

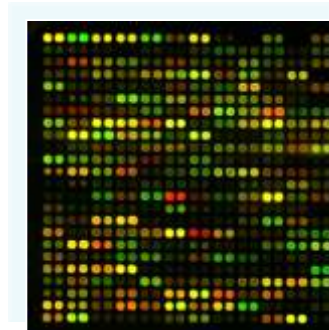
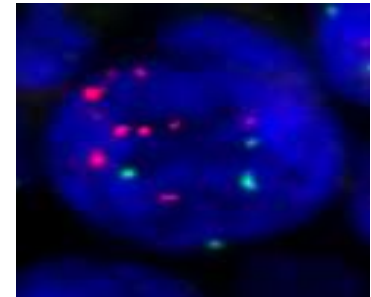
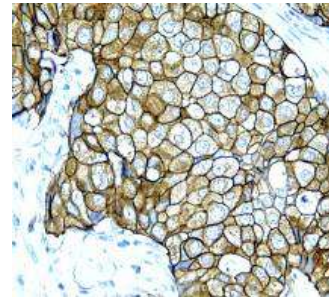
El Oncólogo Médico y los Biomarcadores

H. Cortés–Funes
Servicio Oncología Médica

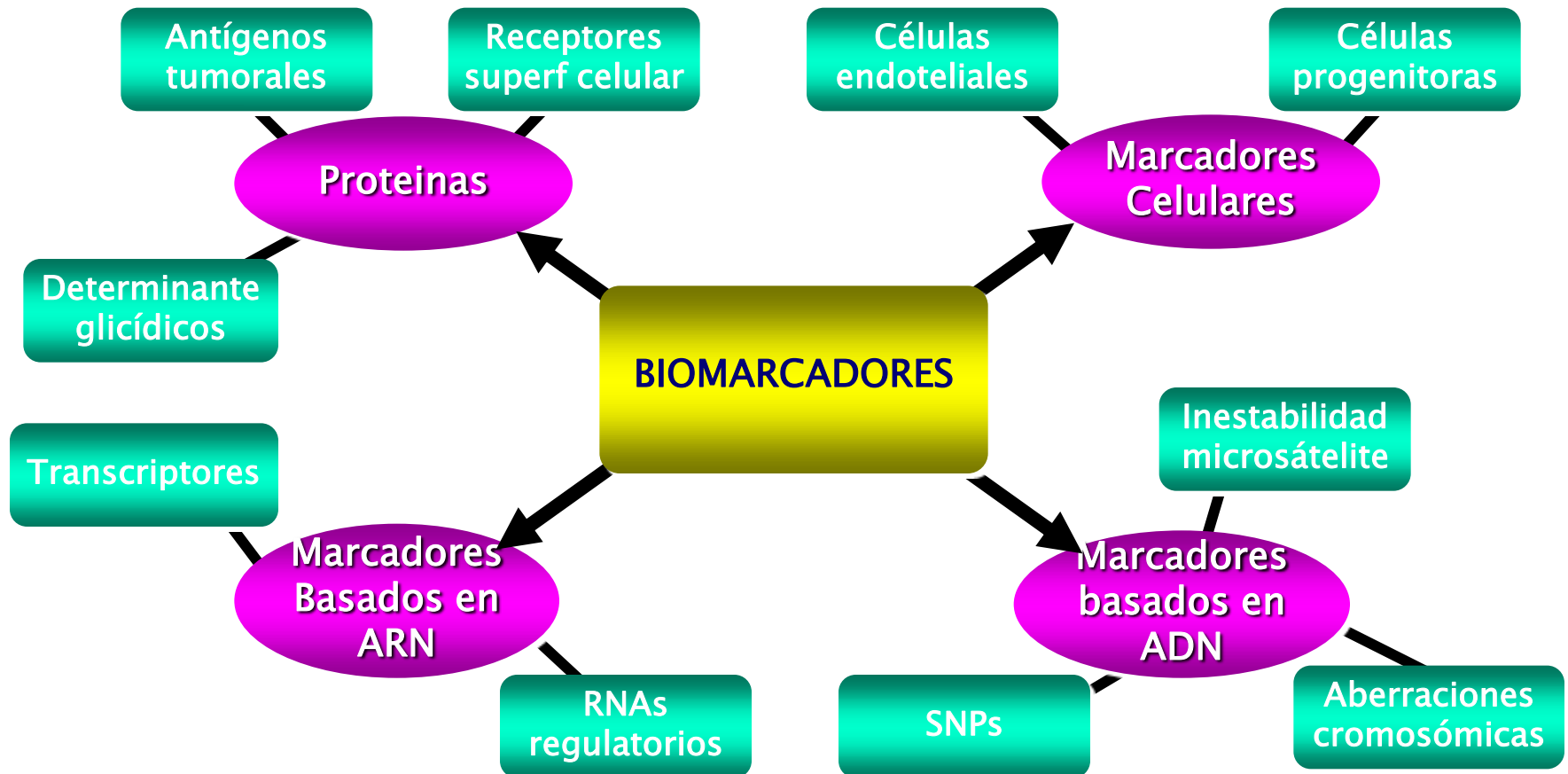
XXV Congreso de la Sociedad Española de Anatomía Patológica
Zaragoza, 20 de mayo de 2011

Biomarcador

- Es un elemento indicador de un proceso biológico normal, patológico, o de respuesta a una intervención terapéutica o de otro tipo.
- Pueden ser ácidos nucleicos, proteínas, o metabolitos de características medibles (del ADN, el ARN, etc.)
- Mediante diversas técnicas:
 - Inmunohistoquímica
 - Hibridación in situ
 - Microarrays
 - Amplificación de ADN (PCR)
 - Secuenciación



En la clinica habitual pueden evaluarse muchos tipos de Biomarcadores



- Dada la posibilidad de numerosos y diferentes biomarcadores, su identificación toma tiempo

Tipos de Biomarcadores

Pronosticos

Provee informacion sobre los resultados independientemente del tratamiento empleado

