

EGFR en cáncer de pulmón

*Dr José Javier Gómez Román
Dpto Anatomía Patológica
Hospital Universitario Marqués de Valdecilla
Santander*



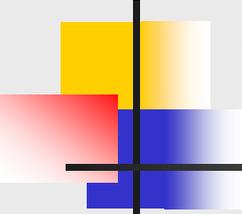
- Hay un kit diagnóstico
- Ese kit diagnóstico falla en algo
- ¿Qué es eso de la T790M?
- ¿Empiezo a hacerlo o no?
- Sale un nuevo kit al doble de precio
- Otra técnica en el mercado (pirosecuenciación)
- No saco casi nada de ADN de mis muestras...

Desde Septiembre a Mayo

8 reuniones sobre EGFR

Reunión tutorial MUTACIÓN DE *EGFR*:

Un reto en el diagnóstico
y tratamiento del CPNM



La impresión del patólogo

- ¿No nos querrán vender otra cosa nueva inservible?
- ¿Merece la pena tanto esfuerzo?
- Los oncólogos siempre están pidiendo cosas...
 - Además ellos mismos tampoco están convencidos
- Seguro que dentro de un año se ve que esto es una nueva “moda”
 - Como otras técnicas que pasaron y no se quedaron
- **Además no hay ni un euro en mi hospital y tengo que elegir entre dedicar esfuerzo a la molecular o a montar otras cosas que seguro me sacan de más líos.**

XXIV Congreso de la SEAP-DEAIP
XIX Congreso de la SEC

"Construyendo puentes"

20 a 23 de mayo de 2009
Sevilla



CONSOLIDANDO PUENTES

Doble dirección

SEOM
Sociedad Española
de Oncología Médica

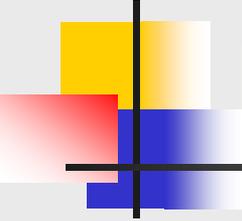
SEAP-IAP



SEPAF



2011
ZARAGOZA

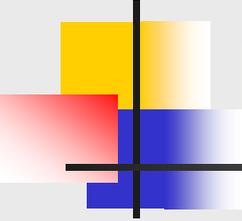


Proceso EGFR

Paciente con cáncer de pulmón

Determinación de EGFR

No Determinación de EGFR



Puntos a tratar

- Y ¿por qué?



La evidencia científica

The NEW ENGLAND JOURNAL of MEDICINE

ESTABLISHED IN 1812

MAY 20, 2004

VOL. 350 NO. 21

Activating Mutations in the Epidermal Growth Factor Receptor Underlying Responsiveness of Non-Small-Cell Lung Cancer to Gefitinib

Thomas J. Lynch, M.D., Daphne W. Bell, Ph.D., Raffaella Sordella, Ph.D., Sarada Gurubhagavatula, M.D., Ross A. Okimoto, B.S., Brian W. Brannigan, B.A., Patricia L. Harris, M.S., Sara M. Haserlat, B.A., Jeffrey G. Supko, Ph.D., Frank G. Haluska, M.D., Ph.D., David N. Louis, M.D., David C. Christiani, M.D., Jeff Settleman, Ph.D., and Daniel A. Haber, M.D., Ph.D.

EGF receptor gene mutations are common in cancers from "never smokers" and are associated with sensitivity of tumors to gefitinib and erlotinib

William Pao^{1,2*}, Vincent Miller^{1,3}, Maureen Zakowski³, Jennifer Doherty⁴, Katerina Politi⁴, Inderpal Singh¹, Bhuvanesh Singh¹, Robert Heelan^{5,6*}, Valerie Rusch¹, Lucinda Fulton^{1,7}, Elaine Mardis^{1,7}, Doris Kupfer^{1,7}, Mark Kris^{1,5}, and Harold Varmus¹

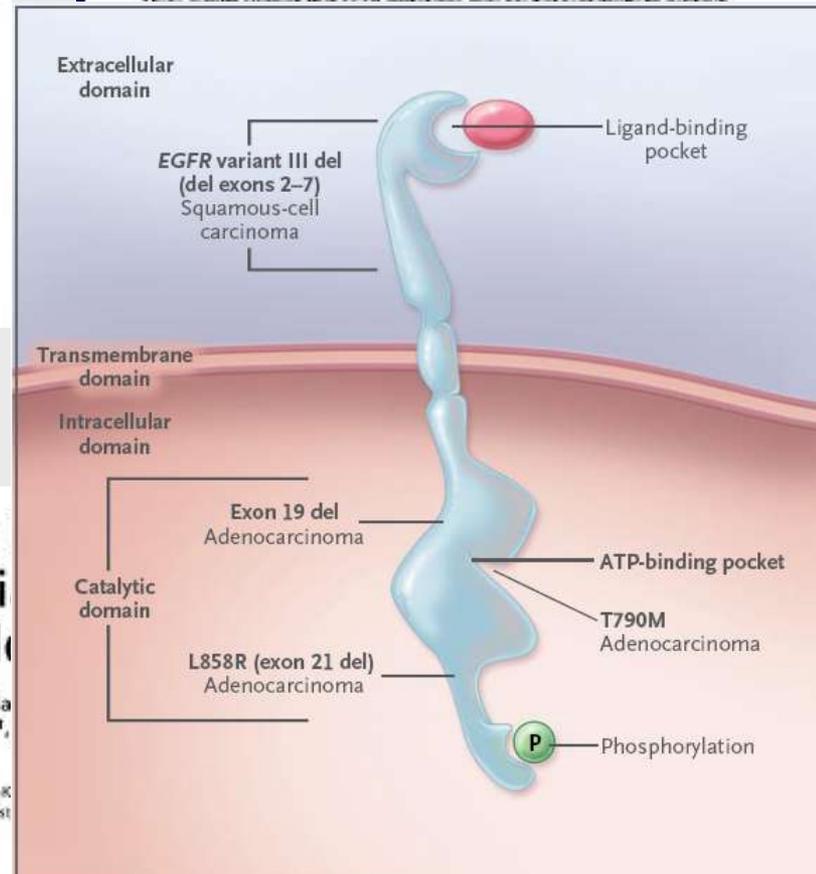
*Program in Cancer Biology and Genetics and Departments of ¹Medicine, ²Surgery, ³Pathology, and ^{4,5}Radiology, Memorial Sloan-Kettering Cancer Center, 1275 York Avenue, New York, NY 10021; and ^{6,7}Genome Sequencing Center, Washington University School of Medicine, 4444 Forest St. St. Louis, MO 63108

