUALITATIVA DICOTOMICA	DESCRIPTIVA	SI NO

MUTACION DE EGFR	PRESENCIA DE MUTACIÓN EN LOS EXONES 18-21 DETERMINADA POR TÉCNICA DE PCR	CUALITATIVA DICOTÓMICA	INDEPENDIENTE	SI NO
TIPO MUTACION DE EGFR DE	DESCRIPCIÓN DE LA MUTACION DE EGFR ESPECÍFICA	CUALITATIVA NOMINAL	INDEPENDIENTE	DELECIÓN EXON 19 MUTACION EXON21 MUTACION EXON20 T790M MUTACIÓN EXÓN 18
MUTACIÓN COMPLEJA DE EGFR	PRESENCIA DE MÁS DE UNA MUTACIÓN DE EGFR	CUALITATIVA NOMINAL	INDEPENDIENTE	TODAS LAS COMBINACIONES POSIBLES DE LAS MUTACIONES DE LOS EXONES 18-21
REARREGLO DEALK	PRESENCIA DEL REARREGLO DE ALK- EML-4 DETERMINADO POR INMUNOHISTOQUÍMICA	CUALITATIVA DICOTÓMICA	INDEPENDIENTE	SI NO
SOBREVIDA GLOBAL	NÚMERO DE PACIENTES VIVOS AL TÉRMINO DEL PERÍODO DE OBSERVACIÓN, CON ENFERMEDAD O SIN ELLA	CUANTITATIVA NOMINAL	DEPENDIENTE	CUALQUIER CIFRA DE TIEMPO DE SOBREVIDA EN MESES
SUPERVIVENCIA LIBRE DE PROGRESIÓN	CANTIDAD DE TIEMPO DURANTE Y DESPUÉS DEL TRATAMIENTO EN EL QUE LA ENFERMEDAD NO MEDIDA POR CRITERIOS CLÍNICOS Y DE IMAGEN	CUANTITATIVA NOMINAL	DEPENDIENTE	

### **Métodos de recolección de datos**

Los datos recolectados durante este estudio se ingresaron en una base de datos segura. El acceso al sistema de Captura Electrónica de Datos (CED) se controló mediante nombre de usuario y contraseña. El nombre del paciente no se registró en CED. Se otorgó un número de identificación secuencial a cada paciente inscrito. Este número sirvió de identificación al paciente. Con los medios para evitar errores de identificación, se registró el código del paciente, sus iniciales y la fecha de nacimiento.

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

### **Diseño estadístico**

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

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

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

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

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

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

La selección de factores de confusión fue variable de acuerdo al modelo y dependió de los tratamientos que se compararon. Los candidatos incluyeron la edad, la presencia de metástasis hepáticas, el dolor, el estado de desempeño (ECOG).

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

## **BIOÉTICA.**

### **ASPECTOS ÉTICOS**

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

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

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

### **Protección a los participantes**

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

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

### **Selección de participantes**

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

### **Balance riesgo beneficio**

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

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

### **Confidencialidad**

La información recabada estuvo resguardada por Dr. Rogelio Trejo. En ningún momento se divulgó el nombre de los pacientes. Todos los datos fueron anónimos. Sólo el equipo de investigación tuvo acceso a la información clínica y de patología, así como a los resultados del estudio. Las hojas de recolección de datos fueron identificadas con un folio numérico

consecutivo que corresponderá con los datos que puedan identificar al sujeto de estudio y solo el equipo de investigación tuvo acceso a los mismos. Toda la información fue tratada con la confidencialidad necesaria de acuerdo a los principios de bioética vigentes consignados en la Ley General de Salud y la Declaración de Helsinki.

### **Consideraciones de bioseguridad**

Debido a que para el diagnóstico histológico se pedirá la participación del departamento de patología, expertos en el diagnóstico de éstas neoplasias, fueron los encargados de realizar la confirmación histológica del cáncer pulmonar dentro de la misma institución y que por lo tanto las laminillas y bloques de parafina no salieron del Hospital de Oncología, se realizó una Carta de no implicaciones de bioseguridad.

## **RECURSOS, FINANCIAMIENTO Y FACTIBILIDAD**

### **Recursos humanos:**

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

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

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

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

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

El Dr. Oscar Arrieta tiene un doctorado en ciencias médicas. Realizó la recolección de datos,

de pacientes con Cáncer de Pulmón en el Instituto Nacional de Cancerología. Tiene amplia experiencia en estudios prospectivos y retrospectivos.

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

Dra. Amairany Guadalupe Vélez Martínez es Médico Pasante de Servicio Social de segundo semestre en Oncología Médica y se encargó de la recolección de información. Tiene experiencia en el manejo clínico de pacientes con cáncer pulmonar.

