

GENÓMICA DEL CÁNCER DE PULMÓN

por MACARENA ARROYO VARELA¹ ROCÍO BAUTISTA MORENO² M. GONZALO CLAROS DÍAZ³JOSÉ LUIS DE LA CRUZ RÍOS¹¹SERVICIO DE NEUMOLOGÍA. HOSPITAL REGIONAL UNIVERSITARIO DE MÁLAGA²PLATAFORMA ANDALUZA DE BIOINFORMÁTICA. UNIVERSIDAD DE MÁLAGA³DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA MOLECULAR Y BIOQUÍMICA. UNIVERSIDAD DE MÁLAGA

MACARROYO@GMAIL.COM

De forma simplificada, un cáncer consiste en una proliferación incontrolada de células debido a que se mantienen las señales proliferativas y se eluden las anti-proliferativas, como la muerte celular y la respuesta inmunitaria. Éstas células también tienen capacidad angiogénica y metastásica, y son las que confieren al cáncer su malignidad característica. Cuando el crecimiento incontrolado se produce en algún tipo de célula del aparato respiratorio, tenemos un cáncer de pulmón, que se considera un tumor maligno que invade las estructuras vecinas y forma metástasis en otros tejidos al diseminarse por la sangre o la linfa. A su vez, el pulmón es destino de metástasis de otros cánceres ajenos al aparato respiratorio. La mayoría de los cánceres de pulmón se originan en las células epiteliales, aunque no se tiene una certeza absoluta de que la transformación maligna ocurra en cualquier célula pulmonar o solamente en un subconjunto de ellas, como las células madre epiteliales o sus progenitores inmediatos. Además, mientras que las células que inician el tumor tienen solamente un grupo de mutaciones, las células que expanden el tumor suelen adquirir nuevas mutaciones.

Según datos del año 2014 de la Sociedad Española de Oncología Médica (SEOM), el cáncer más mortal en España es el de pulmón (20,6%), seguido del colorrectal (14,3%) y del de mama (5,9%). A nivel mundial, el cáncer de pulmón es el que presenta mayor incidencia (13%) y mayor mortalidad (19,4%). A pesar de los avances en el tratamiento quimioterápico, el cáncer de pulmón continúa siendo la causa más frecuente de muerte en todo el mundo con una tasa de supervivencia a los 5 años de aproximadamente el 16%.

Clasificación histopatológica para la práctica clínica

Los cánceres de pulmón se clasifican principalmente por su aspecto anatomopatológico, pero hoy en día también se incluye el estudio molecular de las mutaciones en EGFR y las translocaciones EML4-ALK por su capacidad predictiva de respuesta al

tratamiento^[1,2]. Los dos principales tipos de cáncer de pulmón se distinguen por el tamaño de las células:

Microcíticos (15-20% de casos), llamado así porque las células son muy pequeñas. Tiende a diseminarse con rapidez, por lo que rara vez se diagnostican cuando está localizado. Al principio suelen responder al tratamiento con quimioterapia, pero con frecuencia presentan una recaída posterior con una supervivencia aproximada del 15% a los 2 años.

No microcíticos (80-85% de casos), que a su vez se subdivide en adenocarcinoma (que comprende el 40-50% de los cánceres de pulmón en general), carcinoma escamoso o epidermoide (25%), y el de células grandes (10%). La International Association for the Study of Lung Cancer (IASLC), la American Thoracic Society (ATS) y la European Respiratory Society (ERS) acaban de hacer una nueva clasificación que diferencia entre adenocarcinomas invasores, adenocarcinoma in situ y adenocarcinoma mínimamente invasor por el aspecto radiológico, las diferencias moleculares, el pronóstico y las alternativas al tratamiento^[1]. Se ha abandonado el término de carcinoma bronquioloalveolar porque se prestaba a confusión y no se correspondía con la diferenciación entre lesiones preinvasoras, mínimamente invasoras o invasoras.

