

BIOLOGÍA MOLECULAR Y CÁNCER DE PULMÓN

Luis Piñeiro Amigo

Servicio de Neumología. Complejo Hospitalario Universitario Xeral-Ciés, Vigo

Los grandes avances de los últimos años, en campos tan diversos como los Isótopos Radiactivos (PET), la Inmunohistoquímica, la Endoscopia Respiratoria y sobre todo la imagen (TACAR), podrían recuperar para el Cáncer de Pulmón (CP) el axioma general de que un diagnóstico precoz mejora la supervivencia. Sin embargo cuando analizamos las cifras actuales no se puede evitar una sensación de fracaso, porque esta devastadora enfermedad, la mayor causa de muerte por cáncer, no supera el 15% de supervivencia global a los 5 años en las mejores estadísticas americanas, y aún más preocupante es que no ha variado sensiblemente en los últimos 30 años¹. Estos datos son aún peores en Europa, según informes del Grupo Europeo de CP². En España el panorama es aún más sombrío, a juzgar por diversos estudios de los últimos años que analizan el problema, de los que citamos a modo de ejemplo, el publicado en el año 2004 por Sánchez de Cos y Cs³, que recogen una supervivencia global de 7,9% a los 5 años en un grupo de 610 casos de C.P. no seleccionados. Parece que el diagnóstico sigue siendo tardío.

En los últimos años ha despertado gran interés el TAC de baja dosis, y estudios recientes⁴ sugieren que su uso en población de riesgo podría permitir un diagnóstico en estadios más precoces. Sin embargo Lenox⁵ en una documentada revisión cuestiona si hay razones serias para su utilización de rutina, y si la relación coste-beneficio lo justifica.

En los últimos años y en paralelo con los avances mencionados, se ha venido desarrollando una nueva línea de investigación, la Biología Molecular, cuya aplicación clínica, en concreto en el Cáncer de Pulmón, resulta muy atractiva. Podemos hablar de una corriente de opi-

nión muy amplia que supone que será esta línea de investigación la que permitirá disponer en un futuro no muy lejano, de marcadores biológicos fiables, que facilitarán un diagnóstico más precoz, un pronóstico menos incierto y un tratamiento más eficaz, incluso individualizado entre diferentes tipos de C.P⁶. El marcador ideal ha sido definido como aquel que sea reproducible, asequible y sobre todo fiable, siendo capaz de identificar precozmente la lesión cancerosa⁶ y diferenciarla del daño pulmonar no canceroso, asociado al humo del tabaco⁷.

Por desgracia hasta el momento los resultados son dispersos y ningún marcador se puede considerar lo bastante fiable y reproducible como para ser utilizado de rutina en población de riesgo. En opinión de Field J.8 esta dispersión se debe a las diferencias metodológicas entre los diversos estudios, y quizá al pequeño número de casos de la mayoría de ellos. Por este motivo su grupo se propuso un gran proyecto, Proyecto Liverpool, iniciado en el año 2002 que consta de dos brazos. Un brazo es un estudio caso-control, en el que se incluirán 1.250 casos nuevos confirmados de CP y 2 controles por caso, seleccionados aleatoriamente entre la población de estudio. En todos ellos se realizarán muestras del tumor y exámenes en BAL, esputo y sangre periférica para distintos marcadores biológicos preestablecidos. El segundo brazo es un estudio de cohorte, que incluirá de manera aleatoria 7.500 individuos de entre 45 y 79 años, del total de la población de estudio y que se seguirán durante 10 años con controles semestrales en esputo, sangre y biopsias del tumor, cuando se encuentre, determinando aquellas alteraciones genéticas que han sido previamente establecidas⁸.

El interés de la biología molecular se debe a que la posibilidad de padecer un CP, ha sido definida como la interrelación entre la exposición a carcinógenos ambientales y la susceptibilidad individual determinada genéticamente⁶. Es esta susceptibilidad genética la que resulta determinante para entender porqué siendo el

Correspondencia:

Luis Piñeiro Amigo

*Servicio de Neumología, planta 12. CHU Xeral-Ciés
C/ Pizarro, 22. 36204 Vigo*

Tel.: 986 816 069

tabaco responsable de más del 90% de los CP en el hombre y del 80% en la mujer, sólo un 11-12% de los fumadores desarrollan un cáncer^{6,8}. El problema es sin embargo muy complejo. En primer lugar porque no hablamos de una herencia ligada a un único gen, o a unos pocos genes muy dominantes. Al contrario, la investigación ha confirmado que el riesgo está determinado por numerosos polimorfismos, cada uno de ellos de baja penetrancia, estimada hoy en día en un 1% de la población general, pero que cuando coinciden varios en un individuo concreto, definen el riesgo cuantitativo, aunque siempre como ya se dijo en relación con la dosis de exposición a los carcinógenos^{6,10}. Una segunda dificultad es que hasta el momento tampoco se conocen bien los "cluster" o agrupamiento genéticos que pueden definir el riesgo de cada tipo de CP^{6,8,9}.