Contributed by Harold Varmus, July 19, 2004

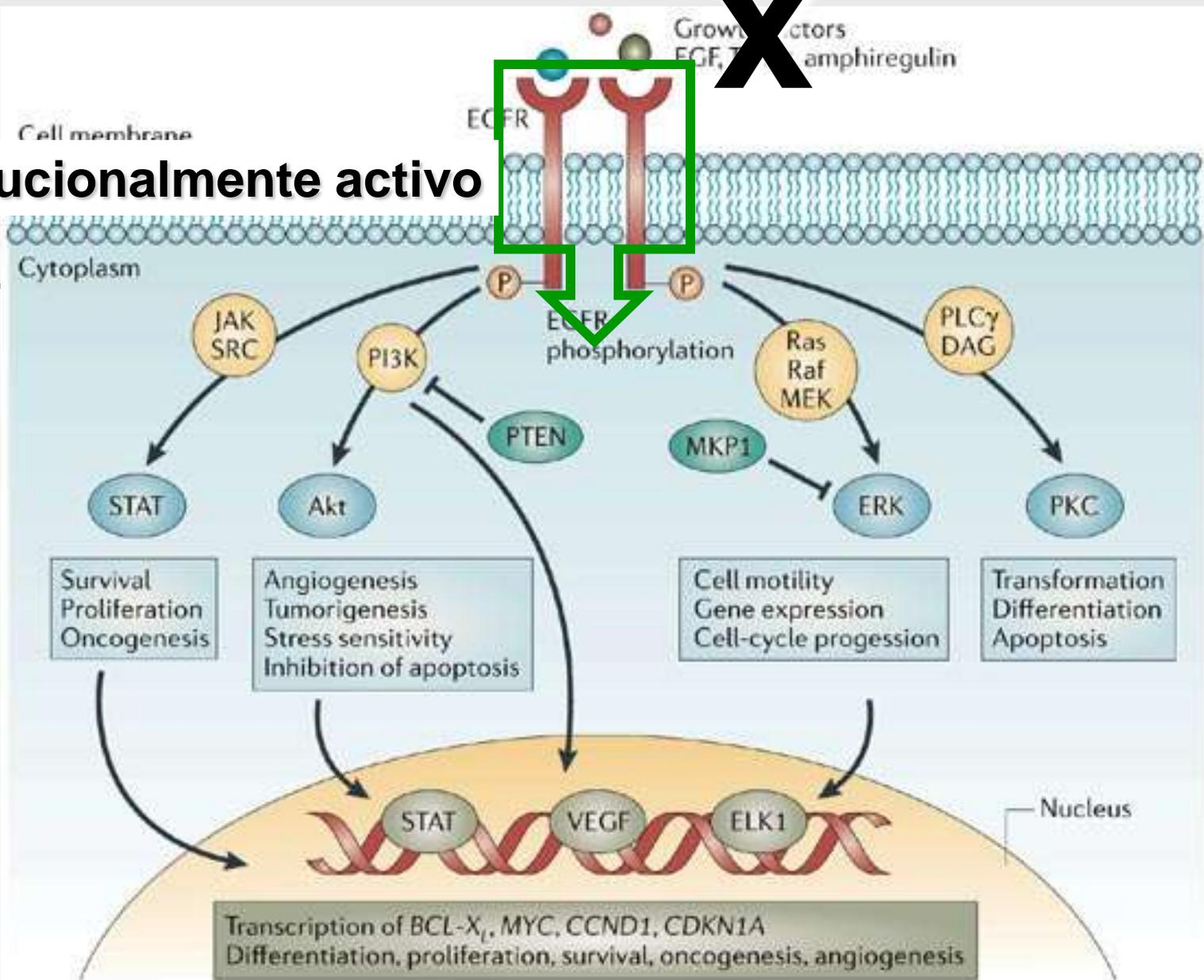
EGFR Mutations in Lung Cancer: Correlation with Clinical Response to Gefitinib Therapy

Junichi Hatakeyama,^{1,2*} A. Jinno,^{1,2*} Jeffrey C. Lee,^{1,2*} Shigeaki Okuma,^{1,2*} Shiro Takeda,^{1,2*} Stacey Gabriel,⁴ Paula Harman,¹ Frederick J. Kaye,⁵ Noel Lindeman,⁴ Titus J. Boggon,^{1,2} Katsuhiko Neeki,¹ Hidefumi Sasaki,⁷ Yoshitaka Fujii,⁷ Michael J. Eck,^{1,2} William R. Sellers,^{1,2,4†} Bruce E. Johnson,^{1,2†} Matthew Mayhew^{1,2,4†}

Receptor tyrosine kinase genes were sequenced in non-small cell lung cancer (NSCLC) and matched normal tissue. Somatic mutations of the epidermal growth factor receptor gene EGFR were found in 15 of 58 unselected tumors from Japan and 1 of 61 from the United States. Treatment with the EGFR kinase inhibitor gefitinib (Iressa) causes tumor regression in some patients with NSCLC, more frequently in Japan. EGFR mutations were found in additional lung cancer samples from U.S. patients who responded to gefitinib therapy and in a lung adenocarcinoma cell line that was hypersensitive to growth inhibition by gefitinib, but not in gefitinib-insensitive tumors or cell lines.

