



WHOLE GENIX

INFORME DE SECUENCIACIÓN
DEL GENOMA TUMORAL



INFORME DE SECUENCIACIÓN DEL GENOMA TUMORAL

Identificación del paciente	xxx xxx xxx
Nombre del paciente	xxx xxx xxx
Fecha de nacimiento	xxx xxx xxx
Número de Biopsia	xxx xxx xxx
Doctor solicitante	xxx xxx xxx
Institución	xxx xxx xxx

Fecha de recepción de la muestra: ___/___/___

Fecha de emisión del informe: ___/___/___

Historia clínica

Hombre no fumador de 63 años con cáncer de pulmón no microcítico (CPNM) estadio IV. Se analiza biopsia de tumor primario incluida en parafina, con diagnóstico previo de adenocarcinoma y un grado de infiltración tumoral del 70%

Pruebas realizadas

Secuenciación completa del exoma ("profundidad media > 200x")

Nota: Para una explicación más detallada de los métodos, ver el anexo 2 del informe

Resultados Relevantes

GEN	ESTATUS	ALTERACIÓN	RELEVANCIA CLÍNICA
HER2 (ERBB2, EGFR2, Neu)	Mutado	Mutación p.E770_A771insAYV M	La mutación se asocia con respuesta a terapias anti-HER2 (refs 1-4). Existen ensayos clínicos abiertos para pacientes de CPNM con esta mutación

Resultados de otros Genes IMPORTANTES en CPNM

GEN	ESTATUS	COMENTARIOS
ALK	wt (sin fusiones)	--
BRAF	wt	--
CDKN2A	wt	--
EGFR	wt	--
KRAS	wt	--
FBXW7	Mutación p.W365*(inactivadora)	Se ha descrito respuesta a temsirolimus (un inhibidor de mTOR) en un caso de CPNM con mutación de FBXW7 (ref 5). Las mutaciones inactivadoras de FBXW7 también se han ligado a resistencia a fármacos antitubulina (taxanos) en CPNM (ref 6, 7).
FGFR1-4	wt (no amplificados)	--
MET	wt (no amplificado)	--
MTOR	wt	--
PIK3CA	wt	--
PTEN	wt	--
RET	wt (sin fusiones)	--
ROS	wt (sin fusiones)	--
STK11	wt	--
TP53	wt	La ausencia de mutaciones en TP53 se ha correlacionado con mejor supervivencia en CPNM estadios IIIB-IV (ref 8)

En el estudio se encontraron otras mutaciones de relevancia terapéutica incierta, que se detallan en el anexo 1.



Discusión

Resultados relevantes: Mutación activadora en HER2

La secuenciación del genoma tumoral ha determinado la presencia de una mutación en el oncogén HER2, también conocido como ErbB2 o Neu, que codifica para un receptor de membrana de tipo tirosina kinasa (RTK). En concreto, se trata de una inserción en marco de lectura (“in-frame”) de 12 pares de bases (4 aminoácidos) en el exón 20 de HER2, que provoca la activación constitutiva del receptor.

Los receptores de la familia ErbB activan diversas vías intracelulares de transducción, como las de MAPK, PIK/Akt, PKC o STAT3, que a su vez estimulan la proliferación celular e inhiben la apoptosis. Por ello, la actividad de los receptores ErbB esta estrictamente regulada en condiciones normales, y su desregulación (por mutación, amplificación u otros mecanismos) está asociada al desarrollo y progresión de muchos tipos de tumor. En el caso de HER2, está amplificado en un 30% de tumores de mama y mutado en frecuencias menores (normalmente inferiores al 5%) en otras neoplasias, entre ellas el CPNM. En todos estos casos el receptor HER2 constituye una diana terapéutica, bien de fármacos aprobados, bien en ensayo clínico. Las mutaciones en el gen HER2 son mutuamente excluyentes con mutaciones en otros genes de la familia (como EGFR) o en KRAS, algo que también se observa en este caso. El paciente tampoco presenta translocaciones en ningún gen relevante (ALK, RET, ROS).

En el estudio más extenso publicado hasta el momento, se detectaron mutaciones de HER2 en 65 de 3800 pacientes de CPNM (1.7%). La edad media de los pacientes con mutación era de 60 años, con una mayoría de mujeres (69%) y de no fumadores (52%). Todos los tumores eran adenocarcinomas, sin que la mutación estuviera representada en escamosos. Un total de 22 pacientes se trataron con terapias anti-HER2 en segunda línea (después de quimioterapia), la tasa de control de enfermedad (respuestas completas, parciales y estabilización) fue del 93% para trastuzumab (n = 15) y del 100% para afatinib (n = 3). La supervivencia mediana fue de 23 meses en los pacientes de estadio IV, significativamente superior a la mediana de supervivencia en CPNM avanzado.