Por su localización, los carcinomas microcíticos y escamosos (no microcítico) suelen aparecer como tumores centrales, mientras que los adenocarcinomas y los carcinomas de células grandes se suelen localizar en la periferia.

Relación con el tabaquismo

El factor de riesgo más importante para la aparición del cáncer de pulmón es el tabaco, al ser responsable de aproximadamente el 85% de los casos por culpa de los carcinógenos presentes en el humo. Tan solo entre el 15% y el 25% de casos aparecen en las personas que nunca han fumado (o han fumado menos de 100 cigarrillos en toda su vida). Los fumadores tienen un riesgo 10 veces superior para desarrollarlo que los no fumadores, riesgo que se ve incrementado en función de la cantidad de tabaco

consumido, la duración del tabaquismo y la edad a la que empezó, mientras que dejar de fumar disminuye de forma drástica este riesgo.

Por otra parte, hay que señalar que el cáncer de pulmón microcítico está casi exclusivamente asociado al tabaquismo; de hecho, un 90 % de los pacientes con esta enfermedad son fumadores o exfumadores. Por el contrario, el cáncer más frecuente en la población no fumadora es el adenocarcinoma, aunque también es muy frecuente entre los fumadores.

Para dilucidar las diferencias genéticas de la susceptibilidad al cáncer de pulmón entre los individuos se han investigado los factores genéticos implicados en el cáncer de pulmón inducido por tabaco. Muchos de los polimorfismos genéticos identificados residen en genes que intervienen en el metabolismo de los carcinógenos del humo de tabaco. Estos carcinógenos se suelen unir covalentemente al ADN y provocar mutaciones cuando la célula no consigue corregir esta modificación química, bien por reparación o por muerte celular. Cuando la mutación activa un protooncogén o la telomerasa, o inactiva un gen supresor de tumores o uno de reparación del ADN, contribuye a la formación tumoral. El benzopireno del humo del tabaco ocasiona muchas mutaciones en el gen supresor de tumores TP53, que aparecen en el 60 % de cánceres de pulmón.

La transformación maligna también conlleva inestabilidad genética, que puede manifestarse a nivel cromosómico (con grandes alteraciones del material genómico, pérdidas y ganancias de alelos, translocaciones o inestabilidad de los microsátélites), a nivel de nucleótido (con cambios en una o varias bases nitrogenadas), o en el transcriptoma (con alteración de la expresión génica).

La importancia del factor humano

Los cánceres de pulmón de los pacientes que nunca fumaron tienen un origen, diagnóstico y mecanismo molecular distintos al provocado por el tabaco. El más frecuente en estos pacientes es el adenocarcinoma. También se ha visto que existe predisposición hereditaria localizada en la región 6q23-25, en concreto en el gen RGS17 [3], así como en otros locus, como 15q24-q25.1 (asociado a un incremento del riesgo en la dependencia a la nicotina), 5p15.33 y 6p21.33. Por último, el virus del papiloma humano, que es un claro carcinógeno en muchos tumores, también parece provocar cáncer de pulmón por medio de las oncoproteínas E6 y E7 del virus, que inactivan los supresores p53 y Rb respectivamente.

Y entonces llegó la ultrasecuenciación

El desarrollo de las nuevas técnicas de ultrasecuenciación de genomas, exomas y transcriptomas aplicadas al cáncer ha permitido conocer muchos más genes cuyas variaciones están correlacionadas con el cáncer. Aunque la mayoría de estos estudios se limitan a la investigación, se estima que su coste y complejidad irá disminuyendo en los próximos años y se acabarán extendiendo como pruebas sistemáticas en la práctica clínica con las que identificar el subtipo de cáncer de pulmón en función de las variaciones génicas, y establecer las opciones terapéuticas personalizadas (ya sean convencionales o dirigidas). Incluso ya hay expectativas para los pacientes con la enfermedad metastásica.

