

Predicción del beneficio al tratamiento con pemetrexed en pacientes con cáncer de pulmón de célula no pequeña avanzado mediante la expresión de Timidilato Sintasa

Manuel Dómine Gómez, Federico Rojo, Tatiana Hernández, Juan Madoz, Cristina Chamizo, Miriam Dorta, Sandra Zazo, Nerea Carvajal, Irene Moreno, Jesús García Foncillas

Departamento de Oncología (Translational Oncology Division)

Instituto de Investigación Sanitaria- Fundación Jiménez Díaz (IIS-FJD).

Hospital Universitario. Fundación Jiménez Díaz. Clínica de la Concepción.

Facultad de Medicina. Universidad Autónoma de Madrid



INTRODUCCIÓN

- Varios estudios preclínicos han mostrado que las líneas celulares de carcinoma no microcítico de pulmón (CNMP) con sobreexpresión de Timidilato sintasa (TS) son menos sensible al tratamiento con pemetrexed (*Takezawa Br J Cancer 2011 , Kasai Anticancer Res 2013, Yang Oncol Letter 2014*)
- Pemetrexed ha mostrado mayor eficacia en el tratamiento del CNMP no escamoso avanzado comparado con los carcinomas escamosos tanto en primera como en segunda línea (*Scagliotti JCO 2008, Peterson JTO 2007*).
- Se ha postulado que los niveles de expresión de la TS podrían influenciar estos resultados, observándose niveles más elevados en los carcinomas escamosos (*Ceppi Cancer 2006, Maus JTO 2013*)
- Varios estudios retrospectivos han demostrado el valor predictivo de TS en el tratamiento con pemetrexed, obteniéndose mejores resultados en pacientes con niveles de expresión bajos (*Sun JTO 2011, Nicolson JTO 13, Liu Can Chem Pharm 2013*)
- Un estudio Fase II aleatorizado que comparaba cis-pem vs cis-gem según la expresión de TS por IHQ ha mostrado un beneficio significativo para cis-pem vs cis-gem en pacientes TS negativos, no hubo diferencias en TS positivo (*Ahn ESMO 14*)

Introducción

Timidato Sintasa (TS). Función



Timidato sintasa (TS) → es un enzima que interviene en la formación de timidina

Esta reacción es fundamental para la formación de desoxi timidina trifosfato (dTTP)

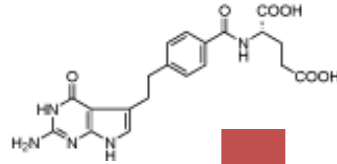
dTTP precursor de DNA

Molécula necesaria para la correcta síntesis y reparación del DNA.

Introducción

Pemetrexed es un análogo del ácido fólico que inhibe 3 enzimas implicadas en la síntesis de precursores de ácidos nucleicos.

Pemetrexed



inhibe

Ppal. diana

TS

DHFR

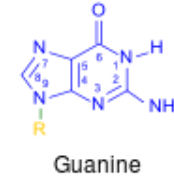
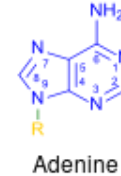
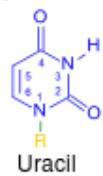
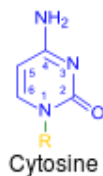
GARFT

synthesis of
pyrimidine nucleotides

synthesis of
purine nucleotides

Pyrimidines

Purines



DNA

DNA/RNA

OBJETIVOS

- **Estudio Retrospectivo**
- **Evaluar los niveles de expresión de TS en células tumorales, como factor predictivo al tratamiento con pemetrexed.**
 - **TIEMPO A PROGRESIÓN**
 - **RESPUESTA**
 - **SUPERVIVENCIA GLOBAL**



Pacientes y métodos

MUESTRAS: 83 CASOS CONSECUTIVOS

Edad Mediana: 60 (32 -78)

Sexo:

- Hombres: 58
- Mujeres 25

Hábito tabáquico

- Fumador 37
- Ex fumador 29
- No fumador 17

ECOG

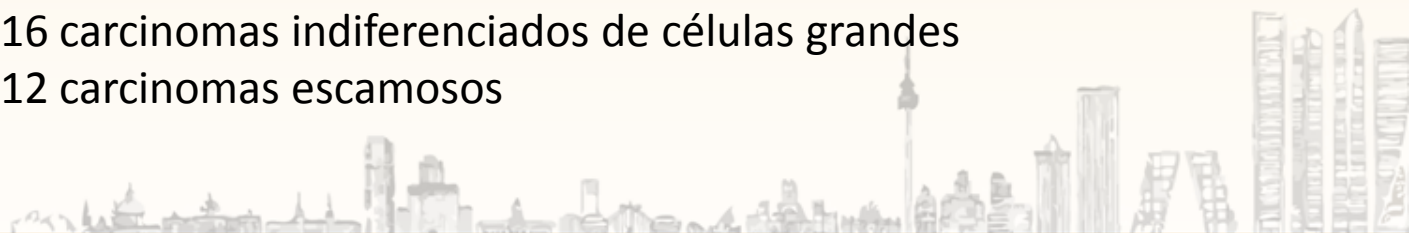
- 0: 30
- 1: 46
- 2: 7

Tratamiento

- 1ª línea: Cisplatino- pemetrexed → pemetrexed de mantenimiento: 17
- 2ª y sucesivas: 66

Histología

- 55 Adenocarcinomas
- 16 carcinomas indiferenciados de células grandes
- 12 carcinomas escamosos

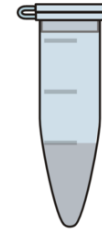
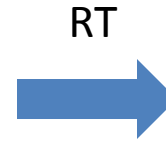


qPCR

50 µm de tejido tumoral FFPE
o citologías (obtenidas por
broncoscopia)

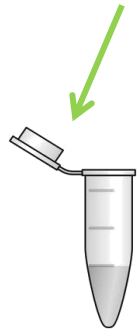


Extracción de RNAtotal



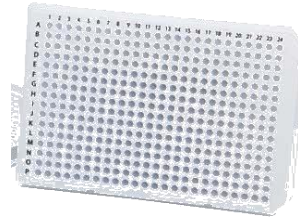
cDNA

Primers específicos
(TS y ATP5E)



cDNA

Sondas hidrolizables
(UPL, Roche)



(Light-Cycler480 II, Roche)

CUANTIFICACIÓN RELATIVA (RQ)

La expresión de TS se calculó conforme al algoritmo matemático descrito por Pfaffl, siendo ATP5E el gen de referencia y el tejido no tumoral la muestra calibradora (control).

$$\text{ratio} = \frac{(E_{\text{target}})^{\Delta CP_{\text{target}}(\text{control} - \text{sample})}}{(E_{\text{ref}})^{\Delta CP_{\text{ref}}(\text{control} - \text{sample})}}$$