Implicaciones Terapéuticas

Debido a la presencia de una mutación activadora en el gen HER2, resulta muy probable que el paciente pueda obtener un beneficio terapéutico de la administración de un fármaco anti-HER2, tanto en primera línea como en líneas subsiguientes. Aunque dichos fármacos aún no han recibido la aprobación por parte de las autoridades sanitarias, se puede solicitar su uso compasivo o reclutar el paciente en un ensayo clínico para CPNM con mutaciones en HER2. En España está actualmente abierto el PUMA-NER-5201, un estudio en fase II del fármaco neratinib en pacientes con tumores sólidos mutados para HER2 u otros miembros de la familia ErbB (el nombre oficial del estudio es “An open-label, phase 2 study of neratinib in patients with solid tumors with somatic human EGFR - EGFR, HER2, HER3- mutations or EGFR gene amplification”). Neratinib es un fármaco pan-inhibidor de receptores ErbB. En combinación con temsirolumus, ha demostrado ser activo contra CPNM con mutaciones en el gen HER2 en un ensayo fase I (ref 4).

Por otro lado, la ausencia de translocaciones con relevancia terapéutica o de mutaciones en el gen EGFR desaconseja la administración de fármacos contra las mismas (como crizotinib o erlotinib), al menos en primera línea. Finalmente, respecto a la mutación inactivadora de FBXW7 observada en el paciente, dos estudios (Refs 6, 7) indican que podría estar relacionada con la resistencia a fármacos antitubulina como los taxanos. Por ello, en el caso de que se le administrase quimioterapia al paciente, un régimen basado en platinos sería probablemente más adecuado al perfil genético del tumor.



ANEXO 1: OTRAS Mutaciones de significado Terapéutico INCIERTO

GEN	FUNCIÓN	MUTACIÓN
ADAMTS17	Metaloproteasa de matriz extracelular	p.R710Q
AICDA	Citidina desaminasa	p.R171C
AIFM3	Factor inductor de muerte celular programada (apoptosis)	p.R378*
CDH10	Proteína de adhesión celular	p.R472H
EPHA2	Receptor tirosina quinasa En carcinoma escamoso, algunas mutaciones de EPHA2 se han correlacionado con peor pronóstico. Su significado en adenocarcinomas es incierto.	p.147L
GK2	Glicerol quinasa. El metabolismo de glúcidos suele estar alterado en células tumorales.	p.R330C
KPNA2	Carioferina implicada en los intercambios núcleo-citoplasma	p.R30C
LAMA3	Laminina relacionada con la invasión y la metástasis. Se han descrito mutaciones en algunos tipos de tumores sólidos, pero se desconoce su significado	p.A433V
PLEC	Plectina. Implicada en la migración y las propiedades plásticas de las células	p.E343fs*88
PTPN5	Fosfatasa de proteína kinasas	p.D345E
STK24	Serina Treonina Kinasa 24	p.A134T
TEP1	Proteína asociada a telómeros	p.G1171E
WINT7A	Proteína de la vía de transducción Wnt/beta-catenina de efectos antitumorogénicos.	p.G285S



ANEXO 2: METODOLOGÍA

El DNA genómico se purificó a partir de tejido normal y tumoral con el kit de Qiagen para muestras de parafina y se verificó su calidad por espectrofotometría y electroforesis en gel de agarosa. El DNA genómico se utilizó para generar librerías, que se enriquecieron con el kit de Agilent para exones humanos (50 Mb). Las librerías se cuantificaron, normalizaron y validaron.

A continuación, se secuenciaron con la Plataforma “HiSeq” de Illumina, siguiendo las instrucciones del fabricante, para generar lecturas de 2 x 100 pb “paired-end”, que se alinearon con el genoma humano de referencia obteniendo un fichero BAM. Las variantes somáticas se analizaron e identificaron mediante diversas herramientas bioinformáticas. A posteriori mediante modelos biológicos-estadísticos, se hizo un cribaje final de los datos obteniendo la lista definitiva de alteraciones somáticas presentes en el tumor.

Finalmente, las dos alteraciones más relevantes (mutaciones de HER2 y FBXW7) que se validaron por PCR y secuenciación estándar (método de Sanger) en la muestra tumoral original.



Referencias

1. Mazières J et al. Lung cancer that harbors an HER2 mutation: epidemiologic characteristics and therapeutic perspectives. *J Clin Oncol.* 2013 Jun 1;31(16):1997-2003.
2. Landi L, Capuzzo F. HER2 and lung cancer *Expert Rev Anticancer Ther.* 2013 Oct;13(10):1219-28.
3. Rita RG et al. NSCLC & HER2, Between lights and shadows. *J Thorac Oncol.* 2014 Sep 22. [Epub ahead of print]
4. Gandhi L et al. Phase I study of neratinib in combination with temsirolimus in patients with human epidermal growth factor receptor 2-dependent and other solid tumors. *J Clin Oncol.* 2014 Jan 10;32(2):68-75
5. Villaruz LC, Socinski MA. Temsirolimus therapy in a patient with lung adenocarcinoma harboring an FBXW7 mutation. *Lung Cancer* 2014 Feb;83(2):300-1.
6. Wertz IE et al. Sensitivity to antitubulin chemotherapeutics is regulated by MCL1 and FBW7. *Nature* 2011 Mar 3;471(7336):110-4.
7. Yokobori T et al. FBXW7 mediates chemotherapeutic sensitivity and prognosis in NSCLCs. *Mol Cancer Res.* 2014 Jan;12(1):32-7.
8. Molina-Vila MA, Bertran-Alamillo J et al. Nondisruptive p53 mutations are associated with shorter survival in advanced non-small-cell lung cancer patients. *Clin Cancer Res.* 2014 Sep 1;20(17):4647-59