Estos estudios nos permiten conocer que en el cáncer de pulmón hay genes que se activan (MYC, RAS, EGFR, NKX2-1, ERBB2, SOX2, BCL2, FGFR2 y CRKL) o se inactivan (RB1, CDKN2A, STK11 y FHIT). En la Tabla 1 se recogen los 20 genes más frecuentes cuya mutación provoca el desarrollo de los dos tipos principales de cáncer de pulmón.

NO MICROCÍTICO	Frecuencia de mutación (%)	MICROCÍTICO	Frecuencia de mutación (%)
EGFR*	24,78	TP53	62,45
TP53	25,03	RB1	31,92
KRAS*	17,59	PIK3CA*	11,67
ALK*	15,59	EP300	10,25
CDKN2A*	10,72	ZNF521	9,09
ATM	7,81	CREBBP	8,40
CBL	4,39	PTEN*	7,58
UBR5	5,74	RUNX1T1	7,07
PIK3CA*	1,73	KMT2D	6,66
BRAF*	1,21	NTRK3	6,21
NRAS*	1,13	ROS1*	6,19
STK11	1,59	EGFR*	5,93
RET*	1,77	MET*	5,76
PDGFRA	1,77	NFATC2	5,66
SMARCA4	4,76	PDE4DIP	5,40
NTRK3	4,68	LIFR	5,35
MET*	0,82	ABL2	5,30
PTEN*	0,73	MYST3	4,71
ERBB2*	0,45	NUMA1	4,67
HRAS*	0,44	DICER1	4,67

Tabla 1. Los 20 genes que aparecen mutados con más frecuencia en el cáncer de pulmón no microcítico y microcítico según la base de datos COSMIC. En rojo se representan los genes que coinciden entre ambos tipos de tumores. Cuando existe un tratamiento diana autorizado o en investigación, se señala con un *.

No son los genes, son las vías

Los oncogenes suelen provocar la inducción de señales de proliferación celular y una adicción oncogénica (las células se vuelven dependientes de esta señalización oncogénica aberrante para la supervivencia). Además de la proliferación, también se alteran las vías de la apoptosis, y el metabolismo y la diferenciación

celulares. Así, en un mismo cáncer podemos encontrar que los genes alterados pertenecen a diferentes vías metabólicas o de señalización (por cooperación entre distintos circuitos moleculares), aunque a veces las alteraciones génicas son mutuamente excluyentes. Esto último podría deberse a que la alteración de uno de ellos bastaría para mantener una activación constante de la vía de señalización a la que pertenecen. Las alteraciones secundarias de la misma vía se detectan sobre todo cuando aparece la resistencia a los tratamientos.

Una de las vías más relevantes en el cáncer de pulmón es la vía de señalización de EGFR (Figura 1). El EGFR es un receptor transmembranario que se localiza en la superficie celular y tiene actividad tirosina cinasa. Lo codifica un gen con 28 exones, con lo que resulta fácil inactivarlo con una mutación al azar. Es un miembro de la familia ErbB formada por cuatro grandes grupos: EGFR (también llamado ErbB1), HER-2 (ErbB2), HER-3 (ERBB3) y HER-4 (ERBB4). Esta familia de genes aparece implicada en otros tipos de tumores también.