Categorización de la expresión de TS en las muestras analizadas

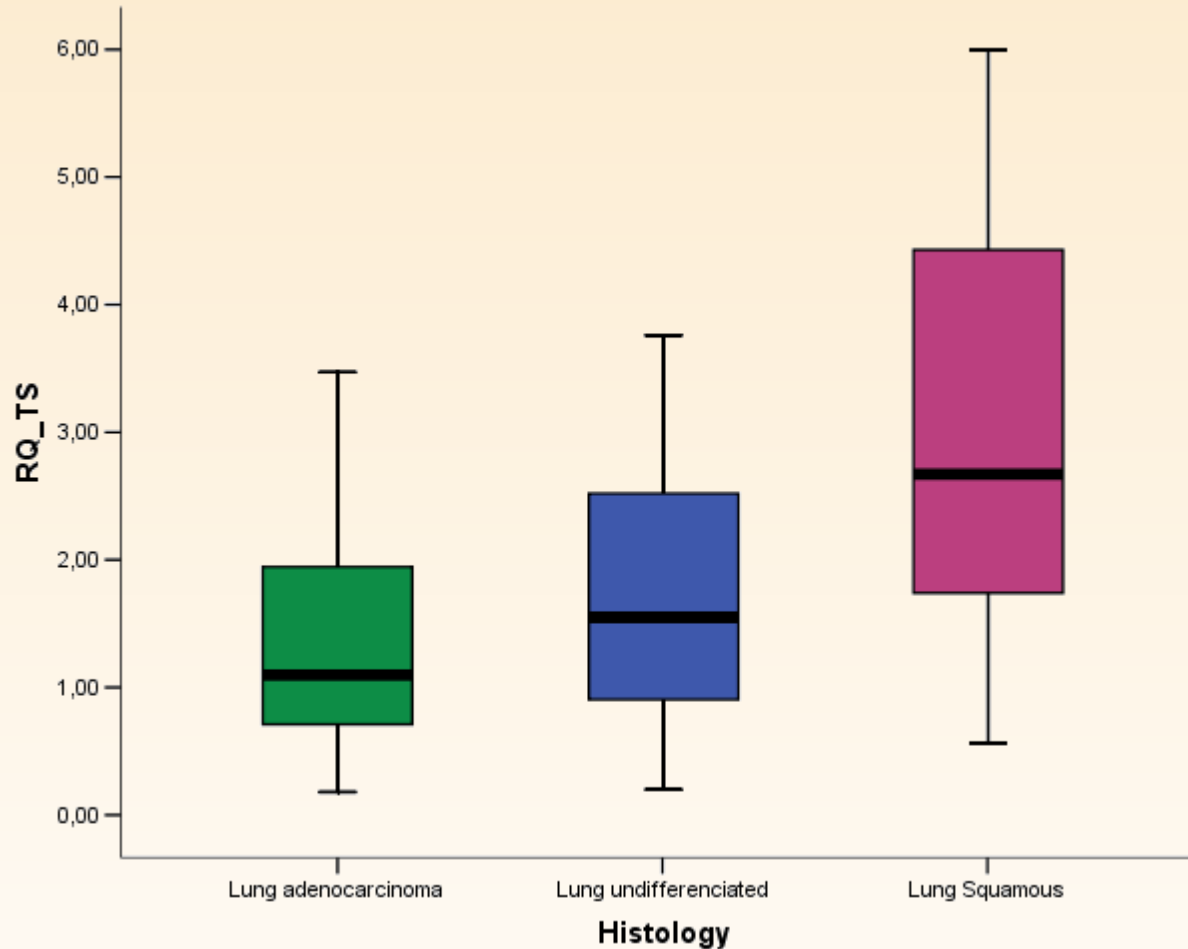
Los niveles de expresión de TS fueron clasificados en dos categorías:

- Sobreexpresión de TS → valores ≥ 1.10
- Baja expresión de TS → valores < 1.10

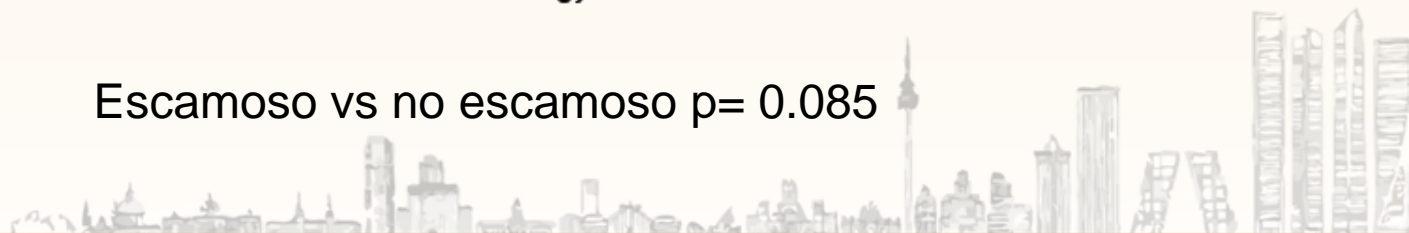
- ✓ El rendimiento de la extracción del RNA fue del 81%
- ✓ Alta expresión 70%
- ✓ Baja Expresión 30%