El gran esfuerzo en investigación molecular está empezando a resolver estas dificultades, en gran medida gracias a la creación de auténticos registros biológicos, los Microarrays. Los Microarrays son biochips, que contienen un gran número de oligonucleótidos que actúan como sondas de ADN complementario (cADN) el cual al enfrentarlo a una muestra concreta detectará en ella la presencia de aquellos genes que estén activados, porque el ARN mensajero se hibridará con cADN, permitiendo así, con la ayuda de un proceso informático, en un solo análisis, el estudio de muchos genes, y su grado de activación^{11,12}. Así hemos podido conocer muchos aspectos de interés, por ejemplo que las alteraciones genéticas inducidas por los carcinógenos en el epitelio bronquial del fumador, persisten muchos años después del abandono del tabaquismo, lo que se relaciona con el hecho clínico de que, al menos el 50% de los CP ocurren en exfumadores^{8,13}.

No es el objeto de esta editorial el estudio detallado de estos procesos. Para tal fin referimos al lector a algunas de las excelentes revisiones publicadas en los últimos años^{6,8,9,14,15,16}. Pero tampoco queremos dejar de señalar los principales avances que este esfuerzo investigador ha proporcionado.

Se admite que el riesgo individual de C.P. puede estar determinado por alteraciones congénitas en los genes que codifican proteínas esenciales en el metabolismo de los carcinógenos, sobre todo del humo del tabaco. Los mejor estudiados son CYP 1 A 1 y GSTM^{18,15,16}. El CYP 1 A 1 es un miembro del gran sistema enzimático de los Citocromos P450 (CYP), que son enzimas tipo I, es decir, que actúan activando a los carcinógenos y permitiendo así su unión al ADN que resultará alterado, ADN aberrante. La expresión por lo tanto de CYP 1 A 1, es un factor de riesgo. Por su parte GSTM1 es una forma activa del sistema enzimático Glutación-S. Transferasa, enzimas tipo II, es decir, que su acción se ejerce inactivando a carcinógenos, en concreto a los meta-

bolitos reactivos de los Hidrocarburos Policíclicos Aromáticos. Si en un individuo hay polimorfismos inactivos como GSTM1-null, también incrementa el riesgo^{8,15}. Un genotipo que asocie expresión de CYP 1 A 1 y GSTM1-null, debería considerarse de alto riesgo^{9,16}.

Estas alteraciones y otras menos conocidas permiten que el ADN resulte aberrante, de lo que se derivan muchas posibilidades de daños genéticos químicamente adquiridos, en el epitelio expuesto a los carcinógenos del humo del tabaco. Suelen afectar a genes que codifican proteínas esenciales para el control del crecimiento y la división celular, así como para la reparación del ADN aberrante, y se agrupan en vías metabólicas concretas⁶. Las anomalías genéticas han sido clasificadas en varios grupos biopatogénicos. El primero es el de los Protooncogenes, que son genes normales que cuando sufren una mutación se transforman en Oncogenes. Los mejores estudiados en CP son el ERBB-1 y ERBB-2. Cuando estos genes resultan activados codifican unas proteínas a las que llamamos Factores de Crecimiento Celular, así como a sus Receptores específicos. La unión de un factor con su receptor genera focos muy activos de crecimiento tumoral por mecanismo autocrino o paracrino. El ERBB-1 se conoce como EGFR (Epidermal Growth Factor-Receptor), porque codifica la proteína receptora del factor de crecimiento epidérmico. Se expresa en la mayoría de los carcinomas no microcíticos de pulmón (CBNM) y se asocia a mal pronóstico^{6,17}. Un estudio reciente analiza en 193 muestras de CBNM, estadio I, el nivel de expresión de EFGR, y encuentra una relación inversa con el tamaño del tumor, y con los años de tabaquismo, lo que les sugiere a los autores que puede ser un marcador muy precoz, pero no encuentran significación pronóstica, que tampoco se demostró en 17 de 21 trabajos recientes sobre este tema, que ellos revisaron¹⁸. Muchos otros factores de crecimiento, han sido implicados en el CP, aunque hay menos experiencia⁶.

Otros protooncogenes relacionados con el CP, son los del grupo RAS, cuyo miembro más conocido, el K-RAS está presente en más del 30% de los adenocarcinomas y finalmente el grupo MYC cuyo miembro C-MYC puede expresarse en cualquier Cáncer de Pulmón, pero sobre todo en el de célula pequeña CBM^{6,8}.