### **Recursos físicos**

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

Los análisis mutacionales se llevaron a cabo desde enero de 2022 en nuestra unidad en el Hospital de Oncología, Centro Médico Nacional Siglo XXI. De forma independiente, las dos instituciones participantes determinaron las mutaciones en EGFR y ALK. Éste proceso no tuvo costo alguno. Para el financiamiento de los insumos para la realización de pruebas se solicitó financiamiento a través de las convocatorias del Instituto Mexicano del Segurosocial. Fue necesario equipo de cómputo para el registro de datos y análisis de los mismo. Para el análisis se utilizó el software SPSS versión 21.0

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

1. Consultorios
2. Área de toma de muestras y laboratorio clínico. Área de diagnóstico anatomopatológico.
3. Área de diagnóstico imagenológico. Incluye
4. Equipo para tomografía axial computarizada
5. Equipo para resonancia magnética
6. Equipos para ultrasonografía
7. Equipo para diagnóstico por medicina nuclear
8. 5 equipos para el diagnóstico por rayos X
9. Área para la realización de broncoscopía.
10. Área para la preparación, administración y vigilancia de reacciones adversas de

quimioterapia

11. Área de radioterapia y radiocirugía.
12. 5 aceleración lineales
13. 1 Cyberknife

### **Recursos económicos**

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

### **Factibilidad**

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

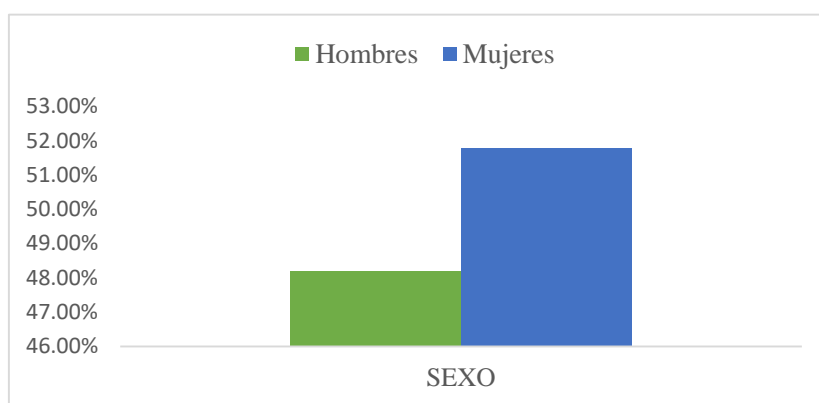
Los recursos humanos y materiales hacen factible el estudio. El Hospital de Oncología en Centro Médico Nacional Siglo XXI es un centro de referencia para pacientes con cáncer pulmonar. En el Hospital de Oncología del CMNSXXI, los casos de tumores torácicos representan el 15-20 % de todas las causas de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

## CAPÍTULO IV

### Resultados

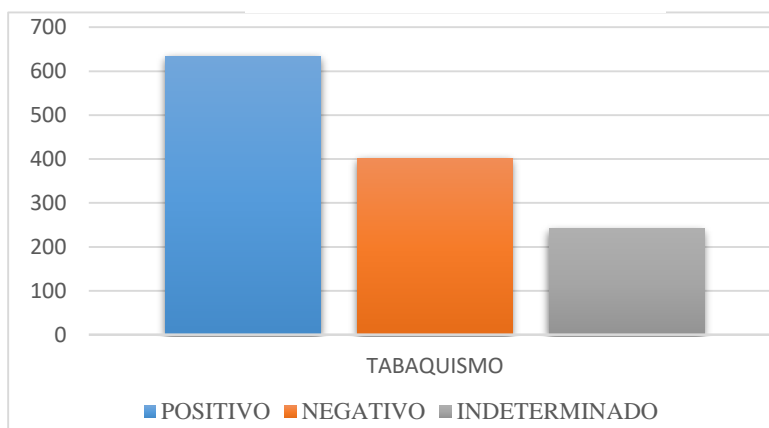
Se recolectó información de los expedientes físicos y electrónicos de los pacientes diagnosticados con cáncer de pulmón en el periodo comprendido de enero del 2017 a enero del 2021 con un total de 1277 con una mediana de 62 años (rango 18 a 97 años) al momento del diagnóstico. Un total de 615 casos correspondieron a hombres (48.2%), y 662 pacientes fueron mujeres (51.8%). (Grafica 5)

**Gráfica 5.** Distribución de sexo

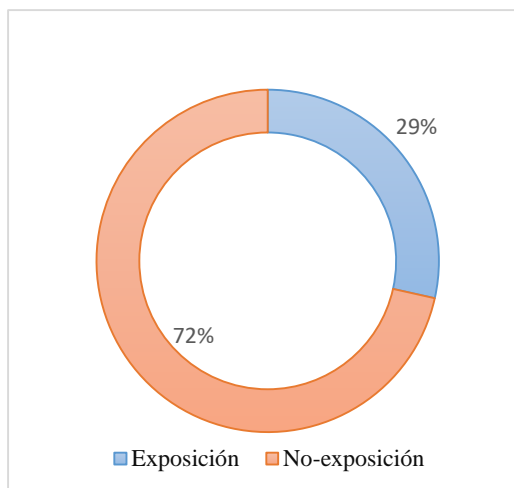


El antecedente de tabaquismo estuvo presente en 634 (49.6%) pacientes, la información sobre el antecedente de exposición a humo de leña logró recabarse en 1061 pacientes (83.1%). De éstos, 302 (28.5%) tenían historia de exposición a humo de leña con un rango de exposición a humo de leña de 1 hora/año a 700 horas/año, con una mediana de 70 horas/año. (Gráfica 6-7)