Niveles de expresión según histología



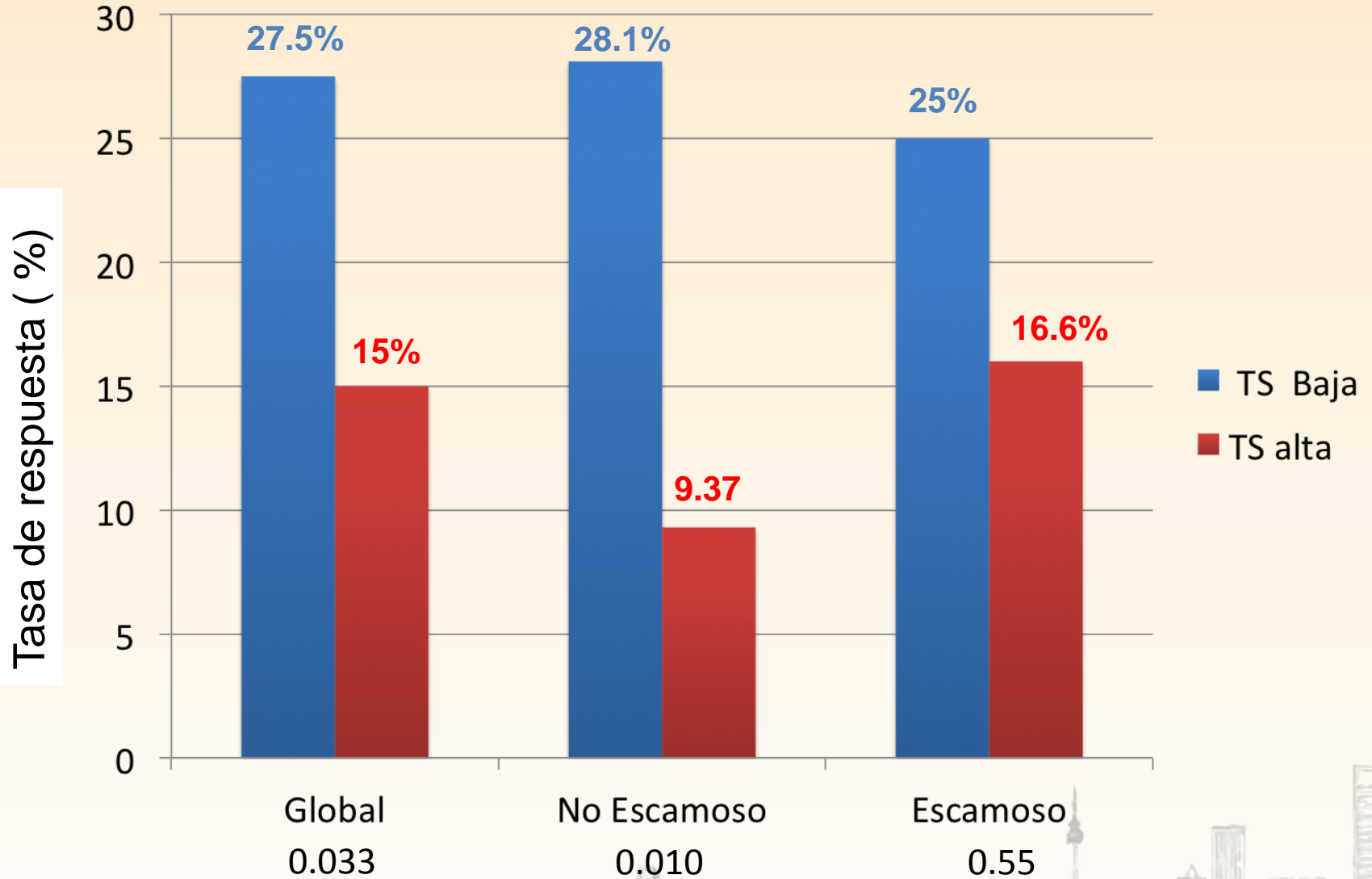
Escamoso vs no escamoso $p= 0.085$



Niveles de expresión de TS como factor predictivo según características clínicas

			Baja expresión		Alta expresión		p
Edad (rango)		60 (32- 78)	54 (32-78)		64 (60-78)		1
		N	N	%	N	%	
Sexo	Hombre	49	15	30.6	34	69.4	0.842
	Mujer	18	5	27.7	13	72.3	
Hábito	Fumador	29	7	24.1	22	75.9	0.541
	Exfumador	26	8	30.7	18	69.3	
	No fumador	12	5	41.6	7	58.4	
Histología	Adenocarcinoma	42	14	33.3	28	66.7	0.075
	Células grandes	13	2	15.4	11	84.6	
	Escamoso	12	4	33.3	8	66.7	
ECOG	0	24	5	20.8	19	79.2	0.27
	1	37	14	37.84	23	62.16	
	2	6	1	16.66	5	83.34	
Línea	1ª	17	6	35.3	11	64.7	0.43
	2ª	37	12	34.23	25	67.57	
	3ª	13	2	15.38	11	84.6	