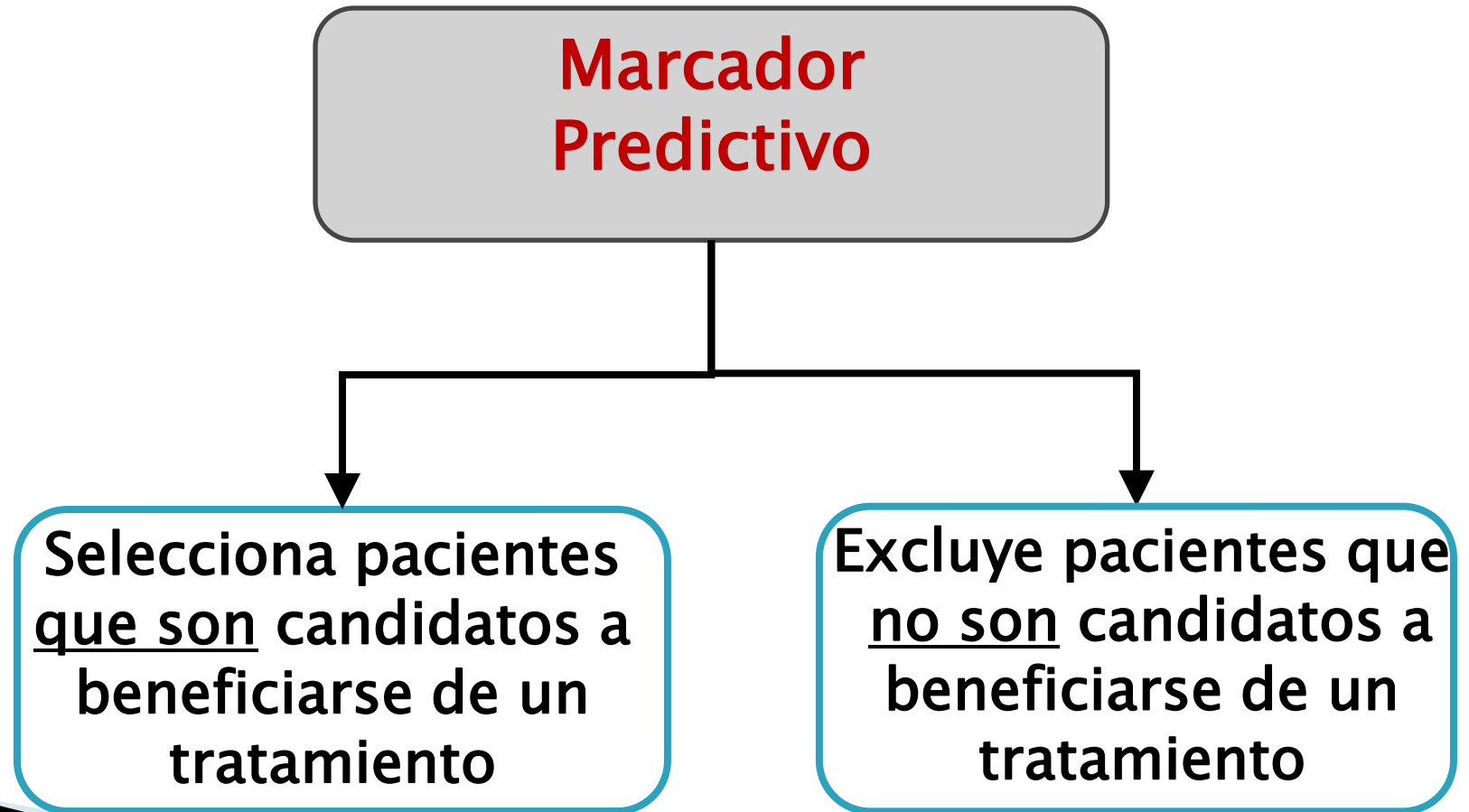
Predictivos

Provee informacion de los resultados en relación a un tratamiento específico

Muchos biomarcadores poseen ambos valores predictivos y pronosticos

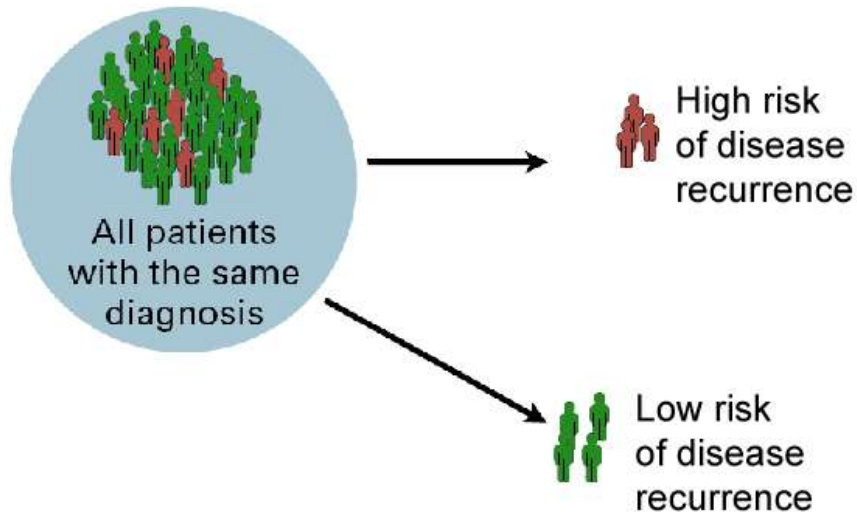
- ▶ Se requieren estudios controlados o meta-análisis para determinar la contribución pronostica y predictiva hecha por un determinado marcador
- ▶ Los Marcadores Pronosticos no colaboran en los tratamientos individualizados

Como pueden guiar la practica clinica los marcadores predictivos ?



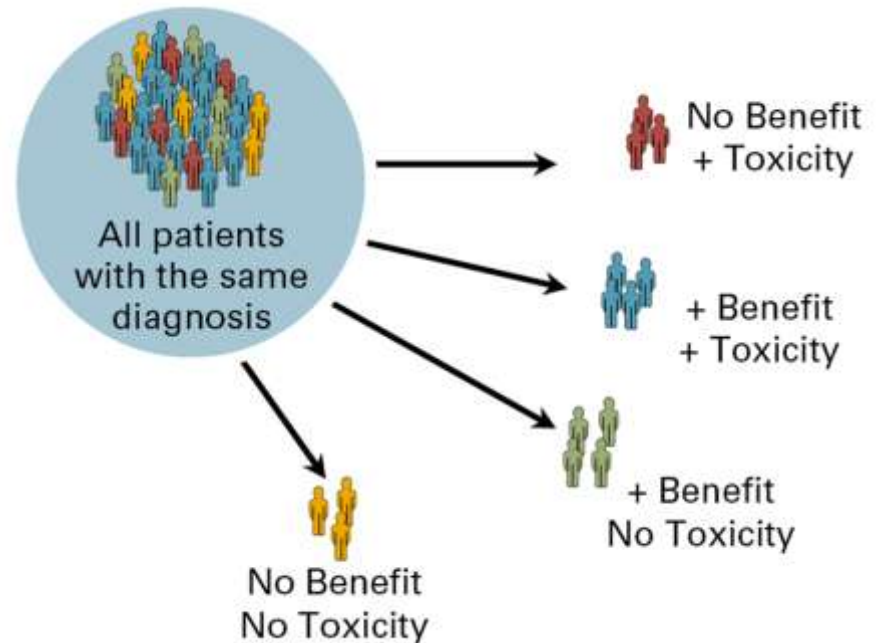
Marcadores Pronosticos y Predictivo usados en el manejo terapéutico

Marcadores Pronosticos (riesgo de recurrencia)



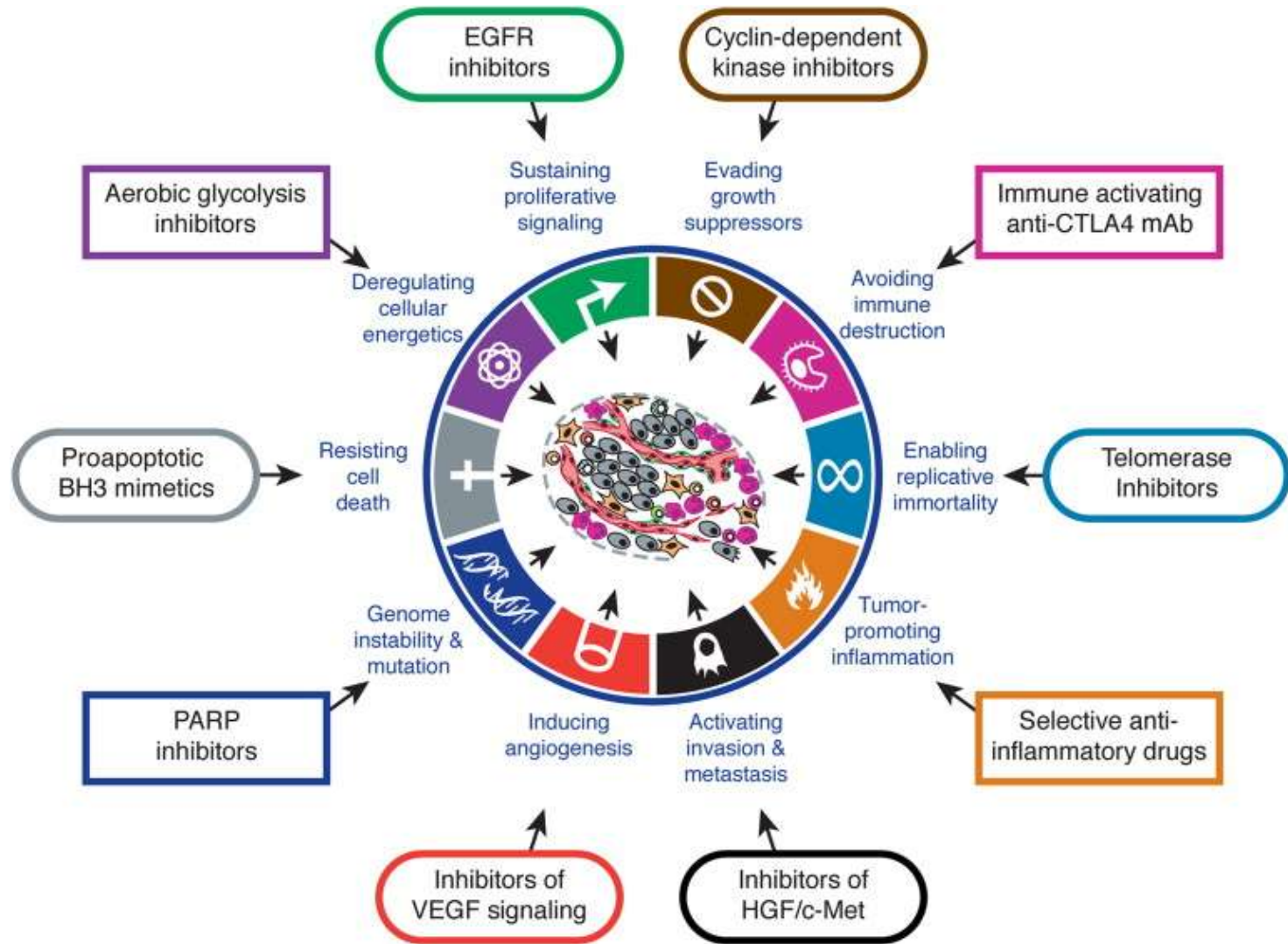
Estos marcadores pueden utilizarse para estimar el riesgo de recurrencia de la enfermedad

Marcadores Predictivos (beneficio terapéutico)



Estos marcadores pueden utilizarse para predecir el beneficio del tratamiento

Terapias dirigidas en Cancer



Biomarcadores y Tratamientos en Oncología

TUMOR	Marcador	Tratamiento	Observación
LMC	c-kit	<i>Imatinib</i>	Resultados superiores al TAMO. Alto índice de RC duraderas
LNH	CD 20	<i>Retuximab</i>	Incrementa las respuestas y su duración. Retrasa las recaídas
GIST	c-kit / PDGFR	<i>Imatinib</i> <i>Neratinib</i>	Reemplaza la cirugía. Produce RC mantenidas. Evita recaídas
Cáncer de Mama	HER 2	<i>Trastuzumab</i> <i>Pertuzumab</i> <i>Lapatinib</i> <i>Neratinib</i>	Incrementa la SG y SLP en enfermedad metastasica. Retrasa o evita recaídas en adyuvancia
Cáncer Colorectal (CCR)	K-RAS	<i>Cetuximab</i> <i>Panitumumab</i>	Incrementa SG y SLP en enfermedad metastasica. Selecciona pacientes
Cáncer de Pulmón	EGFR ALK	<i>Erlotinib</i> <i>Gefitinib</i> <i>Crizotinib</i>	Superior eficacia a la QT Logra remisiones prolongadas. Retrasa recaídas

Biomarcadores en Carcinoma Colorectal avanzado

Predictivos

Modulators of EGFR activity:

***KRAS* status**

BRAF status

PTEN expression

PI3K status

Epiregulin levels

Amphiregulin levels

Others:

