

Diagnóstico molecular e inmunohistoquímico para orientar el tratamiento en el adenocarcinoma pulmonar de células no pequeñas

Molecular and immunohistochemical diagnosis to guide treatment in non-small cell lung adenocarcinoma

Danitza Elías Justiniani^{1*} <https://orcid.org/0000-0002-6704-7490>

Laura Cristina Bastien Valdovinos¹ <https://orcid.org/0000-0001-8519-3283>

Jazmín Ruiz Cruz¹ <https://orcid.org/0000-0001-8933-6958>

Franguia Govea Sosa¹ <https://orcid.org/0000-0002-1005-0891>

Brenda Martínez Luna¹ <https://orcid.org/0000-0003-2323-1218>

Dayanis Duvergel Calderín¹ <https://orcid.org/0000-0003-4452-5493>

¹Hospital Clínico Quirúrgico “Hermanos Ameijeiras”. La Habana, Cuba.

*Autor de correspondencia: danyej09@gmail.com

RESUMEN

Introducción: Las neoplasias de pulmón constituyen el segundo lugar de causa de muerte en el mundo. El adenocarcinoma es el tipo celular más frecuente y representa más del 50 % de los cánceres. Los cánceres de pulmón pueden ser tratadas de diferentes maneras, según el subtipo histológico y el diagnóstico molecular.

Objetivo: Demostrar la importancia de estudios moleculares e inmunohistoquímica para dirigir el tratamiento preciso del cáncer pulmonar tipo histológico carcinoma de células no pequeñas.

Presentación de caso: Se reporta el caso de una paciente femenina de 59 años que presentó un cuadro de tos sin otros antecedentes. La imagen de la tomografía computarizada realizada mostró una masa en íntimo contacto con rama de bronquio lobar superior izquierdo que midió 41x20 mm. Se le realizó una biopsia por aguja gruesa la cual fue estudiada por medio de proceso histoquímico convencional con hematoxilina y eosina. Posteriormente, fueron realizados marcadores de inmunohistoquímica para

Anaplastic Lymphoma Kinase (D5F3), *Programed Death Ligand 1* y pruebas de biología molecular para *Epidermal Growth Factor Receptor* como complemento.

Resultados: La histoquímica convencional hematoxilina y eosina mostró la presencia de un carcinoma pulmonar de células no pequeñas con subtipo histológico adenocarcinoma moderadamente diferenciado. Los resultados por IHQ arrojaron negatividad para los marcadores *Anaplastic Lymphoma Kinase (D5F3)* y *Programed Death Ligand 1*. El estudio molecular para *Epidermal Growth Factor Receptor* concluyó en gen mutado.

Conclusiones: Identificar un biomarcador y su sobreexpresión con respecto a otros nos permite determinar el grupo de pacientes que serán beneficiados con terapias más específicas de acuerdo a la patogénesis de su cáncer.

Palabras clave: adenocarcinoma; células no pequeñas; pulmón; EGFR; ALK; PD-L1.

ABSTRACT

Introduction: Lung neoplasms are the second leading cause of death in the world. Adenocarcinoma is the most frequent celltype and represents more than 50% of cancers. Lung cancers can be treated in different ways depending on the histological subtype and molecular diagnosis.

Objective: Analyze the importance of molecular and immunohistochemical studies to direct a precise treatment for lung cancer, histological type non-small cell carcinoma.

Case presentation: In this case of a 59 year old female who presented a chronic cough with no other symptoms and medical history. A computed tomography image found a mass in close contact with the left upper lobar bronchus branch that measure 41 x20mm. It was attain a biopsy by thick needle in the left upper lobe, conventional histochemical process. Immunohistochemical markers were requested for Anaplastic Lymphoma Kinase (D5F3), Programed Death Ligand 1and molecular biology test for Epidermal Growth Factor Receptor.

Results: Conventional hematoxylin and eosin histochemistry showed the presence of non-small cell lung carcinoma, with adenocarcinoma histological subtype, moderately differentiated. The results for immunohistochemistry were negative for the markers Anaplastic Lymphoma Kinase (D5F3) and Programed Death Ligand 1. The molecular report for Epidermal Growth Factor Receptor turned out in mutated gene.

Conclusions: Identifying a biomarker and its over expression with respect to others allows us to determine the group of patients that will benefit from more specific therapies according to the pathogenesis of their cancer.

Keywords: adenocarcinoma; non-small cells; lungs; EGFR; ALK; PDL-1.