**Grafica 6.** Tabaquismo



**Gráfica 7.** Exposición humo de leña



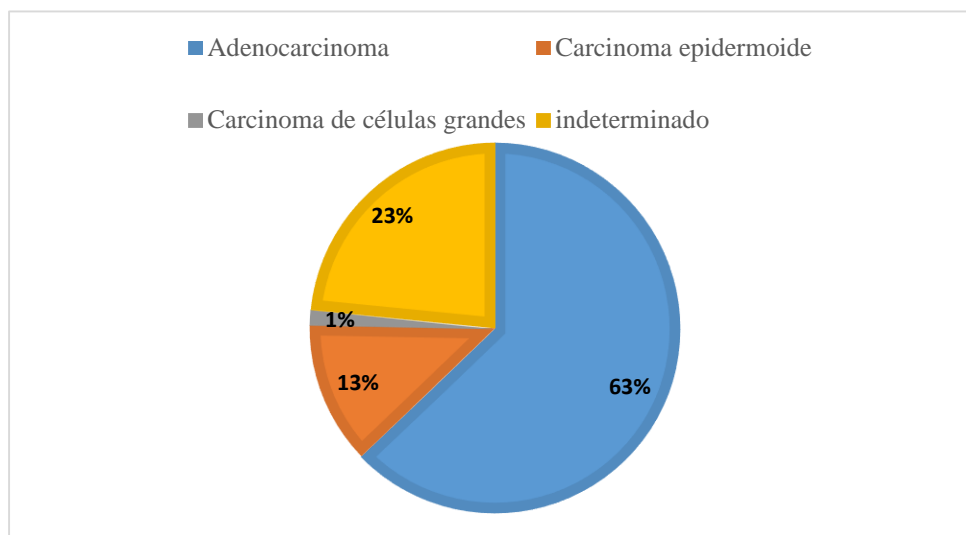
En cuanto al estado funcional de los pacientes evaluado por ECOG (*Eastern Cooperative Oncology Group*), 848 pacientes (66.4%) tuvieron ECOG 0-1 y (33.6%) ECOG 2-4 en 429 pacientes. Con relación a la etapa clínica se obtuvo información de 800 pacientes, correspondiente a etapa I en 2 pacientes (0.3%), etapa II en 5 de ellos (0.6%), etapa III en 134 (16.8%) y etapa IV en 659 (82.4%) (Tabla 5).

**Tabla 5.** Características clínicas de los pacientes.

	ECOG		ETAPA CLÍNICA			
	0-1	2-4	I	II	III	IV
PUNTAJE	0-1	2-4	I	II	III	IV
N=	848	429	2	5	134	659
TOTAL	1277		800			

De acuerdo con la histología 882 casos (64.1%) correspondieron a adenocarcinoma, 163 casos (12.7%) a carcinoma epidermoide, 16 casos (1.3%) carcinoma de células grandes, en el 23.9% (316 casos) no fue posible obtener la histología precisa (Gráfica 8).

**Grafica 8.** Distribución histológica



Se realizó la determinación de la mutación en el gen EGFR en 1085 pacientes (85%), siendo positivo en 185 casos (17.1%).

En el análisis por factor de riesgo el 35.7% de los pacientes con mutación en el gen EGFR positivo tuvieron antecedente de tabaquismo, mientras que el 53.1% de los pacientes con mutación EGFR negativo tenían este antecedente, con significancia estadística de  $p$  de  $<0.001$  y OR 0.49 (IC 95% 0.35-0.68). El 43.7% de los pacientes con mutación EGFR positivos tenían antecedente de exposición a humo de leña mientras que el 28.6% de los pacientes con mutación en el gen EGFR negativo tenían exposición a humo de leña, con significancia estadística con  $p$  de 0.002 y un OR de 1.94 (IC 1.27-2.95). Se realizó un análisis multivariado con regresión logística binaria para evaluar la independencia de los factores de riesgo humo de leña, sexo y tabaquismo relacionadas a la mutación de EGFR, confirmando la independencia de las variables con un OR 0.54 para ausencia tabaquismo, OR 0.59 para sexo masculino y OR 1.68 para exposición a humo de leña.