En un segundo grupo de alteraciones se incluyen las que afectan a los llamados Genes Supresores Tumoraes (TSG), los cuales codifican proteínas que actúan de manera fisiológica en el control del crecimiento y la división celular y en la reparación del ADN aberrante. Es obvio que aquí lo patológico no será su expresión aumentada sino su inactivación, que suele ocurrir en la mayoría de los casos por pérdida de un alelo y posible mutación del otro, a lo que se conoce como LOH (Loss of heterocigosity) es decir, pérdida de la heterocigidad^{6,8}. Los mejor estudiados son RB, P16 y sobre todo

P53. El gen P53 codifica una proteína imprescindible para mantener la integridad genómica. Alteraciones en este gen probablemente las más citadas en el Cáncer de Pulmón, están presentes en más del 50% de todos los tipos morfológicos. Inactivación de P53 correlaciona con el tabaquismo y confiere mal pronóstico^{6,14}. En este mismo grupo el gen P16 puede inactivarse por un síndrome LOH, pero con frecuencia se inactiva por metilación aberrante del promotor del gen, lo cual puede demostrarse no sólo en muestras del tumor sino también en otras como BAL, cepillado, esputo e incluso sangre, gracias a las actuales técnicas de amplificación-PCR, por lo que tiene un gran interés teórico como posible marcador biológico^{8,19}.

En un tercer grupo se incluyen las alteraciones de los genes encargados de la reparación del ADN. Se trata de un gran número de genes que codifican proteínas necesarias para la regulación del ciclo celular y sobre todo para reparar el ADN aberrante e impedir su replicación. Algunos autores han destacado como específico en este grupo las alteraciones del gen FHIT (Fragile Histidina Triad), que está presente en más del 80% de los carcinomas microcíticos de pulmón (CBM) y guarda estricta relación con el humo del tabaco¹⁴. En este grupo se han publicado muchos trabajos que destacan polimorfismos que afectan a los genes implicados en la reparación de las bases nitrogenadas (XRCC1) o a la reparación de los nucleótidos (XPD). El gran interés que despiertan es que se supone que podrían ser alteraciones heredadas y no adquiridas. En cualquier caso su significación hasta la fecha es incierta^{14,16}. Muchos de los genes implicados en la reparación del ADN, son los ya mencionados antes como genes supresores, sobre todo en P53, al que se ha llamado el guardián del genoma, porque su activación ocurre en respuesta a la presencia de un ADN aberrante⁶.

Se admite que en la inestabilidad del genoma, los hechos más importantes son LOH, la presencia de lesiones microsatélites por replicación aberrante del ADN repetitiva en series de oligonucleótidos concretos y los procesos de metilación aberrante. Todas estas alteraciones son susceptibles de detectarse tanto en BAL como en cepillado y en esputo, y en algunos casos en suero con técnicas de amplificación PCR^{8,14,16}.

Quedan sin mencionar muchos aspectos interesantes como la actividad Telomerasa, la Angiogenesis sostenida, relacionada con la expresión anormal del factor de crecimiento endotelio vascular (VEGF), o los complejos procesos de invasión tisular y metástasis^{6,20}. Pero ya dijimos que esta editorial no intenta ser una revisión sino una aproximación conceptual al tema.

Dos razones nos animaron a abordarlo. La primera es defender la idea de que estos conceptos no son ya cien-

cia básica ni especulaciones teóricas. Al contrario, sus implicaciones clínicas han permitido conocer algunos marcadores aunque no definitivos, pero que para investigadores como Miller¹⁵ deberán permitir un diagnóstico más exacto porque los agrupamientos de genes alterados, muestran un patrón diferente entre distintos tipos morfológicos, sobre todo entre carcinoma microcítico y no microcítico, y pronto se conocerán patrones diferenciales entre distintos tipos de CBMN, sobre todo para el Adenocarcinoma. Se están haciendo grandes esfuerzos para encontrar marcadores definitivos²⁴, así como para seleccionar criterios pronósticos y de respuesta terapéutica, e incluso diseñar líneas de tratamiento de las que muchos protocolos, en distintas fases, han sido ya publicados^{21,22,23}.

La segunda razón es el convencimiento de que sin ayuda de marcadores biológicos fiables, el diagnóstico precoz será un objetivo muy difícil, el pronóstico seguirá siendo incierto y la supervivencia mala. Por estos motivos tenemos la firme convicción, como ya sugirió O'Byrne. KJ¹⁷ de que en pocos años la estadificación TNM tendrá que ser complementada con una información basada en la genómica y la proteómica, y los Neumólogos, sobre todo los jóvenes, están obligados a familiarizarse con esta terminología y sus implicaciones clínicas.