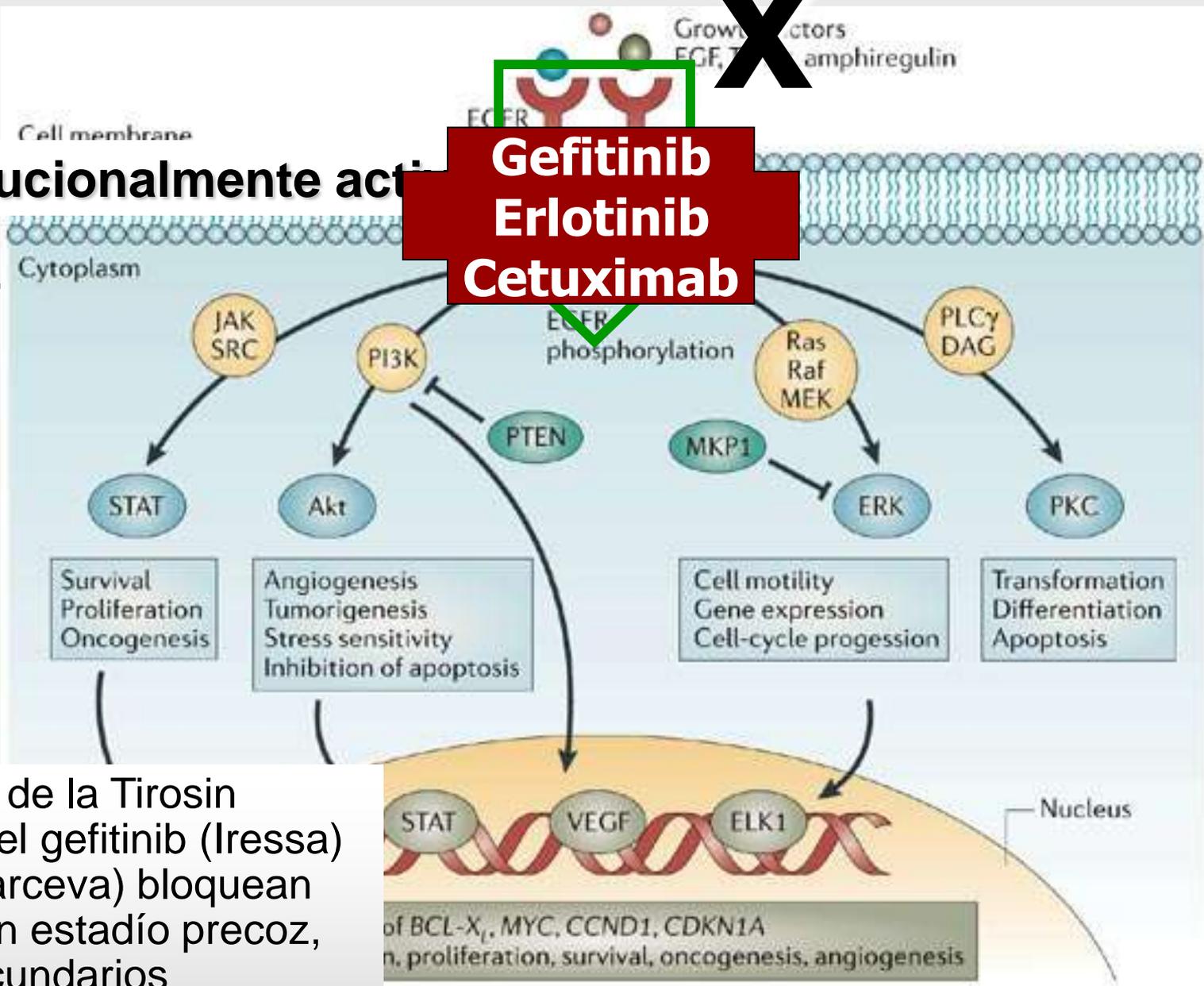


Constitucionalmente activo



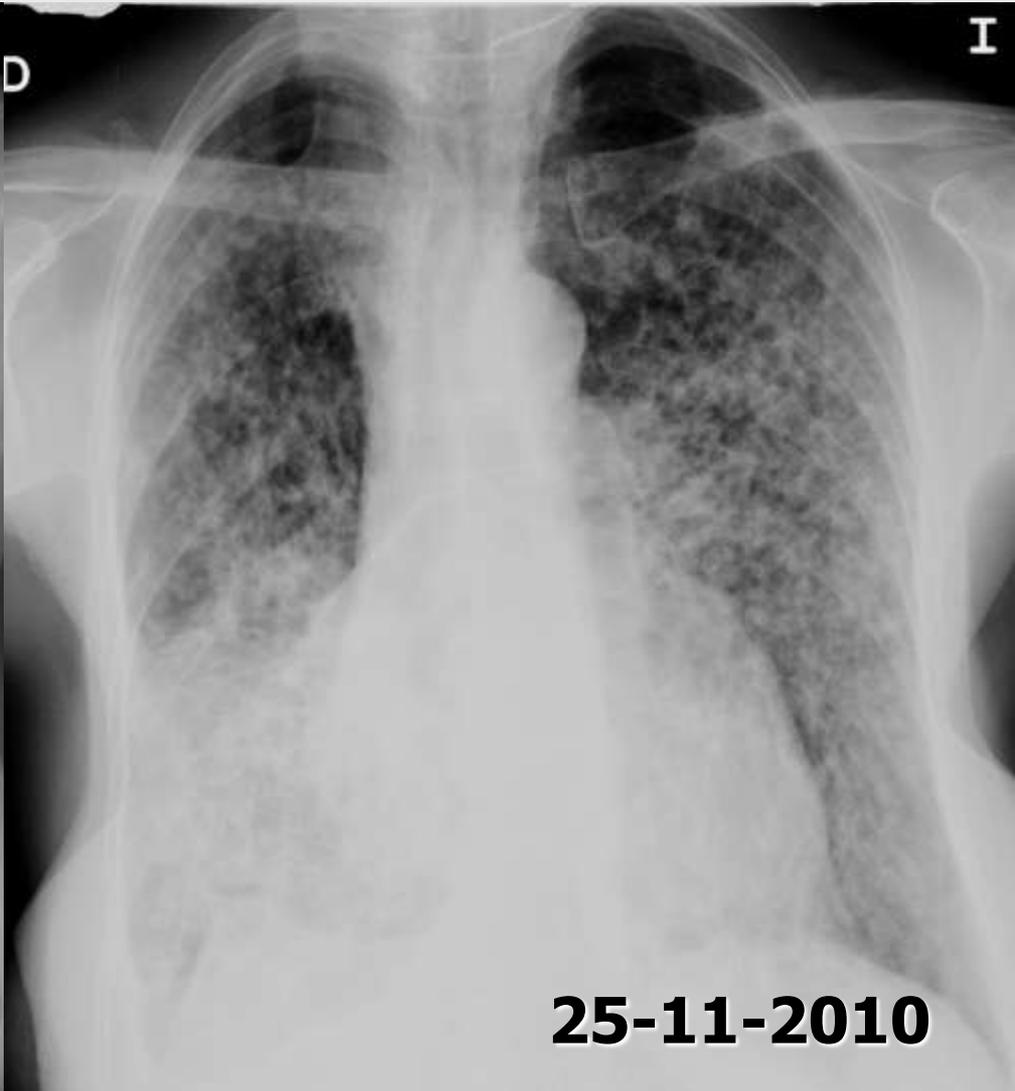
Constitucionalmente activa

Gefitinib
Erlotinib
Cetuximab

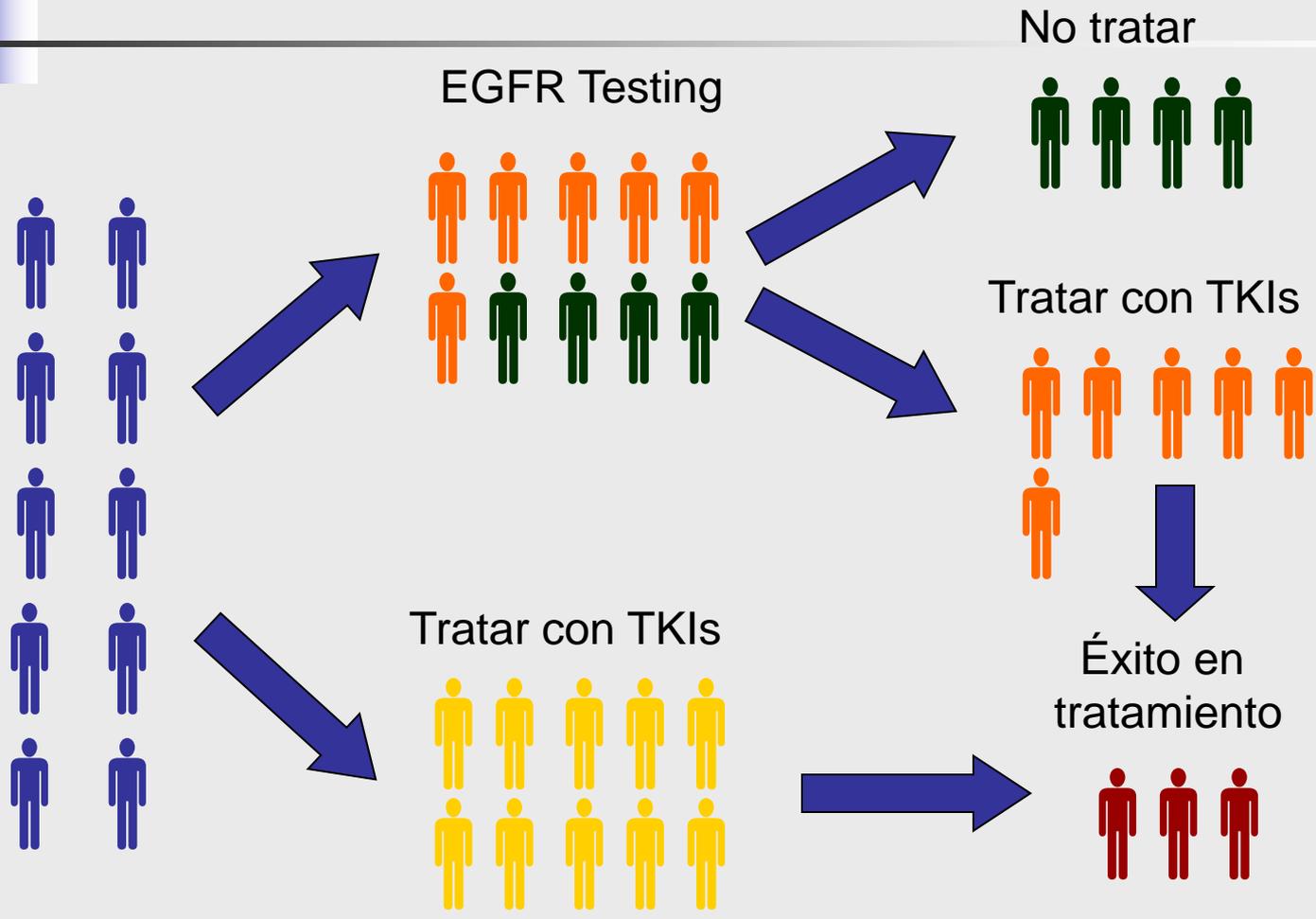


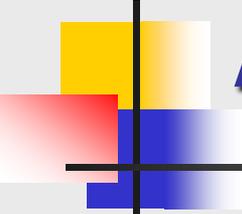
Los inhibidores de la Tirocin Quinasa como el gefitinib (Iressa) y el erlotinib (Tarceva) bloquean estas vías en un estadio precoz, con efectos secundarios subsiguientes sobre otros moduladores de la proliferación

La evidencia clínica



La evidencia económica

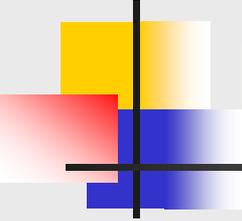




ASCO 2010

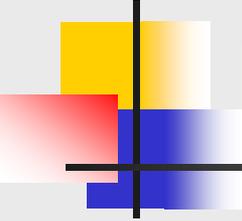
- El contraste entre los resultados **esperanzadores** de Crizotinib en **pacientes seleccionados** molecularmente y **resultados desalentadores** en algunos fase III grandes **sin una cuidadosa selección de los pacientes** debería hacer recapacitar a la comunidad de oncólogos sobre la estrategia de desarrollar fármacos “moleculares” con un espectro estrecho de actividad en un amplio espectro de pacientes no seleccionado, bien como agentes únicos o en combinación con otros fármacos...