Topo1 activity for CPT-11

ERCC1 for oxaliplatin

Pronosticos

Microvessel density

VEGF expression

CD133 expression

IL-6 and IL-8 levels

Serum Tie-2 receptor levels

Angiopoietin-2 expression

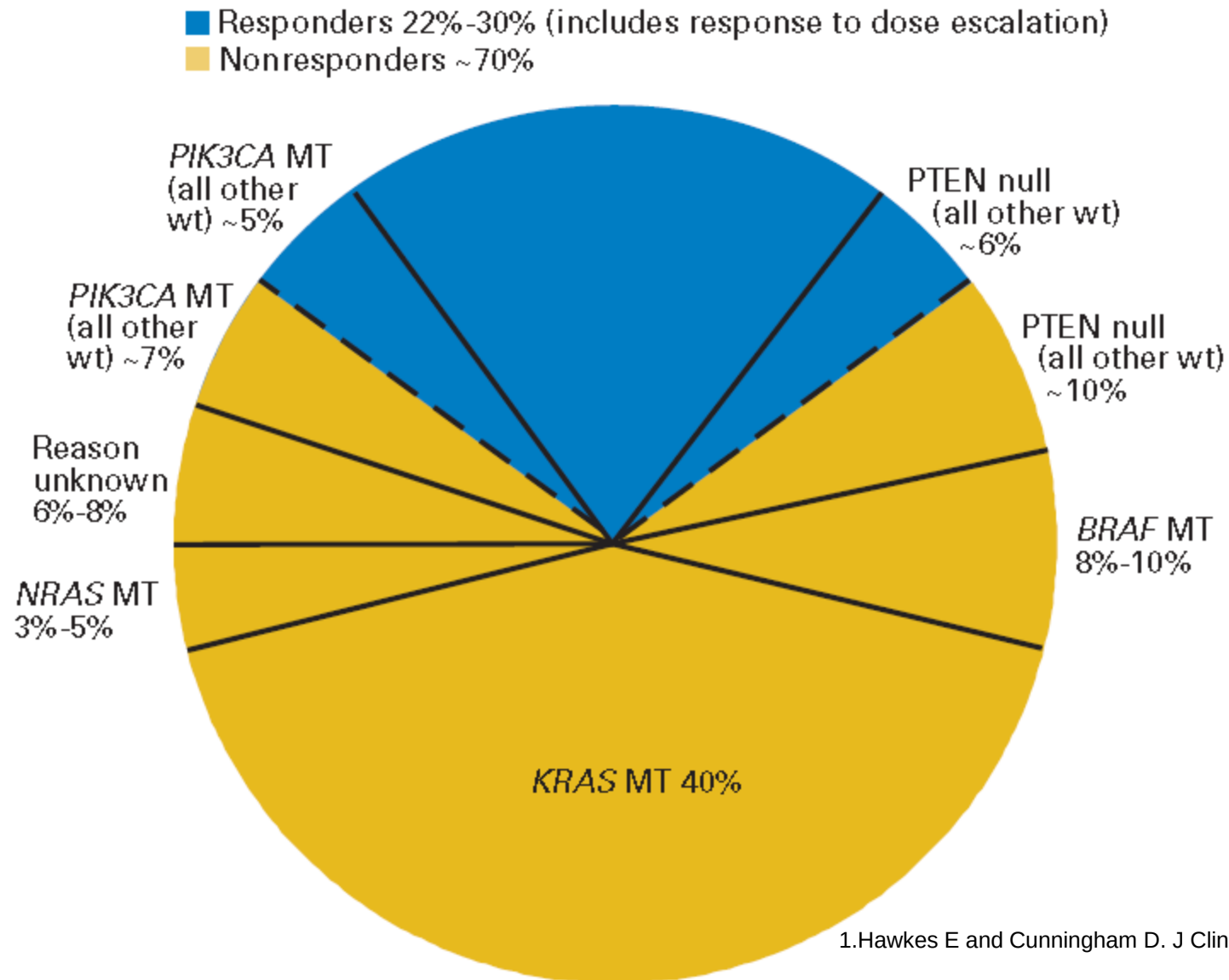
CRC = colorectal cancer
EGFR = epidermal growth factor receptor
VEGF = vascular endothelial growth factor
IL = interleukin

Bokemeyer, et al. JCO 2009
Chung, et al. Anticancer Res 2006
Chung, et al. J Surg Oncol 2006
Di Nicolantonio, et al. JCO 2008
Loupakis, et al. JCO 2008
Sessa, et al. Nat Clin Pract Oncol 2006

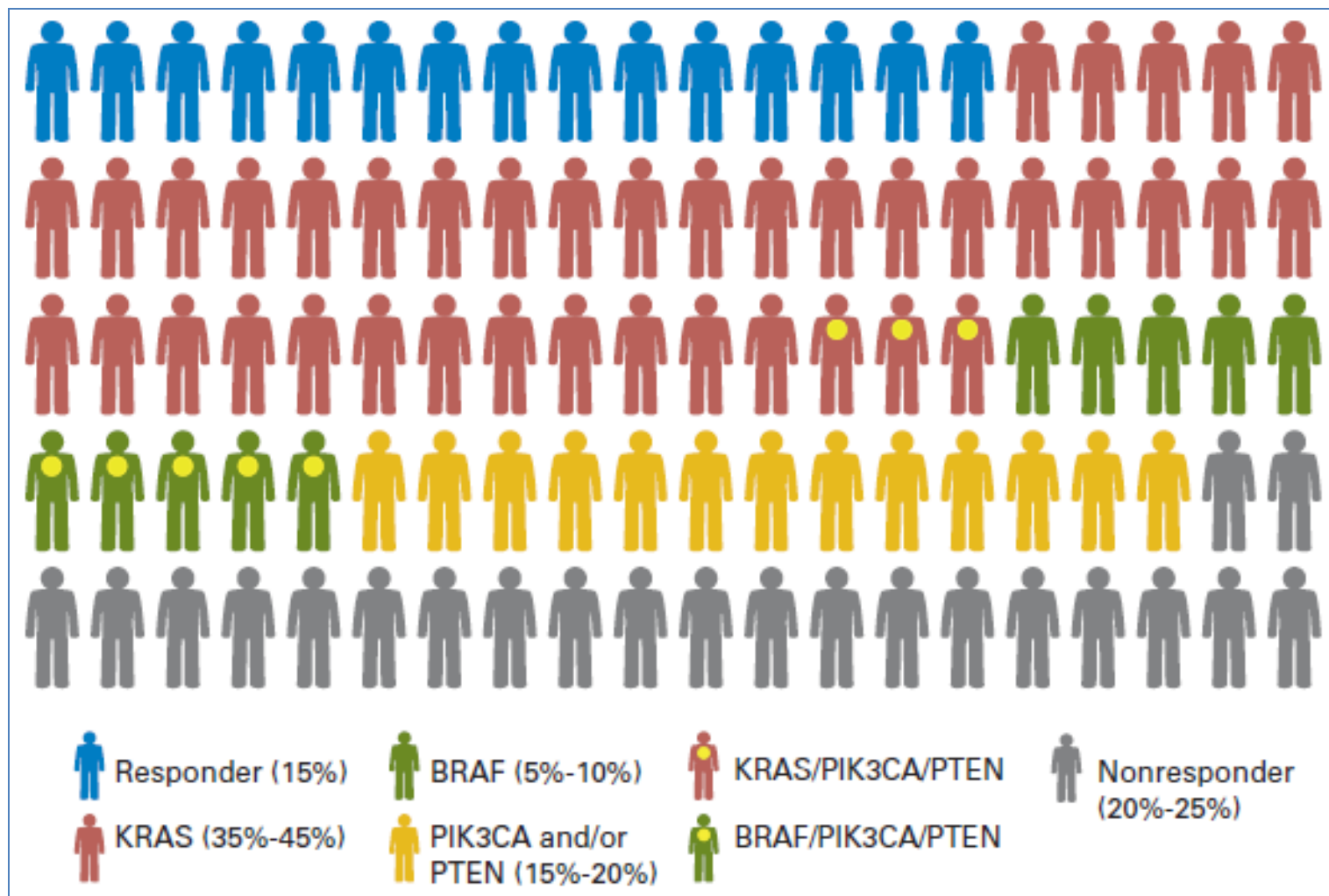
Pacientes con CCR con tumores *KRAS* mutados no se benefician de tratamientos con Anticuerpos Monoclonales antiEGFR (*Cetuximab* y *Panitumumab*)

	Cetuximab	Cetuximab	Panitumumab	Panitumumab
	Mutated	Wild Type	Mutated	Wild Type
Nº	24 (27%)	65	84 (40%)	124
PR Rate	0%	40%	0%	17%
PFS	2.3 mo	7.2 mo	1.7 mo	2.8 mo
OS	10 mo	14 mo	5 mo	8 mo