Recibido: 10/03/2022

Aprobado: 24/06/2022

Introducción

Las neoplasias de pulmón constituyen el segundo lugar de causa de muerte en el mundo y la primera causa de muerte por cáncer en ambos sexos en Cuba en el año 2020.^(1,2) El cáncer de pulmón se divide en dos tipos histológicos principales, cáncer de células pequeñas (15-25 % del total) y el cáncer de pulmón de células no pequeñas (CPCNP) (85-90 % del total).⁽³⁾ Los tres tipos principales de CPCNP son el adenocarcinoma, el carcinoma de células escamosas y el carcinoma indiferenciado de células grandes.⁽⁴⁾ El adenocarcinoma es el tipo celular más frecuente y representa más del 50 % de los cánceres. Es el que predomina en personas que nunca han fumado, lo que está ligado a mutaciones genéticas descritas en los últimos años en las células tumorales.⁽⁴⁾ Estos subtipos histológicos se diagnostican de la misma forma, pero pueden ser tratadas de diferentes maneras según, su subtipo y el diagnóstico molecular.⁽²⁾

Las mutaciones, translocaciones y otras alteraciones genéticas para subgrupos de carcinomas pulmonares están constituidos por receptores, usualmente tirosina quinasas constitutivamente activadas que afectan algunas rutas moleculares de señalización. Los genes alterados incluyen EGFR (*Epidermal Growth Factor Receptor*), KRAS (*Kristen Rat Sarcoma Viral Oncogén Homologo*), ALK (*Anaplastic Lymphoma Kinase*), entre otros. Son la base actual de la clasificación molecular de los carcinomas pulmonares con fines de tratamiento dirigidos.⁽⁴⁾

El EGFR es una proteína receptora transmembrana aminoácidos que se expresa en tejidos epiteliales, mesenquimales y neurogénicos. En 1993 se comenzó a observar que el EGFR se sobre expresaba en el cáncer de pulmón en comparación con el tejido normal adyacente.^(5,6)

El gen ALK está presente entre el 3-7 % de los pacientes con CPCNP. Codifica una tirosina quinasa transmembrana que pertenece a la superfamilia de receptores de insulina que da como resultado una mayor proliferación celular. La inhibición de estas vías mediante el uso de inhibidores de ALK conduce a la muerte celular y la regresión del tumor.^(3,7)

Otros marcadores moleculares que se buscan para dar terapias dirigidas y se han correlacionado a la expresión de la mutación de EGFR para CPCNP son los anticuerpos monoclonales contra PD-1 o PD-L1.⁽⁸⁾ La función de los anticuerpos antes mencionados se basa en la capacidad de algunos tumores de evadir el sistema inmune mediante la expresión de PD-L1, ligado a una proteína llamada PD-1. Al producirse la unión entre PD-1 y PD-L1 se inhibe la activación del linfocito T y por tanto, se inhibe la respuesta inmune normal contra células tumorales.^(5,6,7,8)

Las terapias mediante la detección de estos marcadores han mejorado la supervivencia global en el cáncer de pulmón más que las obtenidas con quimioterapia tradicional. Sin embargo, muchas de las veces se diagnostica el cáncer en etapas avanzadas.^(9,10,11,12)

El presente trabajo tuvo como objetivo demostrar la importancia de estudios moleculares e inmunohistoquímica para dirigir el tratamiento preciso del cáncer pulmonar tipo histológico carcinoma de células no pequeñas.