En el caso de la mutación en el gen ALK fue determinada en 193 casos (15.1%) siendo positivo en 17 casos (8.8%) y negativo en 176 pacientes (91.2%). Con respecto a la mutación en el gen KRAS se realizó en 85 casos (6.7%), resultando positivo en 14 casos (16.5%) y negativo en 71 casos (83.5%). Así mismo, se realizó determinación de la expresión de PDL-1 en 193 casos (15.1%), siendo positiva en 47 casos (24.3%), con un rango de positividad

entre 1% a 95%, siendo una expresión mayor o igual a 50% (TPS >50%) en 13 casos (27.7%) y menor del 50% (TPS <50%) en 34 casos (72.3%). (Tabla 6)

**Tabla 6. Distribución de Mutaciones**

GEN	VALOR	n (1277)	%
EGFR	Determinado	1085	85%
	Positivo	185	17.1%
	Negativo	900	82.9%
ALK	Determinado	193	15.1%
	Positivo	17	8.8%
	Negativo	176	91.2%
KRAS	Determinado	85	6.7%
	Positivo	14	16.5%
	Negativo	71	83.5%
PDL-1	Determinado	193	15.1%
	Positivo	47	24.3%
	Negativo	146	75.7%
	Expresión alta	13	27.7%
	Baja expresión	34	72.3%

## Discusión

El cáncer de pulmón persiste como una patología con alta incidencia, ocupando el séptimo lugar en nuestro país, así como alta mortalidad, siendo la cuarta causa de muerte por cáncer en México, de forma que el entendimiento del comportamiento en nuestro país es fundamental.

En la actualidad, la determinación de mutaciones driver es base fundamental para el diagnóstico y tratamiento, además de contar con un valor imprescindible para el pronóstico

de los pacientes con Adenocarcinoma de pulmón, con una categoría de nivel I en las guías internacionales, por lo que conocer el estado de la determinación de las mismas, se vuelve primordial con el fin de buscar el mejor tratamiento disponible.

Este estudio muestra resultados similares a lo reportado en la literatura con respecto a la determinación del perfil mutacional, con positividad de mutación en EGFR inferior a la publicada previamente en la población latinoamericana. El estudio ha mostrado información importante sobre la presencia del antecedente de tabaquismo y la exposición a humo de leña, ya que ambos factores de riesgo se encontraron asociados corroborando la menor frecuencia de antecedente de tabaquismo en pacientes con mutación positiva en el gen EGFR y la relación positiva entre exposición a humo de leña y la mutación en el gen EGFR. Adicionalmente, se realizaron determinaciones adicionales de biomarcadores moleculares, encontrando positividad de ALK, KRAS y expresión de PDL-1 positiva con resultados similares a lo que se reporta en la literatura mundial; sin embargo, estos últimos resultados deben tomarse con reserva ya que fueron realizados en menor proporción de pacientes.

## **Conclusiones**

Este estudio nos permite tener un panorama general de testeo del panel molecular básico de paciente con cáncer de pulmón, nos permite conocer la distribución de las mutaciones con mayor prevalencia y sobre las que se cuenta con tratamientos en la actualidad con una repercusión clínica relevante. Encontramos una menor proporción de mutación del gen EGFR con respecto a la literatura mundial, expresión similar de otras mutaciones y se logró demostrar relación del estatus de mutación con EGFR y el antecedente de tabaquismo y exposición a humo de leña.

Entre las limitaciones de nuestro estudio se encuentran la imposibilidad de contar con información completa en algunos casos en el expediente físico o electrónico.

La caracterización molecular de los pacientes con NSCLC permite mejorar los resultados oncológicos en términos de tasas de respuesta, calidad de vida, supervivencia y mortalidad por cáncer. Tanto la terapia blanco dirigida contra las mutaciones, como el tratamiento con inmunoterapia han revolucionado la práctica clínica actual, con un aumento drástico en la realización de las pruebas para determinar estas mutaciones y en el tratamiento, dejando a la

quimioterapia como opción de tratamiento en aproximadamente un 20% de los pacientes.

Es imperativo el conocimiento de la epidemiología molecular en pacientes con NSCLC de forma que puedan implementarse medidas enfocadas en la detección y diagnóstico.

## CAPÍTULO V

### ANEXOS

#### Anexo 1. Hoja de recolección de datos.

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

Codigo \_\_\_\_\_

Registro: \_\_\_\_\_

Gnenero: \_\_\_\_\_

1. Fecha de diagnóstico histológico: \_\_\_\_\_
2. Historia de tabaquismo: si \_\_\_\_\_ No \_\_\_\_\_
3. Índice Tabáquico: \_\_\_\_\_
4. Exposición humo de leña: Si \_\_\_\_\_ No \_\_\_\_\_
5. Índice horas/año: \_\_\_\_\_
6. Etilismo: Si \_\_\_\_\_ No \_\_\_\_\_
7. ECOG: 0 \_\_\_ 1 \_\_\_ 2 \_\_\_ 3 \_\_\_ 4 \_\_\_ 5
8. Etapa clínica: 1 \_\_\_ 2 \_\_\_ 3 \_\_\_ 4
9. Estirpe histológica: \_\_\_\_\_
10. Sitio de metástasis: \_\_\_\_\_  
a.M1a \_\_\_\_\_ M1b \_\_\_\_\_ M1c \_\_\_\_\_
11. Mutación de EGFR: Sí \_\_\_\_\_ No \_\_\_\_\_ No disponible \_\_\_\_\_
12. Rearreglo de ALK: Sí \_\_\_\_\_ No \_\_\_\_\_ No disponible \_\_\_\_\_
13. Mutación PDL-1: Sí \_\_\_\_\_ No \_\_\_\_\_ No disponible \_\_\_\_\_
14. Mutación KRAS: Sí \_\_\_\_\_ No \_\_\_\_\_ No disponible \_\_\_\_\_
15. Fecha de inicio de tratamiento: \_\_\_\_\_
15. Modalidad de tratamiento sistémico:
  - a. Quimioterapia.
  - b. Terapia blanco.
  - c. Inmunoterapia.
  - d. Otro
16. Muerte: si \_\_\_\_\_ No \_\_\_\_\_
17. Fecha de muerte: \_\_\_\_\_