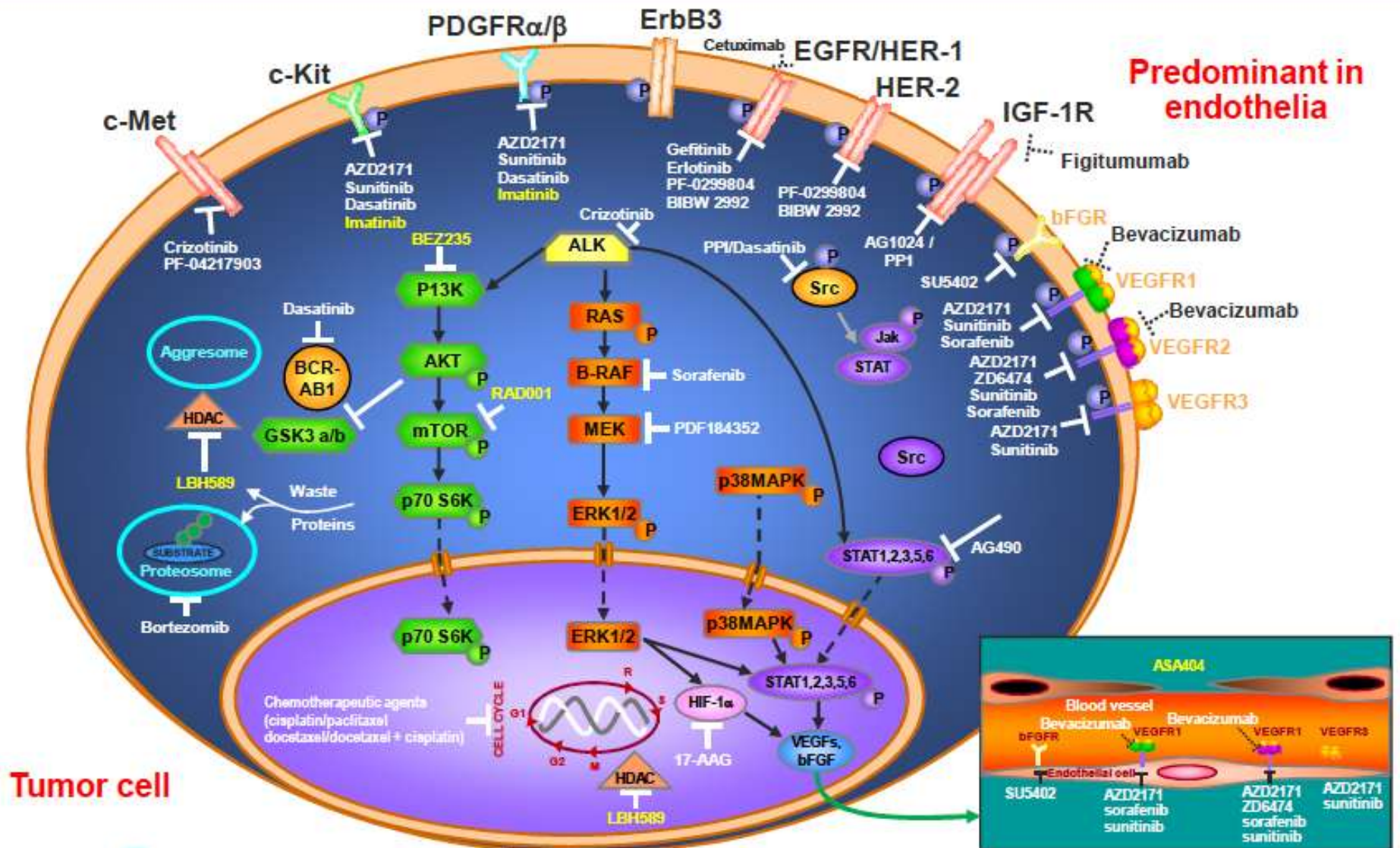
Relación entre Biomarcadores y Respuesta a los AcMc anti EGFR



La Individualización de los Tratamientos es obligada



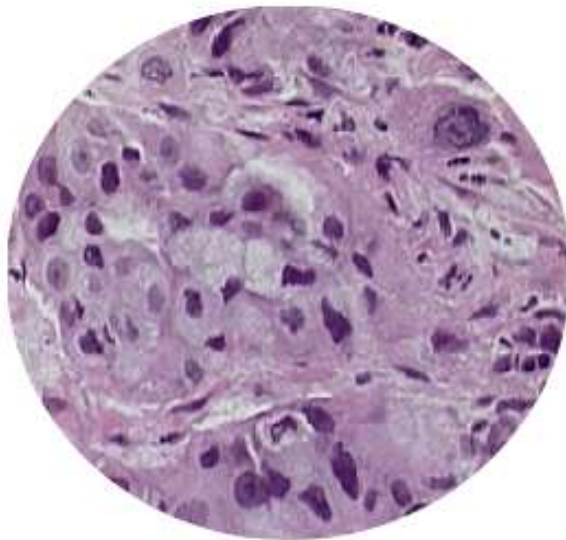
Dianas Moleculares en Carcinoma No Microcitico de Pulmón



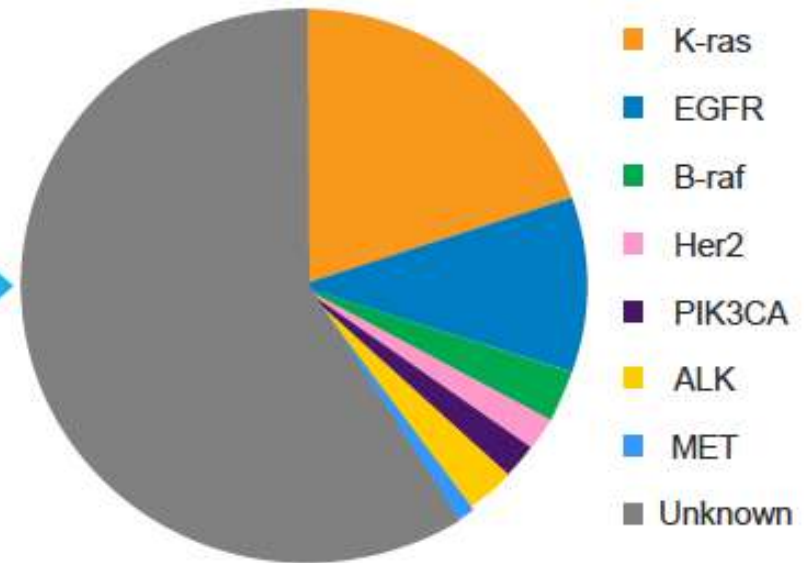
Evolución diagnóstica del Adenocarcinoma de Pulmón provocada por los Marcadores Moleculares

Adenocarcinoma 1999
Histology-driven selection

Adenocarcinoma 2010
Targeting oncogenic drivers



Squamous 40-45%
Adenoca. 30%
Large cell 10%
Oat cell 10-15%



Adenocarcinoma 50-55%

Figure: Massachusetts General Hospital, data on file
Horn L & Pao W. *J Clin Oncol.* 2009;26:4232-5

“Variabilidad Genetica”

Fármacos antiguos (quimioterapia) —————> Fármacos actuales (terapia dirigida)

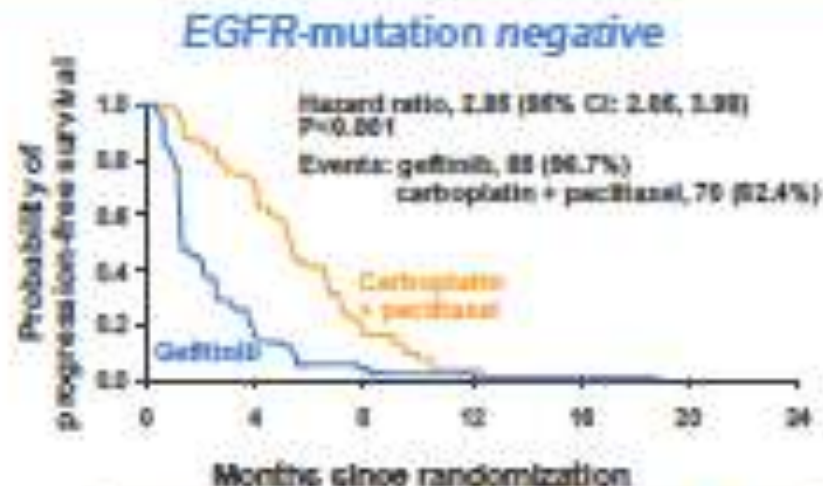
Las Características Moleculares en CNMP pueden predecir la respuesta o la resistencia a terapias dirigidas

Molecular aberration	Frequency in NSCLC (%)	Comment
EGFR mutation	10–16.6	Indicates sensitivity to EGFR inhibitors
EGFR amplification	30.8–59.2	May be associated with response to EGFR inhibitors
ALK fusion gene	3–5*	Indicates sensitivity to ALK inhibitors (e.g. crizotinib)
KRAS mutation	19–21	Usually in smokers Associated with poor prognosis irrespective of therapy Conflicting data with respect to resistance to EGFR inhibitors
PIK3CA mutation	2	May be involved in EGFR resistance
PIK3CA amplification	12–17.1	May be involved in EGFR resistance
MET mutation	12–14	Contributes to EGFR resistance
MET amplification	54†	Contributes to EGFR resistance

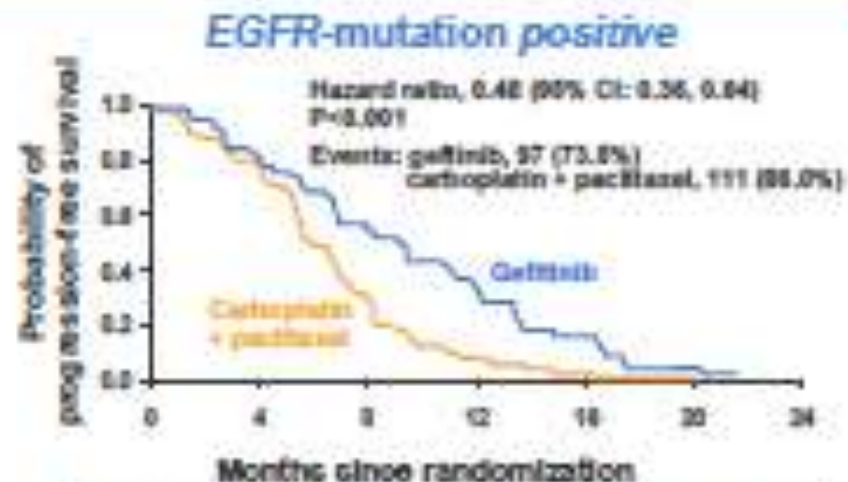
KRAS, GTPase *KRAS*; MET, hepatocyte growth factor receptor;
 PIK3CA, phosphatidylinositol 3-kinase p110 alpha catalytic subunit isoform
 Janku F, et al. *Nat Rev Clin Oncol*. 2010;7: 401–414