Respuesta según nivel de expresión de TS



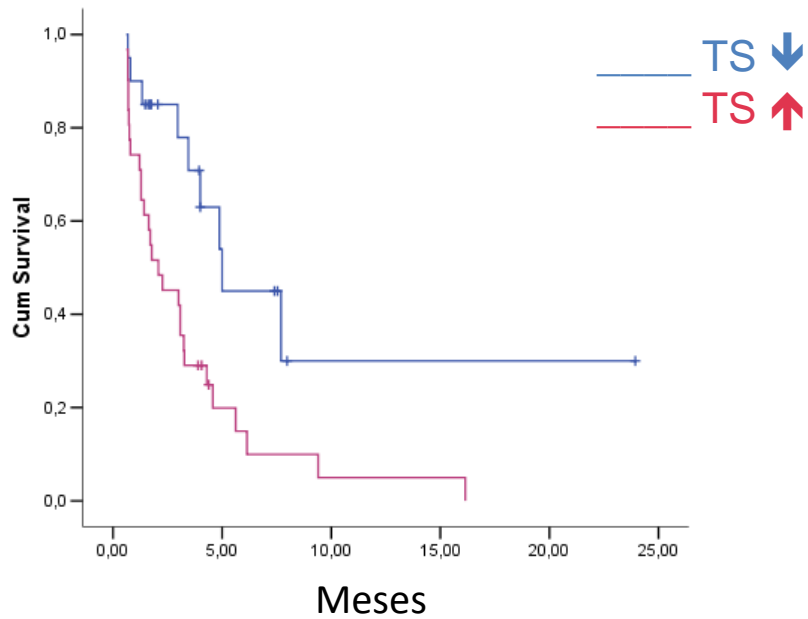
Tiempo a progresión según nivel de expresión de TS

	Expresión baja	Expresión alta	
mTTP	Meses	Meses	p
Global	5.3	2.7	0.001
No escamosos	5.6	2.5	0.001
Escamosos	5.1	3.6	0.290