J Thorac Oncol 2011;6:227-32

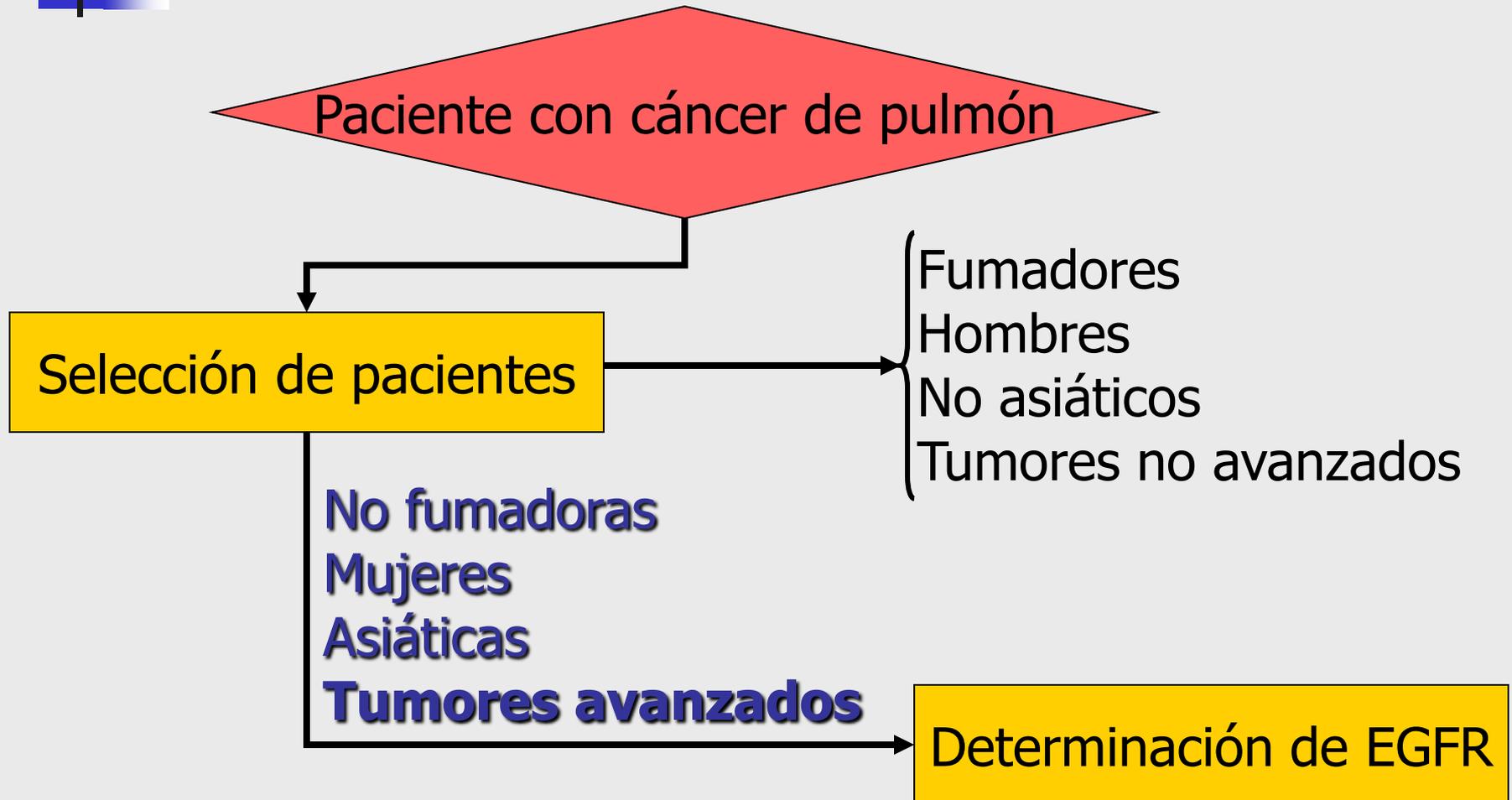


Puntos a tratar

- Y ¿por qué?
- Y ¿cuándo?



Proceso EGFR



Mutaciones de EGFR en carcinoma pulmonar

Subgrupo	No.Tumores Revisados	Mutaciones	Media % (Rango)
Estados Unidos	262	25	9 (2-14)
Europa	860	39	5 (NR)
Australia	83	6	7 (NR)
→ Este Asiático	1273	413	32 (26-40)
Adenocarcinoma	907	245	27 (9-55)
Otra histología	837	9	1 (0-3)
Hombre	865	108	12 (6-32)
→ Mujer	369	143	38 (20-59)
Fumador	662	66	10 (5-22)
→ No Fumador	517	180	35 (12-69)

Screening for Epidermal Growth Factor Receptor Mutations in Lung Cancer

Rafael Rosell, M.D., Teresa Moran, M.D., Cristina Queralt, B.S., Rut Porta, M.D., Felipe Cardenal, M.D., Carlos Camps, M.D., Margarita Majem, M.D., Guillermo Lopez-Vivanco, M.D., Dolores Isla, M.D., Mariano Provencio, M.D., Amelia Insa, M.D., Bartomeu Massutí, M.D., Jose Luis Gonzalez-Larriba, M.D., Luis Piz-Ares, M.D., Isabel Bover, M.D., Rosario Garcia-Campelo, M.D., Miguel Angel Moreno, M.D., Silvia Catot, M.D., Christian Rollo, M.D., Noemí Reguart, M.D., Ramon Palmero, M.D., José Miguel Sánchez, M.D., Roman Bastus, M.D., Clara Mayo, Ph.D., Jordi Bertran-Alamillo, B.S., Miguel Angel Molina, Ph.D., Jose Javier Sanchez, M.D., and Miquel Taron, Ph.D., for the Spanish Lung Cancer Group