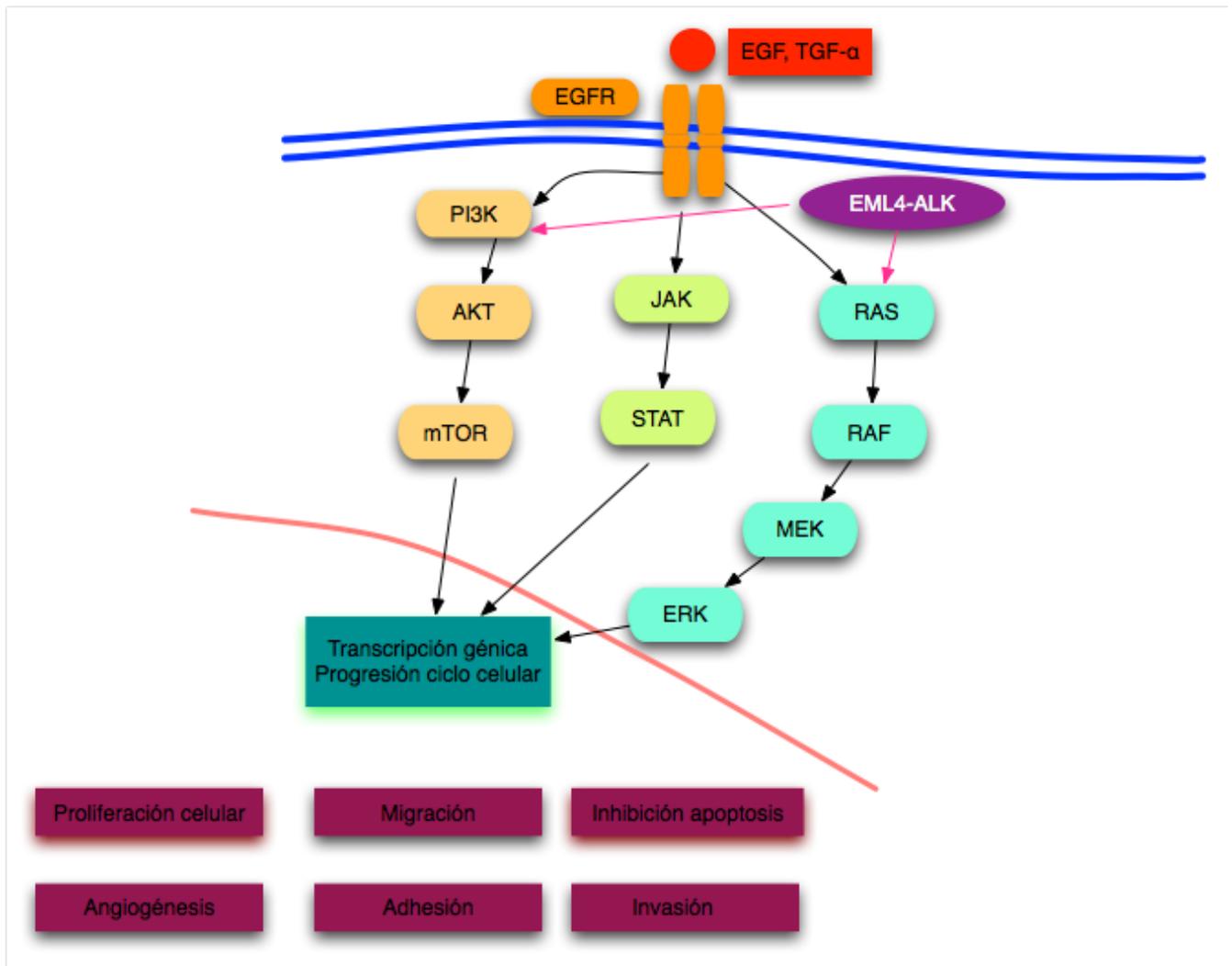


Figura 1. Principales vías de señalización afectadas por la hiperactivación del EGFR. Estas vías coinciden en parte con las que se alteran con la fusión génica EML4-ALK.

El EGFR se activa al interactuar con sus ligandos (el factor de crecimiento epidérmico [EGF] y el factor α de crecimiento transformante [TGF α], entre otros), lo que implica la transición desde una forma monomérica inactiva a una forma homodimérica activa. Otras veces se heterodimeriza con otro miembro de la familia de receptores ErbB. El EGFR activo se autofosforila con su propia actividad intracelular de tirosina cinasa de proteínas. La autofosforilación activa diversas vías de señalización implicadas en

la invasión, adhesión, proliferación, angiogénesis, y resistencia a la apoptosis, entre otras, que en conjunto son responsables del desarrollo de la enfermedad (figura 1). Las mutaciones de EGFR que conllevan la malignización son las que hacen que tenga actividad tirosina cinasa constitutiva. En el caso del cáncer de pulmón, están localizadas entre los exones 19 a 21, que codifican el dominio tirosina cinasa y provocan un aumento de la cantidad y duración de la activación del EGFR. Como resultado, las vías PI3K/AKT

y STAT3/STAT5 están en funcionamiento constante en estas células.