Pacientes no tratados previamente (1ª línea) vs QT convencional

Gefitinib significantly better in EGFR mutant disease



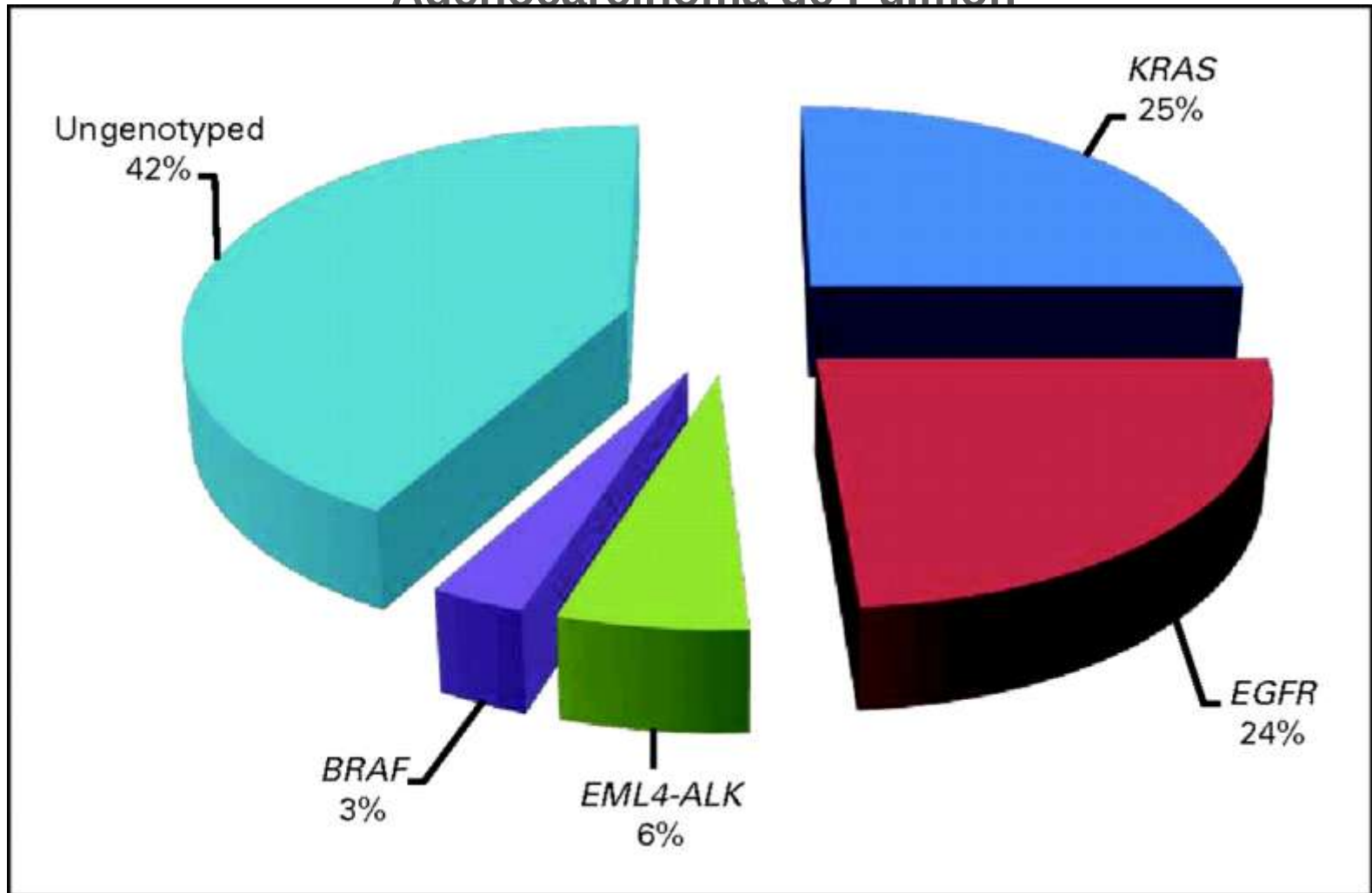
Chemo superior to gefitinib in mutation-negative disease



Gefitinib superior to chemo in EGFR-mutant disease

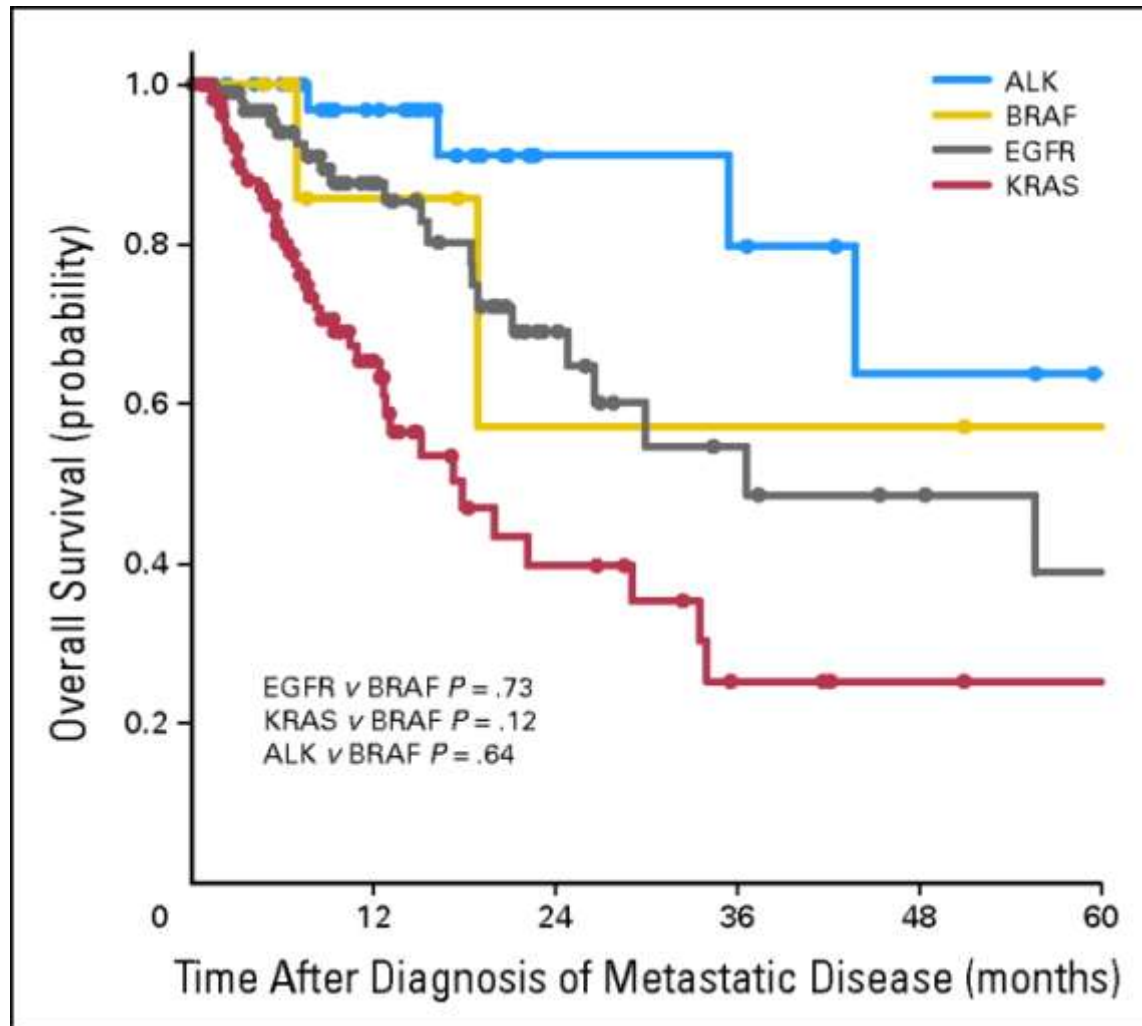
- Only 60% of phenotypically selected patients harbored the *EGFR* mutation
- Patients positive for *EGFR* mutation had substantial benefit
 - HR 0.48; PFS +3.2 months
- Patients negative for mutation did substantially better in control arm
 - HR 2.85 (favored chemotherapy)

Frecuencia relativa de mutaciones en pacientes con Adenocarcinoma de Pulmón

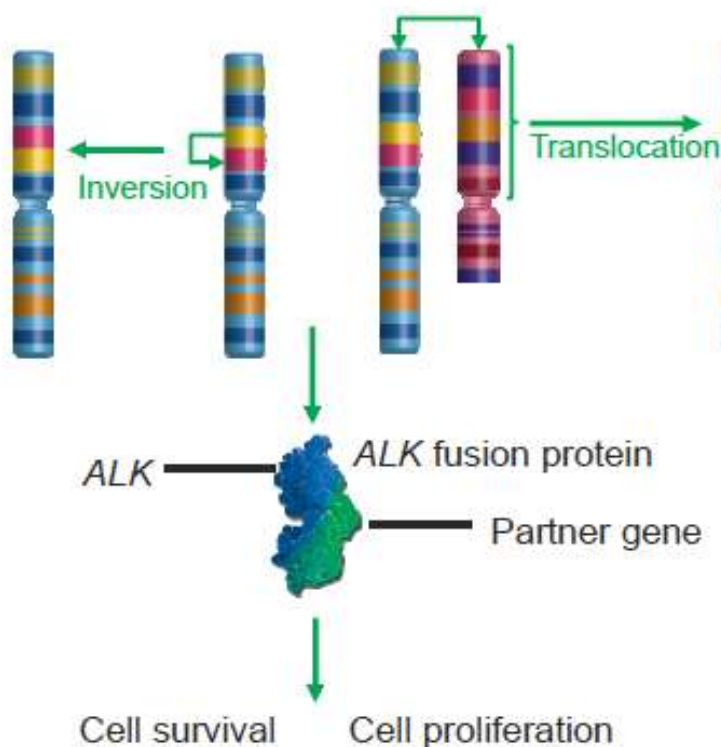


Pacientes con Adenocarcinomas de Pulmón Estadios IIB/IV, con mutaciones *ALK*, *BRAF*; *EGFR* & *KRAS*