## Anexo 2. Carta de no consentimiento informado

Ciudad de México a 24 de octubre del 2020

### Coordinación de Investigación en Salud

Por medio de la presente nos dirigimos a ustedes para informar que el protocolo titulado "Caracterización molecular y resultados del tratamiento de paciente con diagnóstico de Adenocarcinoma pulmonar etapa IV en dos Hospitales de referencia en México: Estudio de cohorte retrospectiva", mismo que ha sido enviado a revisión por el Comité Nacional de Investigación Científica, es un estudio de características retrospectivas, sin intervención alguna o efectos secundarios en los pacientes tratados con esta patología. Los investigadores se comprometen a resguardar los datos obtenidos de los sujetos de investigación (datos demográficos, variables antropométricas, características clínicas y resultados de Estudios de Gabinete) y que todos serán anónimos; para ello las hojas de recolección de datos serán identificadas con un folio numérico consecutivo que corresponderá con los datos que puedan identificar al sujeto de estudio y solo el investigador principal, el Dr. Raúl Rogelio Trejo Rosales tendrán acceso a los mismos. Debido a ello, es la consideración del equipo de investigación que represento que el presente estudio no requiere consentimiento informado, por lo que me permito solicitar sea exentado de este requisito.

Le envío saludos cordiales

Atentamente



---

Dr. Raúl Rogelio Trejo Rosales  
Médico Adscrito de Oncología Medica

### Anexo 3. Carta para protocolos sin implicaciones de bioseguridad.



INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL

Dirección de Prestaciones Médicas  
Unidad de Educación, Investigación y Políticas de Salud  
Coordinación de Investigación en Salud

#### “Carta para protocolos sin implicaciones de bioseguridad”

Nombre del Investigador Responsable (investigador principal): Raúl Rogelio Trejo Rosales.

Declaro al Comité de Bioseguridad para la Investigación en Salud, que el protocolo de investigación con título: **“Caracterización molecular y resultados del tratamiento de paciente con diagnóstico de Adenocarcinoma pulmonar etapa IV en dos Hospitales de referencia en México: Estudio de cohorte retrospectiva.”**, del cual soy responsable, NO TIENE IMPLICACIONES DE BIOSEGURIDAD, ya que no se utilizará material biológico infecto-contagioso; cepas patógenas de bacterias o parásitos; virus de cualquier tipo; material radiactivo de cualquier tipo; animales y/o células y/o vegetales genéticamente modificados; sustancias tóxicas, peligrosas o explosivas; cualquier otro material que ponga en riesgo la salud o la integridad física del personal de salud, o las y los derechohabientes del Instituto Mexicano del Seguro Social, o afecte al medio ambiente.

Asimismo, declaro que en este protocolo de investigación, no se llevarán a cabo procedimientos de trasplante de células, tejidos u órganos, o de terapia celular, ni se utilizarán animales de laboratorio, de granja o de vida silvestre.

**Raúl Rogelio Trejo Rosales**

Nombre y firma de la  
Investigadora o Investigador Responsable

## Anexo 4. Carta de no inconveniente por el director del Hospital.



GOBIERNO DE  
**MÉXICO**



Instituto Mexicano del Seguro Social  
Unidad Médica de Alta Especialidad  
Hospital de Oncología CMN SXXI  
Dirección de Educación e Investigación  
División de Educación en Salud

Ciudad de México a 24 de Agosto de 2020

Dra. Susana Navarrete Navarro  
Secretaria del Comité de Ética en Investigación.  
Instituto Mexicano del Seguro Social

**Asunto:** Aceptación de propuesta de protocolo para ser enviado a evaluación por el Comité Nacional de Investigación en Salud.

Por medio de la presente hago del conocimiento de usted(es) que después de haber revisado el proyecto de protocolo de investigación titulado: Caracterización molecular y resultados del tratamiento de pacientes con diagnóstico de Adenocarcinoma pulmonar etapa IV en dos Hospitales de Referencia en México: Estudio de cohorte retrospectiva.