Estos pacientes se tratan con fármacos que inhiben la actividad tirosina cinasa (erlotinib, gefitinib) y su señalización (cetuximab, panitumumab). En los adenocarcinomas de pulmón, la mutación que activa al EGFR induce la interleucina 6 (IL-6), lo que activa a STAT3 y a otras tirosina cinasas, con lo que se amplía el abanico de vías de señalización afectadas.

Otra alteración muy frecuente en el cáncer de pulmón es la del gen *ALK*. La proteína ALK es otro receptor transmembranario con actividad tirosina cinasa (como el EGFR) que se expresa en intestino delgado, testículos y cerebro, pero no en el pulmón. Se ha visto que en el cáncer no microcítico aparece una fusión génica entre *EML4* y *ALK* (*ALK* es capaz de translocarse hasta con 14 genes distintos). La fusión *EML4-ALK* es especialmente frecuente en los adenocarcinomas de pacientes que fuman poco o nada; se debe a la inversión dentro del brazo corto del cromosoma 2 y la proteína quimérica resultante tiene actividad tirosina cinasa constitutiva de ALK en los tejidos pulmonares. Esto hace que activen las vías de señalización mitógenas, como ocurre con la hiperactivación del EGFR (figura 1). El crizotinib es un fármaco que inhibe selectivamente la actividad de la tirosina cinasa de esta proteína de fusión.

Como ejemplo de mutación excluyente tenemos la de KRAS, presente en un 20% de los cánceres de pulmón, sobre todo en los adenocarcinomas de fumadores, que nunca aparece con mutaciones en EGFR ni en ErbB2 (en el cáncer de mama). Las mutaciones de KRAS provocan la activación constitutiva de su

actividad tirosina cinasa de proteínas y la consiguiente activación de las vías de RAS/RAF/MEK/MAPK y PI3K/MAPK. Esto las hace independientes de la señalización de EGFR y, por lo tanto, insensibles al tratamiento con los inhibidores de éste.

Paneles para el diagnóstico genético

Los genes cuya variación se sabe que interviene en una enfermedad se han reunido en un «panel» que se puede utilizar para el diagnóstico. Uno de los paneles para el cáncer de pulmón es el *Human Lung Cancer GeneRead DNaseq Targeted Panel V2* de Qiagen, que escoge los genes en función de diversas fuentes como el *Cancer Genome Atlas* y *COSMIC*. Otros paneles no son tan específicos, como el *Ion AmpliSeq™ Colon and Lung Cancer Research Panel V2* de *Life Technologies* o el todavía más generalista *TruSeq Amplicon - Cancer Panel* de Illumina.

Si comparamos los tres paneles junto a los tratamientos aprobados o en investigación (Figura 2), podemos deducir que el panel de Qiagen abarca más mutaciones con tratamiento dirigido para cáncer de pulmón. Llama mucho la atención que dos de los paneles (TruSeq y GeneRead) tengan muchos genes que no están en los otros paneles. Dado que TruSeq se supone que sirve para muchos tipos de cánceres, esto podría explicar que 21 genes no estén en ningún otro panel; en cambio, es más difícil explicar por qué GeneRead tiene 19 genes relacionados con cáncer de pulmón que no están representados en ningún otro panel. Todavía es más sorprendente que 9 genes para los que hay tratamiento no se encuentren en ningún panel.