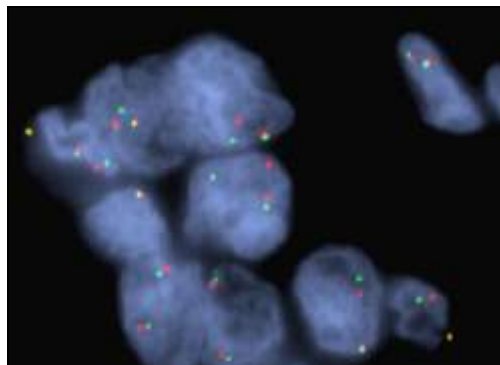
Supervivencia Global



EML4-ALK fusion gene



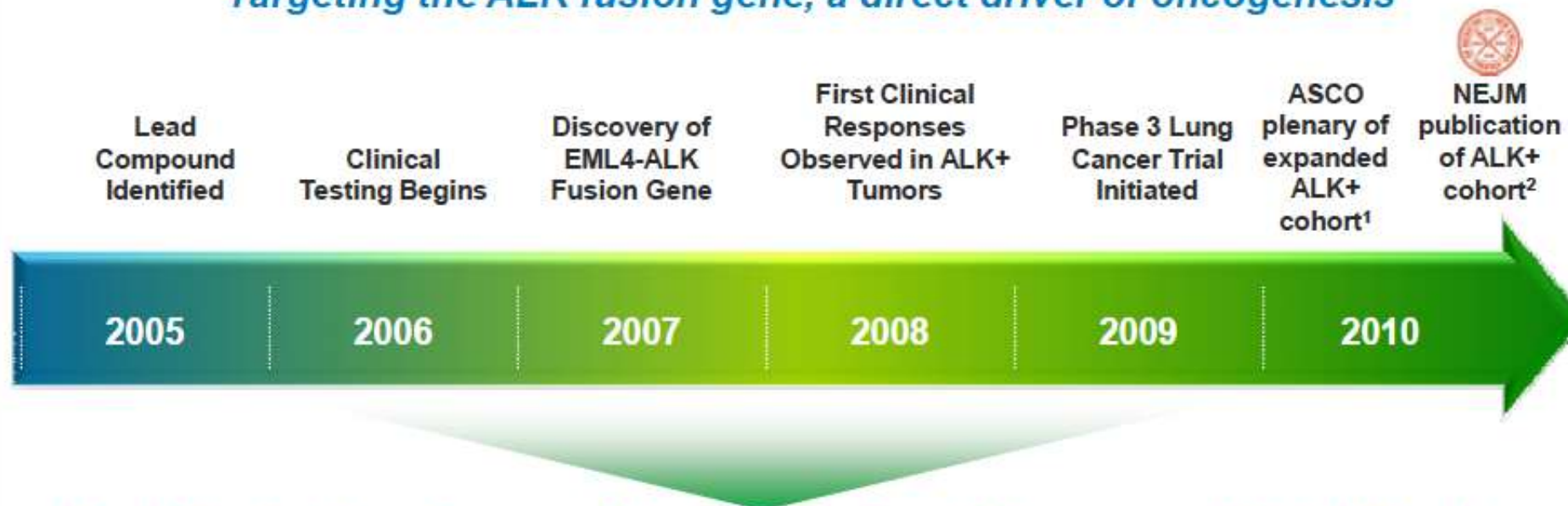
- *EML4-ALK* fusion gene identified as a key driver of oncogenesis in a subset of NSCLC patients¹
- *ALK* fusion gene results in formation of cytoplasmic chimeric proteins with constitutive kinase activity¹
- Rarer fusion partners for *ALK* such as *KIF5B* and *TFG* have also been reported in NSCLC²
- *The ALK* fusion gene appears to be a distinct NSCLC molecular subset susceptible to targeted inhibition



1. Soda M, et al. *Nature* 2007;448:561–6
2. Takeuchi K, et al. *Clin Cancer Res* 2009;15:3143–9

Crizotinib: Pathway from Compound Identification to Discovery of ALK Target and Clinical Results

*Crizotinib (PF-02341066) Scientific Breakthrough:
Targeting the ALK fusion gene, a direct driver of oncogenesis*

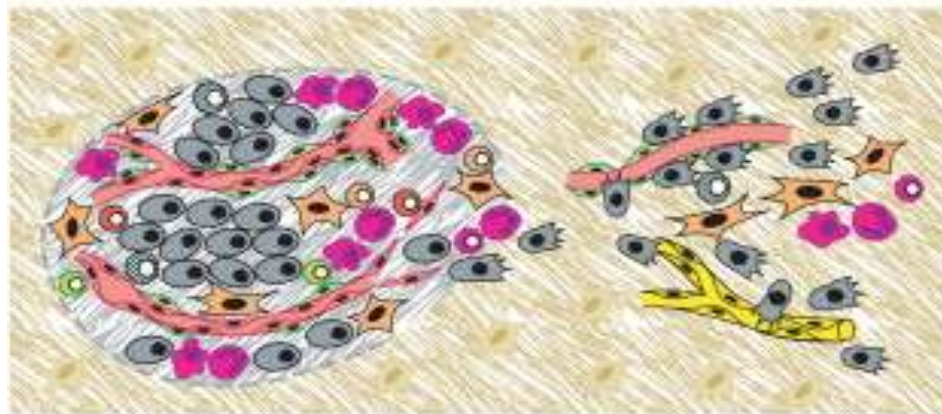
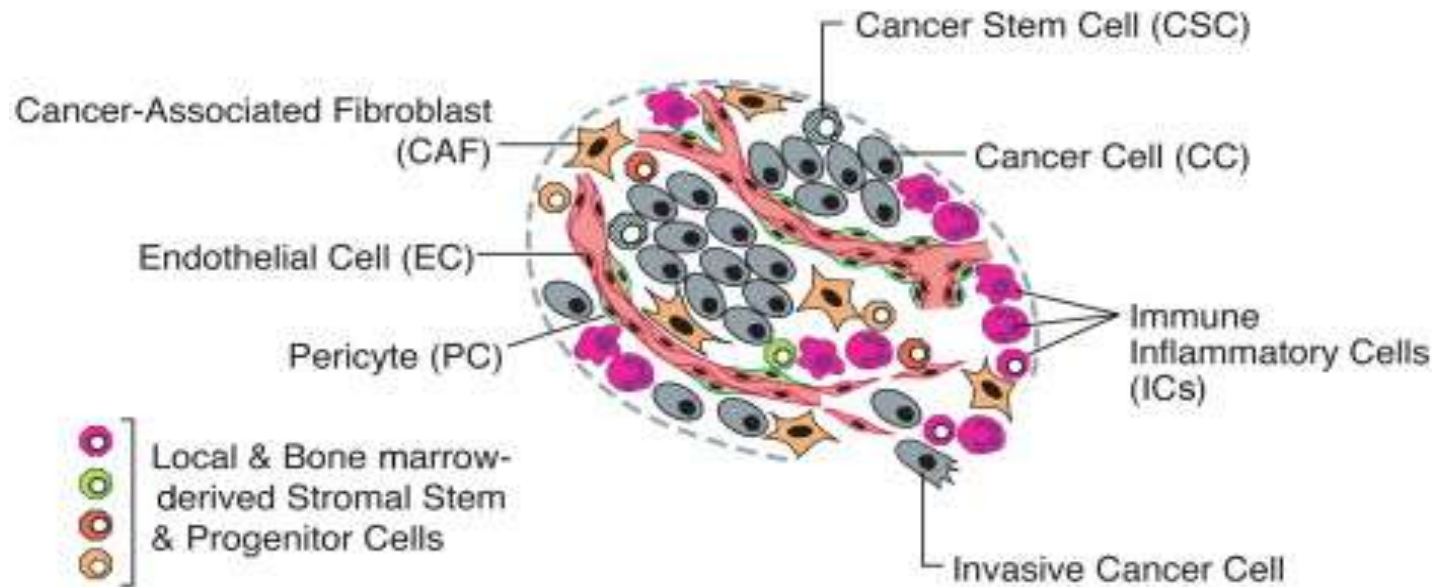


Rapid Timeline from Compound Identification, Target Discovery and Clinical Results

Clinical Results to Date

- Objective response rate = 56%³
- Disease control rate (CR+PR+SD) = 88%³
- Median duration of response = 36.3 weeks^{3*}
- Median PFS = 9.2 months^{†3}

Composición del entramado celular de los tumores sólidos y su micro-entorno (estroma)