El protocolo será realizado bajo la dirección de los doctores. Dr. Raúl Rogelio Trejo Rosales (Investigador Principal), en la Unidad Médica de Alta Especialidad, Hospital de Oncología del Centro Médico Nacional Siglo XXI Siendo los investigadores asociados: Dra. María Guadalupe Jazmín de Anda, Dr. Odilón Felix Quijano Castro, Dr. Samuel Rivera Rivera, Dra. Selene Maritza Peña Campos. Protocolo que se llevara a cabo en el caso de que sea aprobado por el Comité Nacional de Ética en Investigación (CEI) y Comité Nacional de Investigación (CI) del IMSS.

A su vez, hago mención que esta institución cuenta con la infraestructura necesaria, así como con los recursos humanos capacitados para atender cualquier evento adverso que se presenten durante la realización del estudio citado.

Vo Bo Dr. Odilón Felix Quijano Castro  
Director de Educación e Investigación en Salud.

**ATENTAMENTE**  
"Seguridad y Solidaridad Social"

Dr. José Arturo Gayosso Rivera.  
Dirección General UMAE Hospital de Oncología CMN Siglo XXI

## Anexo 5. Clasificación TNM.

	Tumor primario (T)
TX	No se puede evaluar el tumor primario o se demuestra el tumor por la identificación de células malignas en el esputo o en el lavado bronquial pero no se visualiza en las imágenes o la broncoscopia.
T0	No hay ningún indicio de tumor primario
Tis	Carcinoma in situ
T1	Tumor <3 cm en su dimensión máxima, rodeado por pleura pulmonar o visceral, sin indicios broncoscopios de invasión más proximal que el bronquio lobular (no en el bronquio primario).
T1a	Tumor <2 cm en su dimensión máxima
T1b	Tumor >2 cm pero <3 cm en la dimensión máxima
T2	Tumor >3 cm pero <7 cm o tumor con cualquiera de lo siguiente: <ul style="list-style-type: none"> <li>● Invasión de la pleura visceral</li> <li>● Afección del bronquio principal &gt;2 cm distal a la carina</li> <li>● Se relaciona con atelectasia o neumonitis obstructiva que se extiende a la región hilar pero que no afecta a todo el pulmón</li> </ul>
T2a	Tumor de >3 cm pero <5 cm en la dimensión máxima
T2b	Tumor >5 cm pero <7 cm en la dimensión máxima
T3	Tumor >7 cm o uno que invade cualquiera de los siguientes: <ul style="list-style-type: none"> <li>● Pared torácica (incluidos tumores del surco superior), diafragma, nervio frénico, pleura mediastínica o pericardio parietal, pleura parietal.</li> <li>● Tumor en el bronquio primario &lt;2 cm distal a la carina pero sin afección de la carina</li> <li>● Atelectasia o neumonitis obstructiva de todo el pulmón o nódulo(s) tumoral(es) separado(s) en un nódulo ipsilateral.</li> </ul>
T4	Tumor de cualquier tamaño que invade cualquiera de los siguientes: mediastino, corazón, grandes vasos, tráquea, nervio laríngeo recurrente, esófago, cuerpo vertebral o carina: o nódulo(s) tumoral(es) separado(s) en un lóbulo ipsilateral.

	Ganglios linfáticos regionales (N)
NX	No se pueden evaluar los ganglio linfáticos regionales
N0	No hay metástasis a ganglio regionales
N1	Metástasis en ganglio linfáticos peribronquiales o hiliares ipsilaterales y ganglios intrapulmonares, incluida la afectación por extensión directa
N2	Metástasis en los ganglios linfáticos mediastínicos o subcarínicos ipsilaterales
N3	Metástasis en los ganglios linfáticos mediastínicos contralaterales, hiliares contralaterales, escalenos, ipsilaterales o contralaterales o supraclaviculares

	Metástasis a distancia (M)
M0	No hay metástasis a distancia
M1	Metástasis a distancia
M1a	Ganglio(s) tumoral(es) separados en un lóbulo contralateral; tumor con nódulos pleurales o derrame pleural maligno (o pericárdico)
M1b	Múltiples metástasis extratorácicas en uno o más órganos