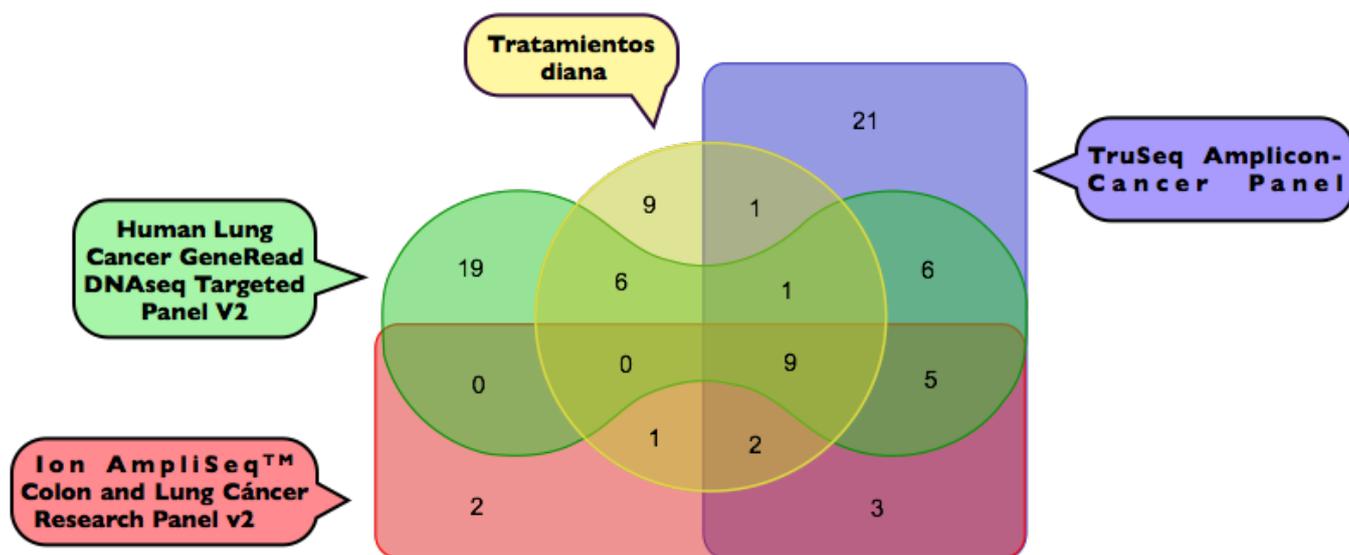


Figura 2. Comparación de los paneles de genes comerciales que cubren el cáncer de pulmón y los tratamientos diana conocidos.

En cualquier caso, estos paneles permiten, al menos de forma experimental, realizar el pronóstico e incluso indicar la medicación en pacientes que no responden al tratamiento estándar. Por desgracia, el número de pacientes con los que funciona el tratamiento dirigido es todavía muy pequeño.

El acceso al tejido tumoral para la evaluación de biomarcadores y la heterogeneidad tumoral continúan siendo un serio desafío. Así, la capacidad de metástasis se está consiguiendo usar en contra del tumor: se está avanzando en la detección del ADN tumoral en la sangre circulante para que puedan llegar a ser alternativas clínicamente relevantes a la biopsia del tumor y proporcionar mediciones de la carga total de tumor, así como identificar las mutaciones que surgen durante el tratamiento que pueden ser responsables

para el desarrollo de resistencias adquiridas^[4]

Referencias

- ¹ Travis WD et al. International association for the study of lung cancer/american thoracic society/european respiratory society international multidisciplinary classification of lung adenocarcinoma. *J Thorac Oncol* 6(2): 244-85, 2011.
 - ² Lindeman NI 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 Mol Diagn* 15(4): 415-53, 2013.
 - ³ You M et al. Fine mapping of chromosome 6q23-25 region in familial lung cancer families reveals *RGS17* as a likely candidate gene. *Clin Cancer Res* 15(8): 2666-74, 2009.
 - ⁴ Bettgowda C et al. Detection of circulating tumor DNA in early- and late-stage human malignancies. *Sci Transl Med* 6(224): 224ra24, 2014.
-
-