Core of Primary Tumor microenvironment



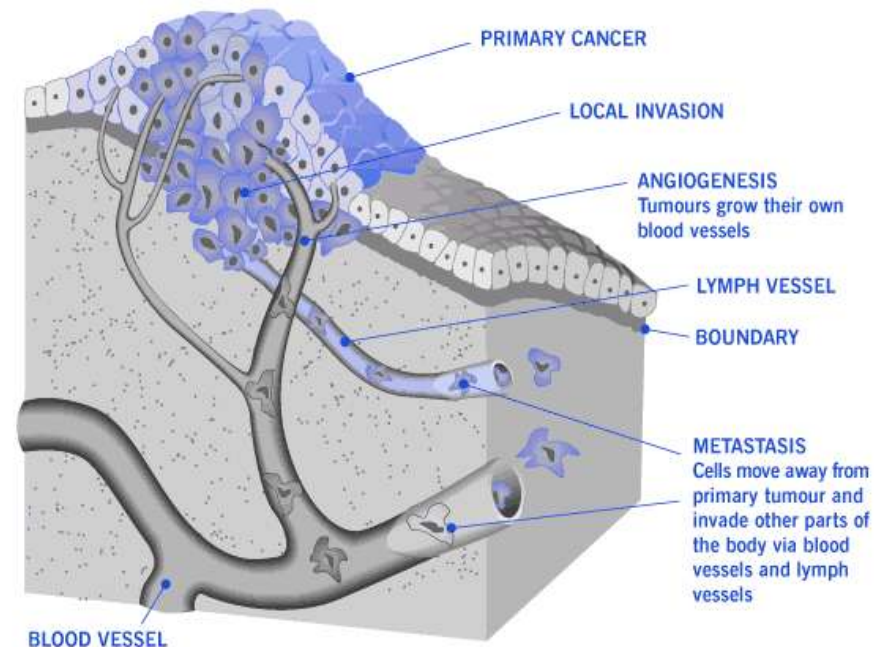
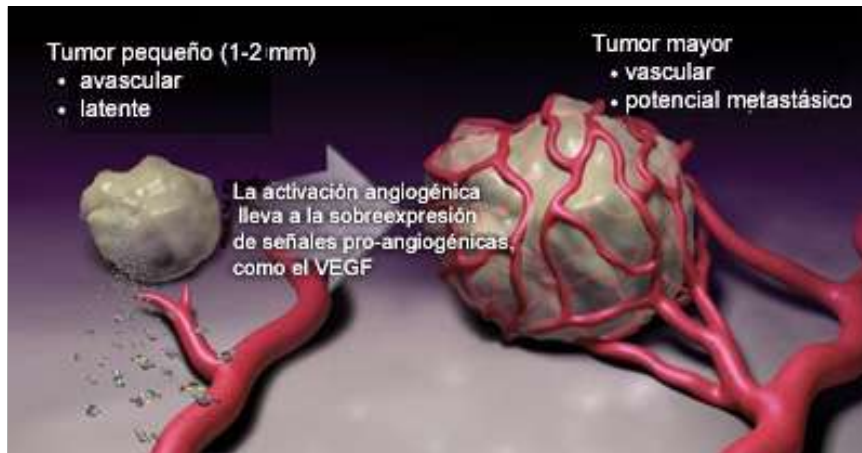
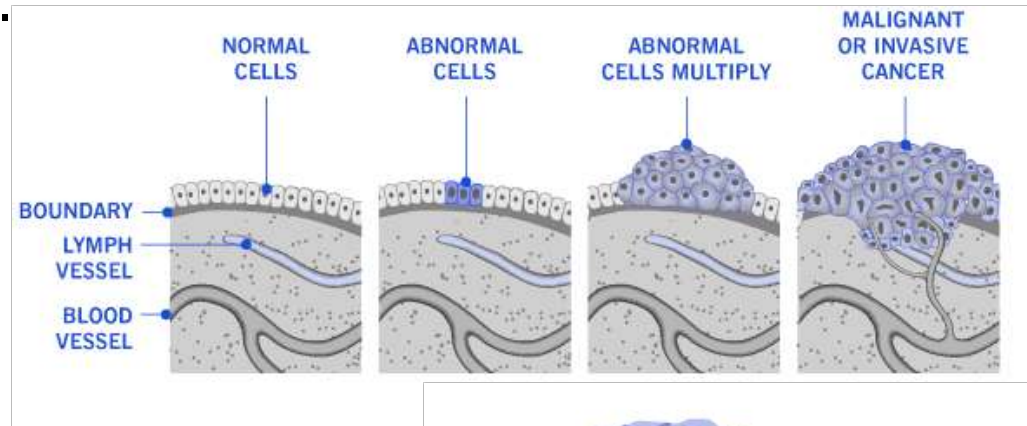
Invasive Tumor microenvironment



Metastatic Tumor microenvironment

Células TumORAles Circulantes (CTCs)

- ❖ En pacientes mayores de 45 años, >90% de los tumores son de origen epitelial.



Laboratorio de Patología Oncológica Molecular

(Servicios Anatomía Patológica y Oncología Médica)

- Dispone de una amplia cartera de servicios para detección de marcadores con orientación terapéutica que permite tratamientos individualizados
 - Inmunohistoquímica (IHC): dispone de más de 100 anticuerpos de empleo asistencial
 - Hibridización in situ (FISH): HER2, bcr/abl; t-1p/19q; EM4/ALK
 - Determinaciones de mutaciones por PCR a tiempo real: EGFR; KRAS; BRAF; c-kit; PDGFR
 - Secuenciación directa: EGFR; BRCA1/BRCA2
 - Células Tumorales : CTCs, Endoteliales
- Recibe muestras de mas de 25 Hospitales de la CAM (Oncosur)

Equipo (Veridex) para medir Células Tumoraes Circulantes

cellsave
preservative tube



Cell Search
Circulating Tumor Cell Kit



MagNest®



celltracks
analyzer II



Captura y Aislamiento: CellTracks Autoprep System



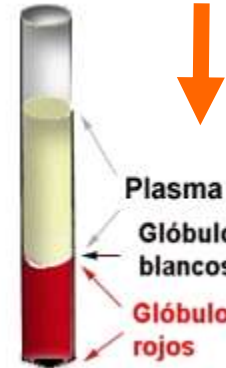
7,5 ml sangre



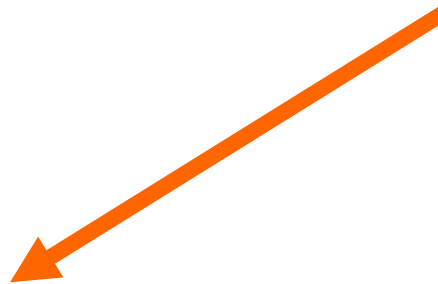
6,5 ml de Buffer



CENTRIFUGADO
10 minutos a 800g sin
frenos



Plasma
Glóbulos + CTCs
Glóbulos rojos



Lectura de Células: CellTracks Analyzer II

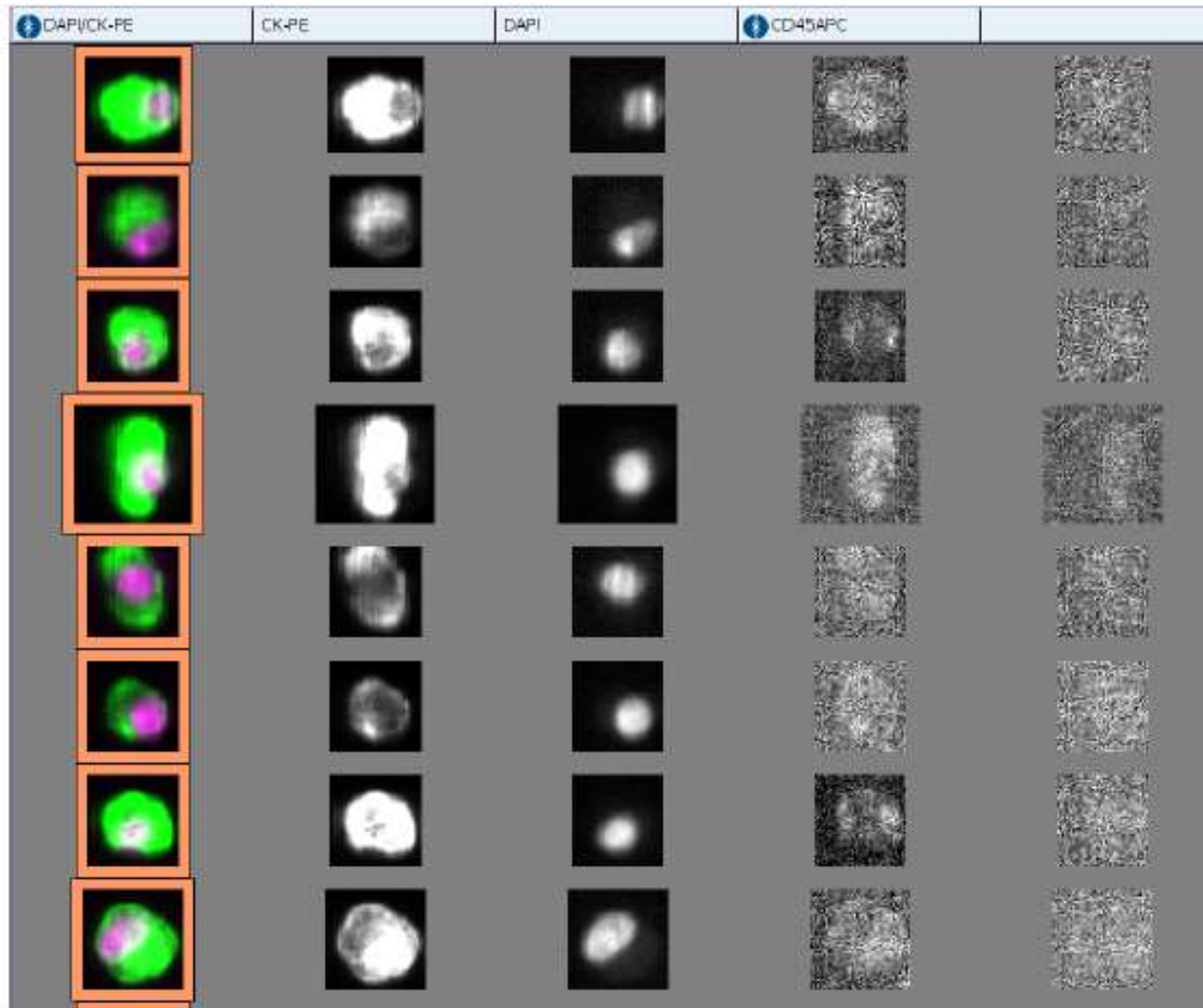


4 FILTROS DE LECTURA

- ❖ Filtro 1: **DAPI**.
- ❖ Filtro 2: Control –
- ❖ Filtro 3: **AntiCKs-PE**.
- ❖ Filtro 4: **AntiCD45-APC**.