## Bibliografía

1. Sano H. International Comparisons of Cumulative Risk of Lung Cancer, from Cancer Incidence in Five Continents Vol. VIII. *Jpn J Clin Oncol.* 2006;36(5):334-335.
2. Siegel R, Ma J, Zou Z, Jemal A. Cancer statistics, 2014. *CA Cancer J Clin.* 2014;64(1):9-29.
3. Mathers CD, Fat DM, Inoue M, Rao C, Lopez AD. Counting the dead and what they died from: An assessment of the global status of cause of death data. *Bull World Health Organ.* 2005;83(3):171-177.
4. Alberg AJ, Samet JM. Epidemiology of lung cancer. *Chest.* 2003;123(1 Suppl):21S- 49S.
5. Couraud S, Zalcman G, Milleron B, Morin F, Souquet PJ. Lung cancer in never smokers - A review. *Eur J Cancer.* 2012;48(9):1299-1311.<http://ser.cancer.gov/faststats>
6. Hecht SS. Lung carcinogenesis by tobacco smoke. *Int J Cancer.* 2012; 131:2724-32Hecht SS, Szabo E. Fifty years of tobacco carcinogenesis research: from Mechanismsto early detection and prevention of lung cancer. *Cancer Prev Res.* 2014; 7(1):1-8.
7. Rodgman A, Perfetti T. The chemical components of tobacco and tobacco smoke. CRC Press, 2009. 1483-1784
8. Arrieta O, Cardona AF, Federico Bramuglia G, et al. Genotyping Non-small Cell Lung Cancer (NSCLC) in Latin America. *J Thorac Oncol.* 2011;6(11):1955-1959.Stevens GA, Dias RH, Ezzati M. The effects of 3 environmental risks on mortalitydisparities across Mexican communities. *Proc Natl Acad Sci.* 2008 4; 105 (44): 16860- 16865.[www.who.int/airpollution/ambient/health-impacts](http://www.who.int/airpollution/ambient/health-impacts)
9. Raaschou-Nielsen O, Andersen ZJ, Beelen R, et al. Air pollution and lung cancer incidence in 17 European cohorts: Prospective analyses from the European Study of Cohortsfor Air Pollution Effects (ESCAPE). *Lancet Oncol.* 2013;14(9):813-822.
10. Residential radón and lung cáncer in never smokers. A systematic review. *Cancer Letter.* 2014 1; 345 (1): 21-6
11. Travis WT, Brambilla E, Nicholson AG, et al. The 2015 World Health Organization Classification of Lung Tumors. *J Thorac Oncol.* 2015;10:1243-1260
12. Ohtsuka K, Ohnishi H, Furuyashiki G, et al. Clinic-pathological and biological significance of tyrosine kinase domain gene mutations and overexpression of epidermal growth factor receptor for lung adenocarcinoma. *J Thorac Oncol.* 2006; 1(8):787-795.
13. Liu Y, ML Xu, Zhong HH, et al. EGFR mutations are more frequent in well- differentiated than in poor-differentiated lung adenocarcinomas. *Pathol Oncol Res.* 2008;14(4): 373-379.

14. Mok TS, Wu YL, Thongprasert S, et al. Gefitinib or carboplatin-paclitaxel in pulmonary adenocarcinoma. *N Engl J Med*. 2009; 361(10):947–957.
15. Higematsu H, Lin L, Takahashi T, et al. Clinical and biological features associated with epidermal growth factor receptor gene mutations in lung cancers. *J Natl Cancer Inst*. 2005; 97(5):339–346.
16. Rosell R, Moran T, Queralt C, et al. Screening for epidermal growth factor receptor mutations in lung cancer. *N Engl J Med*. 2009; 361(10):958–967.
17. Lynch TJ, Bell DW, Sordella R, et al. Activating Mutations in the Epidermal Growth Factor Receptor Underlying Responsiveness of Non–Small-Cell Lung Cancer to Gefitinib. *N Engl J Med*. 2004;350(21):2129–2139.
18. Jänne PA, Yang JC-H, Kim D-W, et al. AZD9291 in EGFR Inhibitor–Resistant Non– Small-Cell Lung Cancer. *N Engl J Med*. 2015;372(18):1689–1699.
19. Pirker R, Herth FJ, Kerr KM, Filipits M, Taron M, Gandara D, et al. Consensus for EGFR Mutation Testing in Non-small Cell Lung Cancer. Results from a European Workshop. *J Thorac Oncol*. 2010;5:1706—13.
20. Eberhard DA, Giaccone G, Johnson BE, Non-Small-Cell Lung Cancer Working Group. Biomarkers of response to epidermal growth factor receptor inhibitors in Non-Small-Cell Lung Cancer Working Group: standardization for use in the clinical trial setting. *J Clin Oncol*. 2008;26:983—94.
21. Lee HJ, Xu X, Choe G, Chung DH, Seo JW, Lee JH, et al. Protein overexpression and gene amplification of epidermal growth factor receptor in non-small cell lung carcinomas: Comparison of four commercially available antibodies by immunohistochemistry and fluorescence in situ hybridization study. *Lung Cancer*. 2010;68:375—82.
22. Mathieu A, Weynand B, Verbeken E, Da Silva S, Decaestecker C, Salmon I, et al. Comparison of four antibodies for immunohistochemical evaluation of epidermal growth factor receptor expression in non-small cell lung cancer. *Lung Cancer*. 2010;69:46—50.
23. Brevet M, Arcila M, Ladanyi M. Assessment of EGFR mutation status in lung adenocarcinoma by immunohistochemistry using antibodies specific to the two major forms of mutant EGFR. *J Mol Diagn*. 2010;12:169—76.
24. Kawahara A, Yamamoto C, Nakashima K, Azuma K, Hattori S, Kashihara M, et al. Molecular diagnosis of activating EGFR mutations in non-small cell lung cancer using mutation-specific antibodies for immunohistochemical analysis. *Clin Cancer Res*. 2010;16:3163—70.
25. Daniele L, Cassoni P, Bacillo E, Cappia S, Righi L, Volante M, et al. Epidermal growth factor