	All Patients (N = 2105)	Patients with EGFR Mutations (N = 350)	Frequency of Mutations	
	<i>number of patients</i>		All 2105 Patients	350 Patients with Mutations
			<i>percent (95% CI)</i>	
Sex				
Female	814	244	30.0 (26.9–33.2)	69.7 (64.7–74.3)
Male	1287	106	8.2 (6.8–9.9)	30.3 (25.7–35.3)
Missing data	4	0		
Age				
<56.7 yr	638	89	13.9 (11.5–16.9)	27.1 (24.9–29.2)
56.7–69.1 yr	638	99	15.5 (12.9–18.6)	30.1 (27.8–32.4)
>69.1 yr	632	141	22.1 (19.1–25.6)	42.8 (40.2–45.5)
Missing data	197	21		
Smoking history				
Former smoker	958	91	9.5 (7.8–11.6)	26.2 (24.2–28.2)
Current smoker	424	25	5.8 (4.0–8.6)	7.2 (6.5–7.9)
Never smoked	612	231	37.7 (34.0–41.7)	66.6 (64.2–68.9)
Missing data	111	3		
Tumor type				
Adenocarcinoma	1634	283	17.3 (15.5–19.3)	80.9 (76.4–84.7)
Bronchioloalveolar adenocarcinoma	147	34	23.1 (17.0–30.7)	9.7 (7.0–13.3)
Large-cell carcinoma	287	33	11.5 (8.3–15.8)	9.4 (6.8–13.0)
Missing data	37	0		

Incidence of *EGFR* Exon 19 Deletions and L858R in Tumor Specimens From Men and Cigarette Smokers With Lung Adenocarcinomas

Sandra P. D'Angelo, M. Catherine Pietanza, Melissa L. Johnson, Gregory J. Riely, Vincent A. Miller, Camelia S. Sima, Maureen F. Zakowski, Valerie W. Rusch, Marc Ladanyi, and Mark G. Kris

Table 1. Incidence of *EGFR* Mutations by Cigarette Smoking History

Smoking History	Stage I-IIIa			Stage IIIB/IV			All Stages			95% CI	P
	No. with Mutations	Total No. of Tumors	%	No. with Mutations	Total No. of Tumors	%	No. with Mutations	Total No. of Tumors	%		
Never	131	228	57	171	352	49	302	580	52	48 to 56	< .001 $\chi^2_{(df=2)} = 314$
Former	83	714	12	98	504	19	181	1,218	15	13 to 17	
Current	4	143	3	16	201	8	20	344	6	4 to 9	

Table 3. Incidence of *EGFR* Mutations by Sex

Sex	Stage I-IIIa			Stage IIIB/IV			All Stages			95% CI	P
	No. With Mutations	Total No. of Tumors	%	No. With Mutations	Total No. of Tumors	%	No. With Mutations	Total No. of Tumors	%		
Female	161	690	23	185	625	30	346	1,315	26	24 to 29	< .001 $\chi^2_{(df=1)} = 15.2$
Male	57	395	14	100	432	23	157	827	19	16 to 22	
Total	218	1,085	20	285	1,057	27	503	2,142	23	22 to 25	

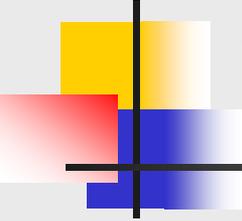
Fumadores o no...

Table 2. Incidence of *EGFR* Mutations by Pack-Years of Cigarettes Smoked

Pack-Years	Stage I-III A			Stage III B/IV			All Stages			95% CI
	No. With Mutations	Total No. of Tumors	%	No. With Mutations	Total No. of Tumors	%	No. With Mutations	Total No. of Tumors	%	
Never smokers	131	228	57	171	352	49	302	580	52	48 to 56
1 to 5	22	57	39	20	68	29	42	125	34	25 to 43
6 to 10	11	47	23	29	69	42	40	116	34	26 to 44
11 to 15	10	59	17	9	49	18	19	108	18	11 to 26
16-25	13	129	10	13	110	12	26	239	11	7 to 16
26 to 50	16	294	5	27	246	11	43	540	8	6 to 11
51 to 75	10	148	7	11	95	12	21	243	9	5 to 13
> 75	3	116	3	4	66	6	7	183	4	2 to 8
<i>P</i> (trend test)	< .001 $\chi^2_{(df = 1)} = 129$			< .001 $\chi^2_{(df = 1)} = 90.2$			< .001 $\chi^2_{(df = 1)} = 224$			

Table 5. Patients Tested and *EGFR* Mutations Missed Under Different Testing Strategies

Population Tested	Patients Tested		<i>EGFR</i> Mutations Detected		<i>EGFR</i> Mutations Missed	
	No.	%	No.	%	No.	%
Women only	1,315	61	346	69	157	31
Never smokers only	580	27	302	60	201	40
Never smoking women	398	19	217	43	286	57
All patients	2,142	100	503	100	0	0



Puntos a tratar

- Y ¿por qué?
- Y ¿cuándo?
- Ya, ya, pero ¿cuándo, cuándo?

REVIEW

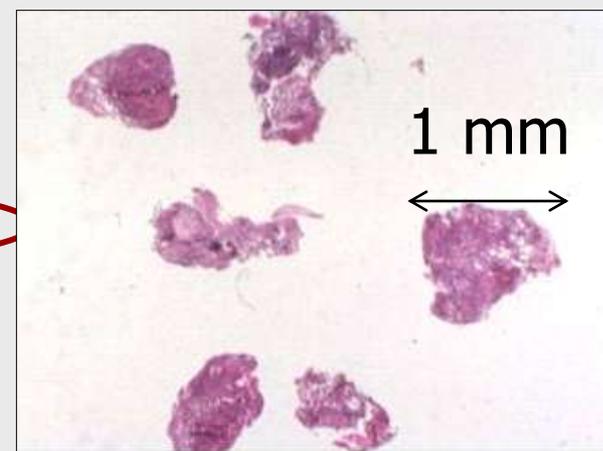
The challenge of classifying poorly differentiated tumours in the lung