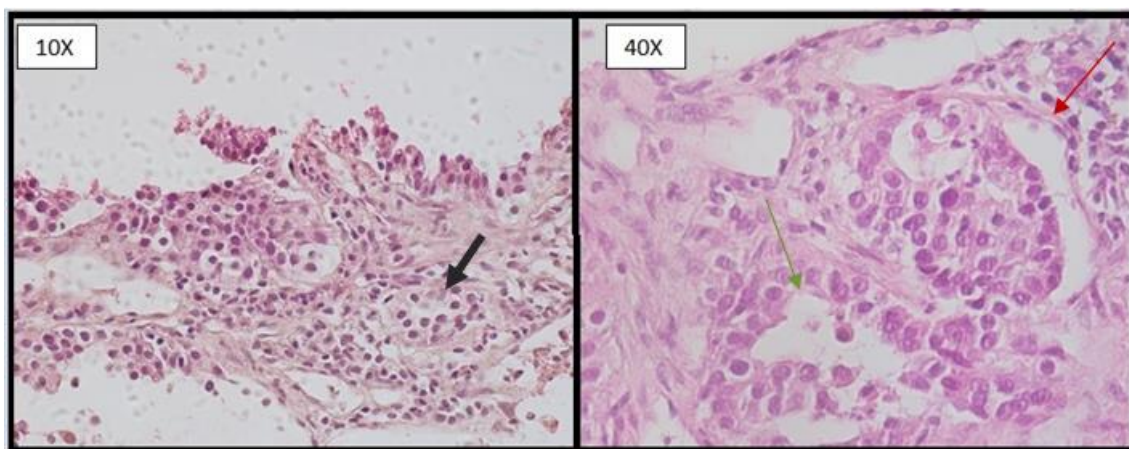
Métodos

Se realizó un análisis descriptivo de una biopsia de TRUCUT de pulmón de un paciente con sospecha de cáncer en el Hospital Clínico Quirúrgico “Hermanos Ameijeiras”. Se emplearon las técnicas de histoquímica convencional con hematoxilina y eosina e inmunohistoquímica para los marcadores de ALK (D5F3) y PD-L1 en el Departamento de Anatomía Patológica. También se realizó un estudio molecular para detectar mutaciones en EGFR en el Departamento de Genética Molecular.

En el estudio se aplicó la premisa “El bienestar de los seres humanos debe tener siempre primacía sobre los intereses de la ciencia y de la sociedad.” (Declaración de Helsinki).

Presentación de caso

Se trata de una paciente femenina de 59 años con antecedentes de hipertensión arterial esencial en tratamiento médico, sin otros antecedentes heredofamiliares o patológicos de importancia. Fue ingresada por presentar cuadro de tos. El estudio por tomografía computarizada mostró una masa en íntimo contacto con la rama del bronquio lobar superior izquierdo que midió 41x20 mm. Se realizó una biopsia por TRUCUT en el lóbulo superior izquierdo de pulmón. El análisis convencional HQ de hematoxilina y eosina concluyó en CPCNP, a favor de adenocarcinoma moderadamente diferenciado (Fig. 1).



Flecha negra: neoplasia maligna epitelial con diferenciación glandular (H&E); flecha roja: revestimiento de las células tumorales a lo largo de las paredes alveolares (flecha roja); flecha verde: se muestra a 40X células tumorales con citoplasma vacuolado que forman luces glandulares.

Fig. 1 -Adenocarcinoma de células no pequeñas.

La IHQ se realizó para marcadores de ALK (D5F3) clona 6679072001^(13,14,15) y PD-L1 clona 8008540001⁽¹⁶⁾ en el equipo Benchmark Ultra con sistema Overview. Sin embargo, se obtuvieron datos negativos para ambos casos (Fig.2). Las mutaciones asociadas al gen del EGFR se determinaron a partir de una muestra de tejido en parafina mediante el empleo de la técnica de PCR en tiempo real en el equipo Cobas Z 480 (Roche).

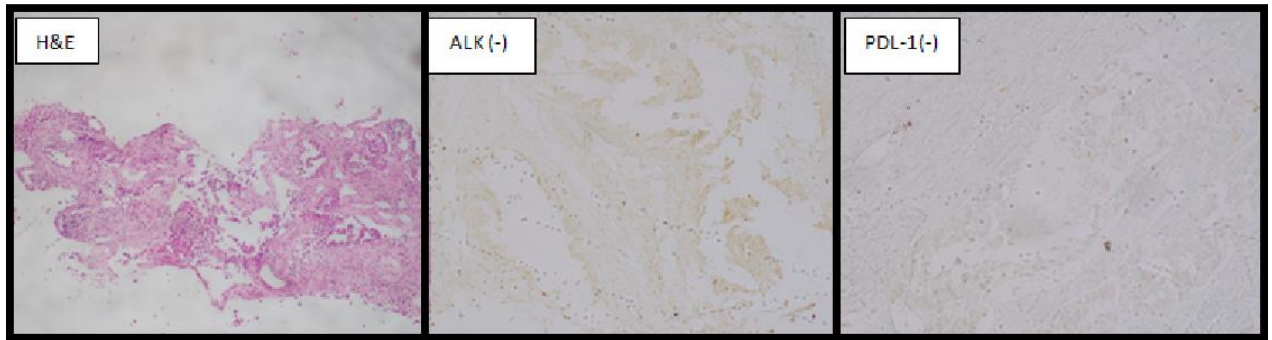


Fig. 2A - Biopsia pulmonar con tinción convencional de H&E. **B.** ALK negativo. **C.** PD-L1 negativo.