- receptor gene in primary tumor and metastatic sites from non-small cell lung cancer. *J Thorac Oncol.* 2009;4:684—8.
26. Savic S, Tapia C, Grilli B, Ruffle A, Bihl MP, de Vito Barascud A, et al. Comprehensive epidermal growth factor receptor gene analysis from cytological specimens of non-small-cell lung cancers. *Br J Cancer.* 2008;98:154—60.
  27. Gomez-Roca C, Raynaud CM, Penault-Llorca F, Mercier O, Commo F, Morat L, et al. Differential expression of biomarkers in primary non-small cell lung cancer and metastatic sites. *J Thorac Oncol.* 2009;4:1212—20.
  28. Nishimura H, Nakajima T, Itakura M, Shingyoji M, Iizasa T, Kimura H. Successful treatment of lung cancer with gefitinib and EGFR mutation status determination using EBUS-TBNA samples in an extremely old patient. *Intern Med.* 2009;48:1905—7.
  29. Solomon SB, Zakowski MF, Pao W, Thornton RH, Ladanyi M, Kris MG, et al. Core needle lung biopsy specimens: adequacy for EGFR and KRAS mutational analysis. *AJR Am JRoentgenol.* 2010;194:266—9.
  30. Nicholson AG, Gonzalez D, Shah P, Pynegar MJ, Deshmukh M, Rice A, et al. Refining the diagnosis and EGFR status of non-small cell lung carcinoma in biopsy and cytologic material, using a panel of mucin staining, TTF-1, cytokeratin 5/6, and P63, and EGFR mutation analysis. *J Thorac Oncol.* 2010;5:436—41.
  31. Solomon BJ, Mok T, Kim D-W, et al. First-Line Crizotinib versus Chemotherapy in ALK-Positive Lung Cancer. *N Engl J Med.* 2014;371(23):2167-2177.
  32. Salido M, Pijuan L, Martinez-Aviles L, et al. Increased ALK gene copy number and amplification are frequent in non-small cell lung cancer. *J Thorac Oncol.* 2011;6(1):21-27.
  33. Sasaki T, Rodig SJ, Chirieac LR, et al. The biology and treatment of EML4-ALK non-small cell lung cancer. *Eur J Cancer.* 2010;46:1773-1780.
  34. Takeuchi K, Choi YL, Soda M, et al. Multiplex reverse transcription-PCR screening for EML4-ALK fusion transcripts. *Clin Cancer Res.* 2008;14(20):6618-6624.
  35. Lindeman N, Cagle PT, Beasley MB, et al. Molecular testing guideline for selection of lung cancer patients for EgFR and ALK tyrosine kinase inhibitors: guideline from the College of American Pathologists, International Association for the Study of Lung Cancer, and Association for Molecular Pathology. *J Thorac Oncol.* 2013;8(7):823-859.
  36. Yi E, Boland JM, Maleszewski JJ, et al. Correlation of IHC and FISH for ALK gene rearrangement in non-small cell lung carcinoma: IHC score algorithm for FISH. *J Thorac Oncol* 2011;6:459-465.
  37. Takeuchi K, Choi YL, Togashi Y, et al. KIF5B-ALK, a novel fusion oncokinase identified by

- an immunohistochemistry-based diagnostic system for ALK-positive lung cancer. *Clin Cancer Res.* 2009;15(9):3143-3149.
38. Y, Nakajima T, Yasufuku K, et al. EML4-ALK fusion gene assessment using metastatic lymph node samples obtained by endobronchial ultrasound-guided transbronchial needle aspiration. *Clin Cancer Res.* 2010;16(20):4938-4945.
  39. Shaw AT, Solomon B. Targeting anaplastic lymphoma kinase in lung cancer. *Clin Cancer Res.* 2011;17(8):2081-2086.
  40. Soda M, Choi YL, Enomoto M, et al. Identification of the transforming EML4-ALK fusion gene in non-small-cell lung cancer. *Nature.* 2007;448(7153):561-566.
  41. Mellman I, Coukos G, Dranoff G. Cancer immunotherapy comes of age. *Nature.* 2011;480(7378):480-489.
  42. Ellis PM, Coakley N, Feld R, et al. Use of the epidermal growth factor receptor inhibitors gefitinib, erlotinib, afatinib, dacomitinib, and icotinib in the treatment of non-small-cell-lung cancer: a systematic review. *Curr Oncol.* 2015; 22 (3): e183-e215
  43. Inamura K, Takeuchi K, Togashi Y, et al. EML4-ALK lung cancers are characterized by rare other mutations, a TTF-1 cell lineage, an acinar histology, and young onset. *Mod Pathol.* 2009; 22(4): 508–515
  44. Shaw AT, Yeap BY, Solomon BJ, et al. Effect of crizotinib on overall survival in patients with advanced non-small-cell lung cancer harbouring ALK gene rearrangement: a retrospective analysis. *Lancet Oncol.* 2011; 12(11):1004–1