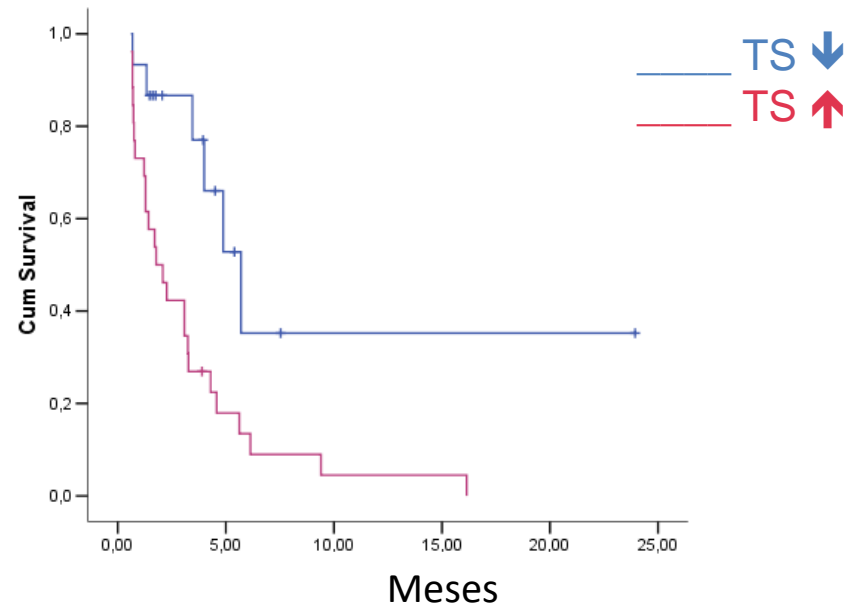


Tiempo a progresión

TTP



$p= 0.001$
Global



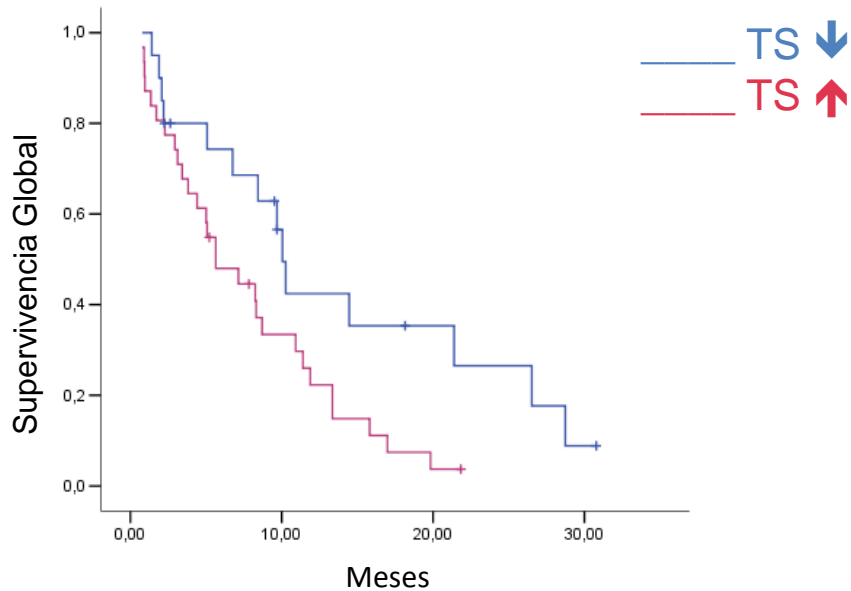
$p= 0.001$
No Escamoso

Supervivencia Global según nivel de expresión de TS

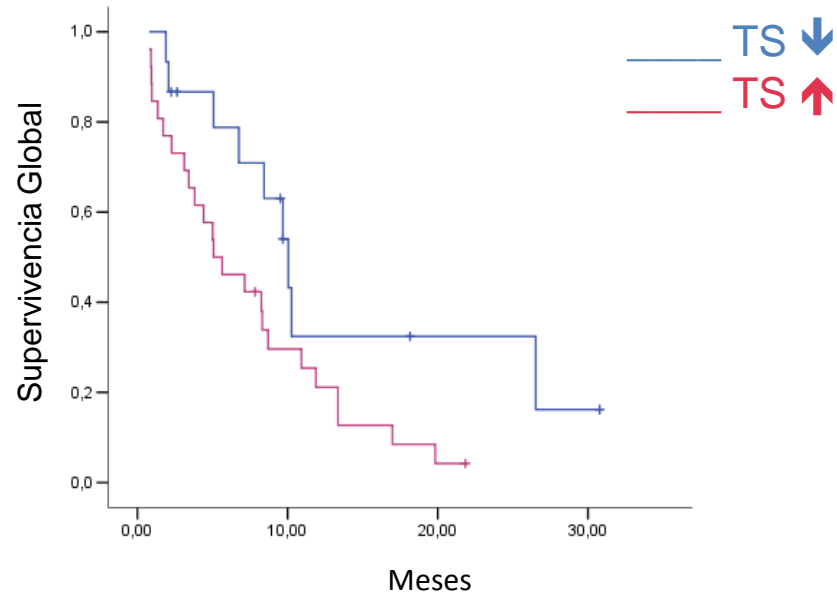
	Expresión baja	Expresión alta	
SM	Meses	Meses	p
Global	10.1	5.6	0.051
No escamosos	10	5.3	0.061
Escamosos	8.3	5.6	0.894



Supervivencia Global



$p= 0.051$
Global



$p= 0.061$
No escamoso

CONCLUSIONES

- ✓ La RT-qPCR es una buena herramienta para evaluar la expresión de TS a partir de muestras embebidas en parafina (FFPE) o de citologías
- ✓ Los niveles bajos de expresión de TS se asocia con un beneficio significativo en tiempo a progresión y respuesta al tratamiento con pemetrexed
- ✓ No se encontraron diferencias en supervivencia global
- ✓ La determinación de los niveles de expresión de TS podría usarse como biomarcador predictivo en estos pacientes.
- ✓ La selección del tratamiento quimioterápico basada en biomarcadores como la TS, entre otros, es un aspecto que está pendiente de resolver y validar
- ✓ Esta selección no se puede recomendar como práctica estándar



GRACIAS