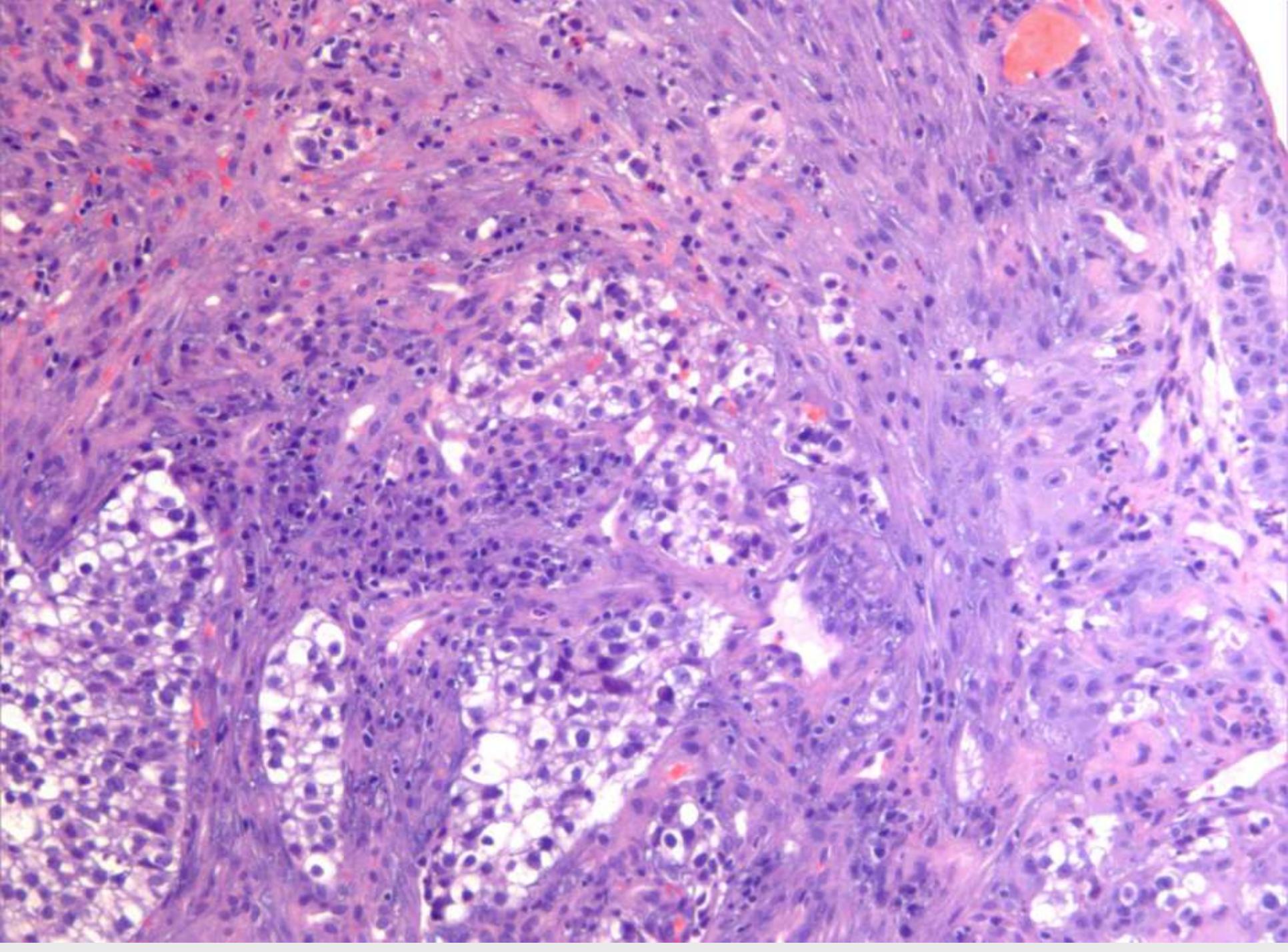
William A H Wallace

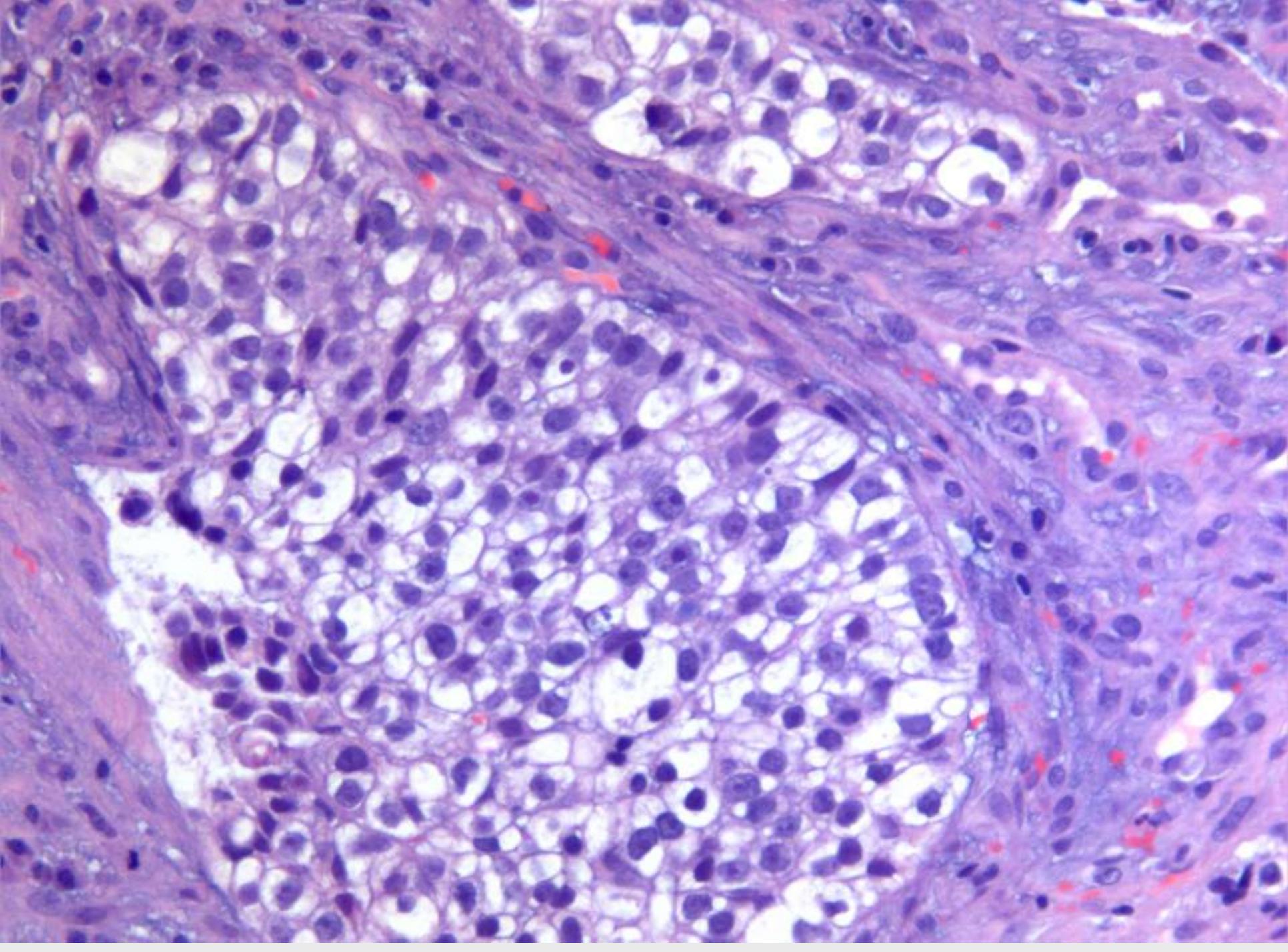
*Department of Pathology, Royal Infirmary of Edinburgh, Un
Pathology, College of Medicine and Veterinary Medicine, Edi*