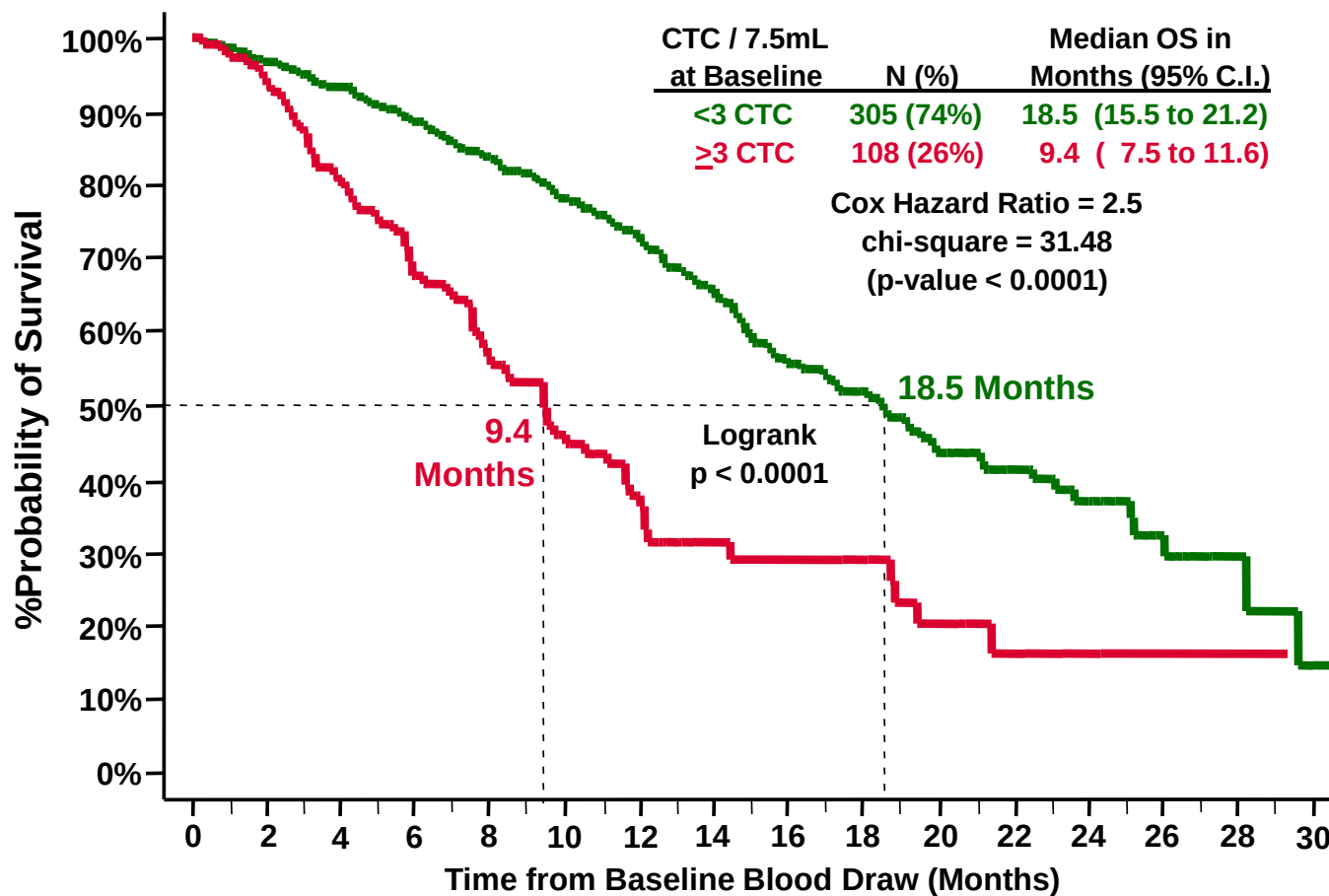


Interpretación: CellTracks Analyzer II

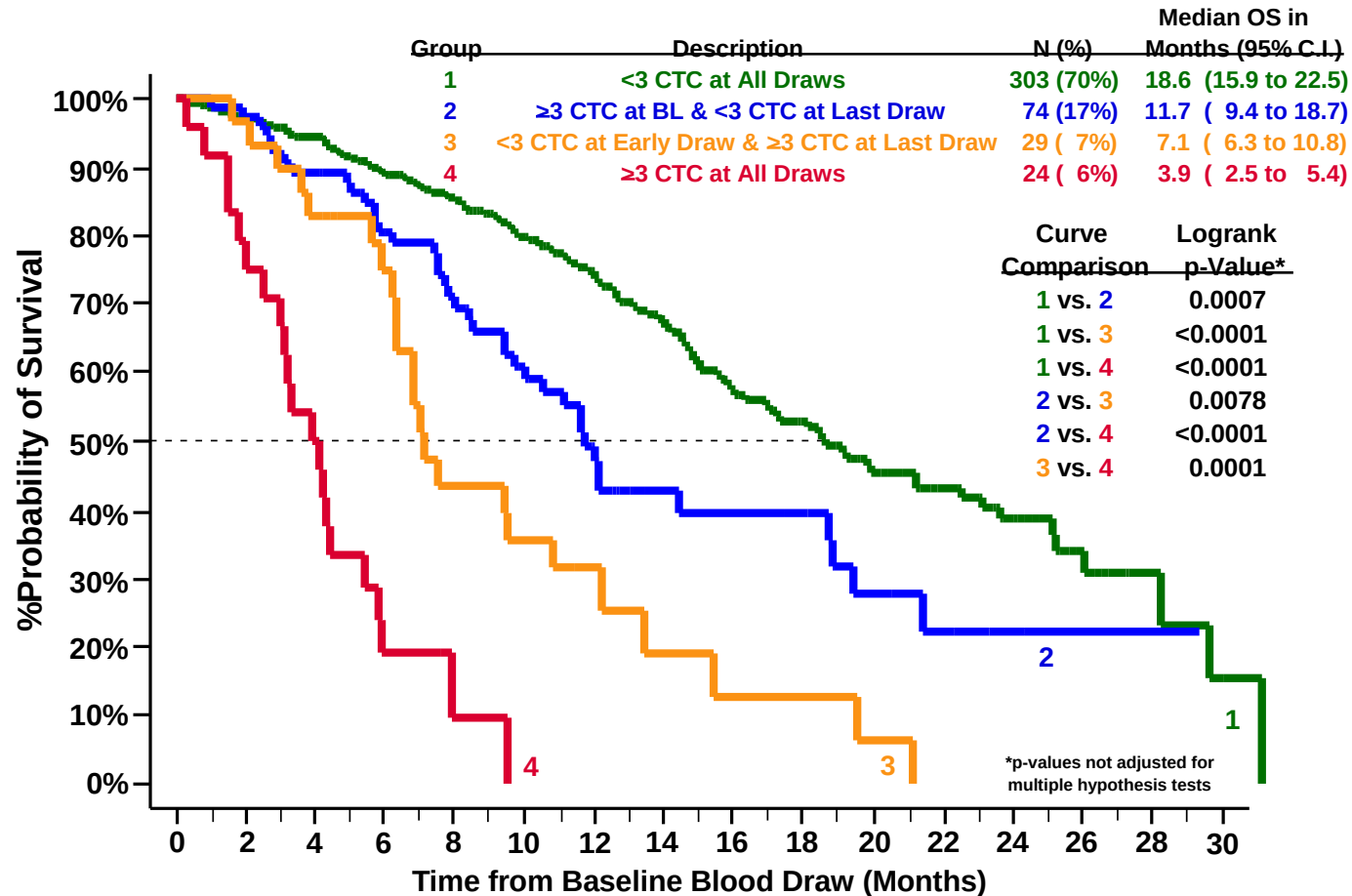


Carcinoma Colorectal Metastásico

Valor predictivo de la SG en pacientes con <3 o ≥ 3 CTC en situación basal (N=413)



Una reducción de las CTC por debajo de 3 despues del inicio del tratamiento predice SG prolongadas y por el contrario un incremento de las CTC por enciam de 3 predice SG mas cortas



*p-values not adjusted for multiple hypothesis tests

Problemática actual de los Biomarcadores

- Elevado costo, subvencionado por la Industria o por proyectos de investigación hasta su empleo a nivel asistencial.
- Estandarización de los determinaciones (control de calidad – SEAP?).
- Establecimiento de centros de referencia e intercambio.
- Propiedad de las muestras y disponibilidad para determinaciones ulteriores.

Pirosecuenciadores



GENOME SEQUENCER FLX SYSTEM ROCHE-454



SECUENCIADOR DE GENOMA ILLUMINA HiSeq 2000

Nuevo edificio de Investigación y Actividades Ambulatorias