Discusión

El tratamiento del cáncer de pulmón, especialmente el subtipo de adenocarcinoma ha sido transformado en la última década por la disponibilidad de biomarcadores predictivos para terapias dirigidas molecularmente.⁽³⁾

El empleo de las pruebas de IHQ y las pruebas genéticas dependen del diagnóstico presuntivo, el cual es una combinación de los hallazgos clínicos y el tipo histológico.⁽⁹⁾ Las pruebas moleculares no reemplazan la clasificación histológica, la enriquece.⁽²⁾

Sánchez y otros⁽⁷⁾ mencionan que la edad de presentación del CPCNP con alteraciones genéticas susceptibles de tratamiento ocurre en las etapas más tempranas de la vida. En nuestro caso, la paciente cuenta con una edad media, lo cual podría indicar baja susceptibilidad a tratamiento. Resulta interesante que la intensidad de exposición al tabaco disminuye de manera proporcional la probabilidad de presentar mutaciones en EGFR, antecedente que no es mencionado en esta paciente.⁽⁷⁾

El EGFR juega un importante papel en la oncogénesis del CPCNP. La probabilidad de presentar mutaciones del gen EGFR en la población de pacientes con CPCNP es variable en el mundo, siendo aproximadamente del 10 % en la población caucásica y hasta el 60 % en la población asiática.⁽¹⁰⁾ Los pacientes sin mutaciones en los genes de EGFR o KRAS tienen mayor probabilidad de presentar expresión alta de PD-L1. En la paciente estudiada se encontró asociación entre la expresión negativa de PD-L1 en el tumor y un resultado de EGFR mutado.⁽⁸⁾

El CPCNP con mutación en el gen EGFR está asociado a una mejor respuesta al tratamiento con el inhibidor de la tirosina kinasa. Por tanto, se recomienda documentar la

presencia de esta mutación antes de iniciar la terapia.⁽³⁾ Sin embargo, pueden desarrollar resistencia dentro de un año. Esta falta de respuesta se puede atribuir a varios factores y una de las posibilidades incluye albergar mutaciones secundarias o duales. El reordenamiento de ALK se identifica como una de las razones asociadas con la resistencia a la terapia EFGR-TKI y viceversa, por lo que el tratamiento con EGFR y ALK-TKI puede ser el mejor acercamiento debido a la resistencia que ambos pueden tener entre sí. Se sugiere en todos los casos con mutaciones de EFGR también realizar seguimiento para detectar anticuerpos ALK (D5F3).⁽¹³⁾ En el caso estudiado, se realizaron ambas pruebas siendo sólo positiva a la mutación de EGFR.

Aproximadamente la mitad de todos los CPNCP localmente avanzados o metastásico tienen expresión de PD-L1, siendo esta expresión alta en un 22 % de los casos.⁽¹⁴⁾ Por ello se debe considerar realizar esta prueba en estos pacientes. Los pacientes positivos para mutaciones activadoras de EGFR o translocaciones en ALK son elegibles para recibir terapias dirigidas molecularmente, mientras que los positivos para PD-L1 pueden ser tratados con inmunoterapia.⁽³⁾

En nuestro caso la presencia de carcinoma de células no pequeñas subtipo histológico adenocarcinoma, acompañado de la positividad mutación del gen EGFR sugiere al oncólogo la aplicación de terapia dirigida con inhibidores de la tirosina kinasa. Debe tenerse en cuenta como lo menciona *Thumallapally N.* y otros⁽¹³⁾ la presencia de resistencias a la terapia debido a nuevas mutaciones convergentes, por lo que el estudio de cada caso en particular es imprescindible.

Conclusiones

Identificar un biomarcador y su sobreexpresión con respecto a otros nos permite determinar el grupo de pacientes que serán beneficiados con terapias más específicas de acuerdo a la patogénesis de su cáncer.