Bibliografía

1. Jemal. A., Thomas A, Murray, T, et al. *Cáncer Statistics. 2002 CA. Can. J. Clin. 2002; 52:23-47.*
2. Janssen-Heijnen, ML, Gatta, G, Forman, D and the Eurocare Working Group. *Variation in Survival of patients with lung Cancer in Europe 1985-1989. Eur. J. Cancer. 1998; 34:2191-2196.*
3. Sánchez de Cos Esain J, Disdier C, Corral JM et al. *Supervivencia global a largo plazo en Cáncer de Pulmón. Análisis de una serie de 610 pacientes no seleccionados. Arch. Bronconeumol. 2004; 40:268-274.*
4. Wisniweski JP, Yankelevitz D Henschke c, et al. *Stage of lung cancer in relation to ist size. Chest. 2005; 127:1136-1139*
5. Lenox RJ. *To Screen or not to Screen. Chest 2005; 127:1091-1092 Edit.*
6. Fong KM, Sekido Y, Gazdar AF et al. *Lung Cáncer. Molecular Biology of lung cancer: clinical implications. Thorax 2003; 58:892-900.*
7. Sifakas NM, Tzortzaki EG, Sourvinos G, et al. *Microsatellite DNA instability in COPD. Chest. 1999;116:47-51.*

8. Field JK, Joungson JH. The Liverpool Lung Project: molecular epidemiological Study of early lung cancer detection. *Eur. Respir. J.* 2002; 20:464-479.
9. Alberg AJ, Samet J. *Epidemiology of Lung Cáncer.* *Chest* 2003; 123 (Supp 1): S21-S49.
10. Vineis P, Shulte P, Mc Michael J. Misscoceptions about the use of genetic test in populations. *Lancet.* 2001; 357:709-712.
11. Duggan DJ, Bittner M, Chen Y, et al. *Expresión profiles using cDNA microarrays.* *Nature.* 1999; 21 (Supp. 1): 10-14.
12. Mohr S, Leikanf GD, Keith G, et al. *Microarray as cancer Keys: an array of possibilities.* *J. Clin. Oncol.* 2002; 20: 3165-3167.
13. Mao L, Lee JS, Kurie JM et al. *Clonal genetics alterations in the lung of current and former Snokers.* *J. Natl. Cancer Inst.* 1997; 89:857-862 (Abstract).
14. Rom WN, JG, Lee T, et al. *Molecular and Genetics aspects of lung cancer.* *Am. J. Resp. Crit. Care. Med.* 2000; 161: 1355-57.
15. Miller YE and Fain P. *Genetic Susceptibility to lung cancer.* *Semin. Respir. Crit. Care Med.* 2003; 24: 197-204.
16. Liu. G. Zhou. W and Christiani DC. *Molecular Epidemiology of Non Small-Cell Lung Cancer.* *Semin. Respir. Crit. Care Med.* 2005; 26:265-272.
17. O'Byrne KS, Cox. G. Swinson. D, et al. *Towards a biological staging model for operable NSCLC.* *Lung Cancer.* 2001; 34: (Supp 2): 83 S-89 S.
18. Zheng Z Bepler G, Cantor L, et al. *Small tumor size and limited smoking hitory predicts activated epidemal growth factor receptor in early-stage non small-cell lung cancer.* *Chest.* 2005; 128: 308-316.
19. Palmisano W, Divine K, Saccomanno G, et al. *Predicting lung cancer by detecting aberrant promoter metylation in sputum.* *Canc. Respir.* 2000; 60: 5954-5958.
20. Moriya Y, Niki T, Yamada T, et al. *Increased epression of laminin-5 and its pronostic signficance in lung adenocarcinomas of small size. An immunohistochemical analysis of 102 cases.* *Cancer* 2001, 91: 1129-1141.
21. Baselga J, Phister D, Cooper MR, et al. *Phase I Studies of Antiepidermal Gowth factor receptor Chimeric antibody c. 225, alone and in combinations with Cisplatin.* *J. Clin. Oncol.* 2000; 18: 904-914.
22. Kelley M, Linoila RI, Avis IL, et al. *Antitumor activity of a monoclonal antibody directd against gastrin-releasing peptide, in patients with lung Cancer.* *Chest:* 1997; 112: 256-261.
23. Cortes-Funes H, Gómez C, Rosell R, et al. *Epidermal growth factor receptor activating mutations in spanish Gefitinib – Treated non small – cell lung cáncer patients.* *Ann. Oncol.* 2005; 16: 1081-1086.
24. Field JK, Bambrilla C, Caporaro N, et al. *Consensus Statement from the second International lung Cancer Molecular biomarkers workshop. A European Strategy for developing lung cancer olecular diagnostic in high risk populations.* *Int. J. Oncol.* 2002; 21: 369-373.