Referencias bibliográficas

1. International Agency for Research on Cancer. Lung. Source: Globocan 2020. WHO. 2021. Disponible en: <https://gco.iarc.fr/today/data/factsheets/cancers/15-Lung-fact-sheet.pdf>

2. Planchard D, Novello S, Peters S. Cancer de pulmón de células no pequeñas (CPCNP). Una Guía ESMO para pacientes. ESMO. 2019. Disponible en: <https://www.esmo.org/content/download/7253/143223/file/ES-Cancer-de-Pulmon-de-Celulas-no-Pequeñas-Guia-para-Pacientes.pdf>
3. Duffy M, O'Byrne K. Tissue and Blood Biomarkers in Lung Cancer: A review. *Advanc Clinic Chemistry*. 2018;86:1-26. DOI: <http://doi.org/10.1016/bs.acc.2018.05.001>
4. Barrionuevo Cornejo C, Dueñas Hanco D. Clasificación actual del carcinoma de pulmón. Consideraciones histológicas, inmunofenotípicas, moleculares y clínicas. *Horiz Med* (Lima). 2019;19(4):74-83. DOI: <http://dx.doi.org/10.24265/horizmed.2019.v19n4.11>
5. Fernandez S, Pires Y, Labarca G, Vial M. Expresión de PDL-1 en muestras de cáncer pulmonar no microcítico obtenidas por EBUS_TBNA. *Arch Bronconeumol*. 2018;54(5):284-96. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.arbes.2017.10.008>
6. Zhang Chao, Leighl N, Wu YL, Zhong WZ. Emerging therapies for non-small cell lung cancer. *J Hemat&Oncol*. 2019;12:45. DOI: <http://doi.org/10.1186/s13045-019-0731-8>
7. Sánchez C, Rodríguez J, Martínez L, Santillan P, Alatorre J. Adenocarcinoma pulmonar con arreglo ALK: un fenotipoclínico y tomográfico distinto. *Neumol Cir Torax*. 2020;79(1):26-30. DOI: <https://dx.doi.org/10.35366/93426>
8. Ji M, Liu Y, Li Q, Li X, Ning Z, Zhao W, *et al*. PD-1/PD-L1 expression in non-small-cell lung cancer and its correlation with EGFR/KRAS mutation. *Cancer Biolog&Therapy*. 2016;17(4):407-13. DOI: <http://dx.doi.org/10.1080/15384047.2016.1156256>
9. Yatabe Y, Dacic S, Borczuk A, Warth A, Russell P, Lantuejoul S, *et al*. Best practices recommendations for diagnostic immunohistochemistry in lung cancer. *J Thoracic Oncology*. 2018;14(3):377-407. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.jtho.2018.12.005>
10. Egoavil Guerra MJ, Failoc Rojas VE, Gil Olivares F, Motta Guerrero R, Payet Meza ET, Sarria Bardales G, *et al*. Detección de mutaciones del gen EGFR en ADN circulante por medio de biopsia líquida en pacientes con cáncer pulmonar de células no pequeñas: revisión rápida. *Acta Med Peru*. 2021;38(2):145-50. DOI: <https://doi.org/10.35663/amp.2021.382.1978>
11. Lucian R, Chirieac, Richard L. Attanoos. Usual lung cancer. En: Dani S, Carol F. (editors). *Pulmonary Pathology*. Philadelphia: Elsevier; 2018. pp. 534-51.

12. Kuykendall A, Chiappori A. Advanced EGFR Mutation-Positive Non-Small-Cell Lung cancer: Case Report, Literature Review, and Treatment Recommendations. *J Moffitt Cancer Center*. 2014;21(1):67-73. DOI: <https://doi.org/10.1177/107327481402100110>
13. Thumallapally N, Yu H, Farhan M, Ibrahim U, Odiami M. Concomitant Presence of EGFR and ALK Fusion Gene Mutation in Adenocarcinoma of Lung: A Case Report and Review of Literature. *J Pharmacy Practice*. 2017;20(2):1-5. DOI: <https://doi.org/10.1177/0897190017704751>
14. Esteban Rodríguez M. Estudio Inmunohistoquímico de PD-L1 y del Microambiente tumoral en una cohorte de carcinomas de pulmón de células no pequeñas. Correlación con factores pronósticos y expresión genética [tesis de grado]. Universidad Autónoma de Madrid: Facultad de Medicina; 2019.
15. Diagnostics Roche. Identifying ALK (D5F3) + NSCLC patients for targeted treatment. Last Updates. Diagnostics Roche. 2022 [acceso: 23/07/2021]. Disponible en: https://diagnostics.roche.com/global/en/products/tests/ventana-alk_d5f3-cdx-assay1.html
16. Diagnostics Roche. Prueba Ventana PD-L1 (SP263) (CE-IVD). Last updates. Diagnostics Roche. 2022. <https://diagnostics.roche.com/global/en/products/tests/ventana-pd-11-sp263-assay2.html>

Conflicto de intereses

Los autores declaran que no existen conflictos de intereses.