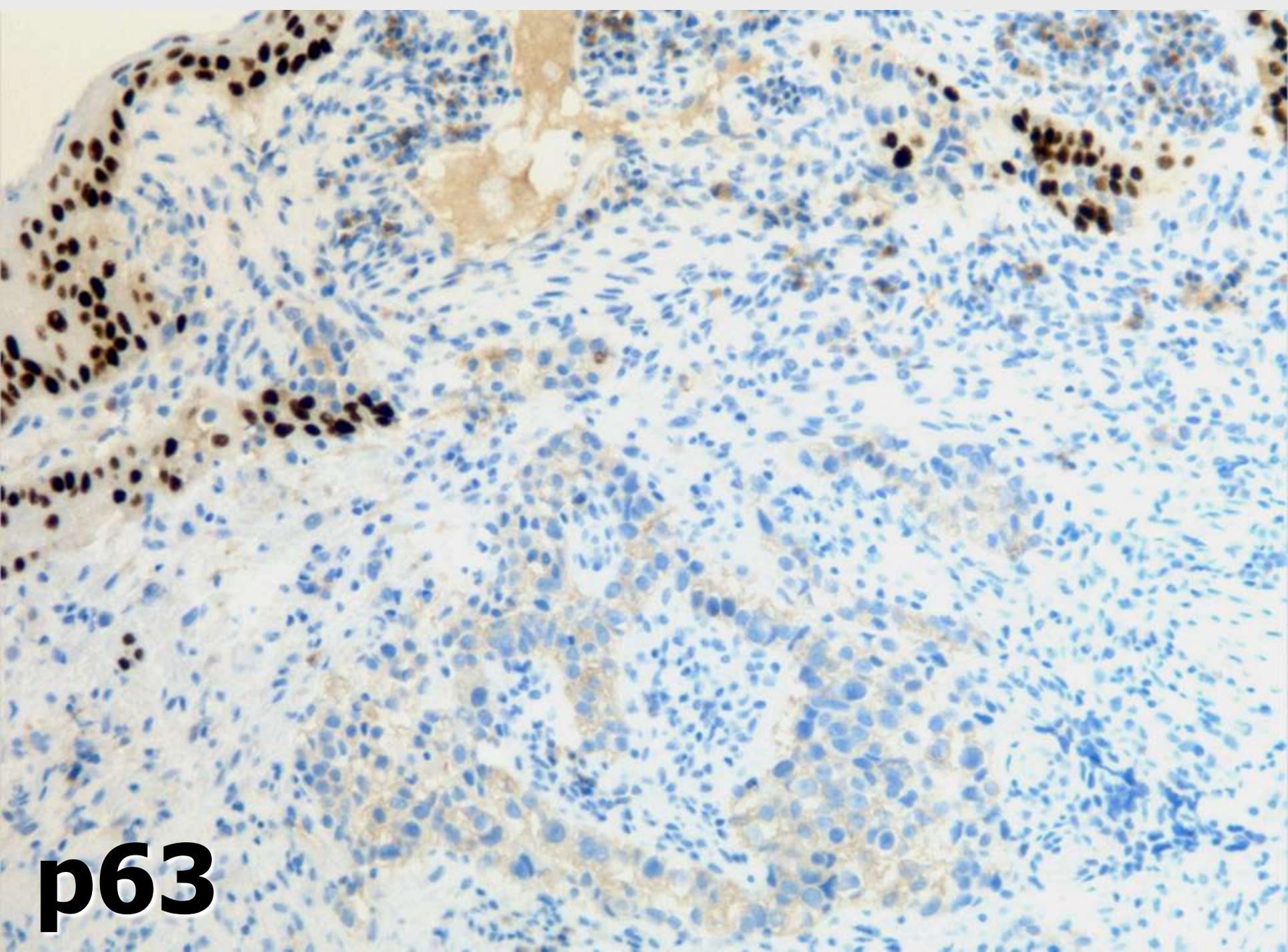
nosis rather than simple morphology. The predictive validity of such an approach using small biopsy or cytology specimens, however, still requires to be established. The problem of tumour heterogeneity, which is problematic for morphological classification, may also pose similar challenges for molecular approaches.

The attraction of the current classification system is that it is universally applicable by pathologists working in histology laboratories around the world, but potential future changes in the management of lung cancer may result in pathologists having to combine histological and molecular features in their reports. This is likely to lead to new classifications of lung carcinomas based more on prognostic biomarker expression, although the reliability and predictive ability of any such system using small biopsy specimens have yet to be established.



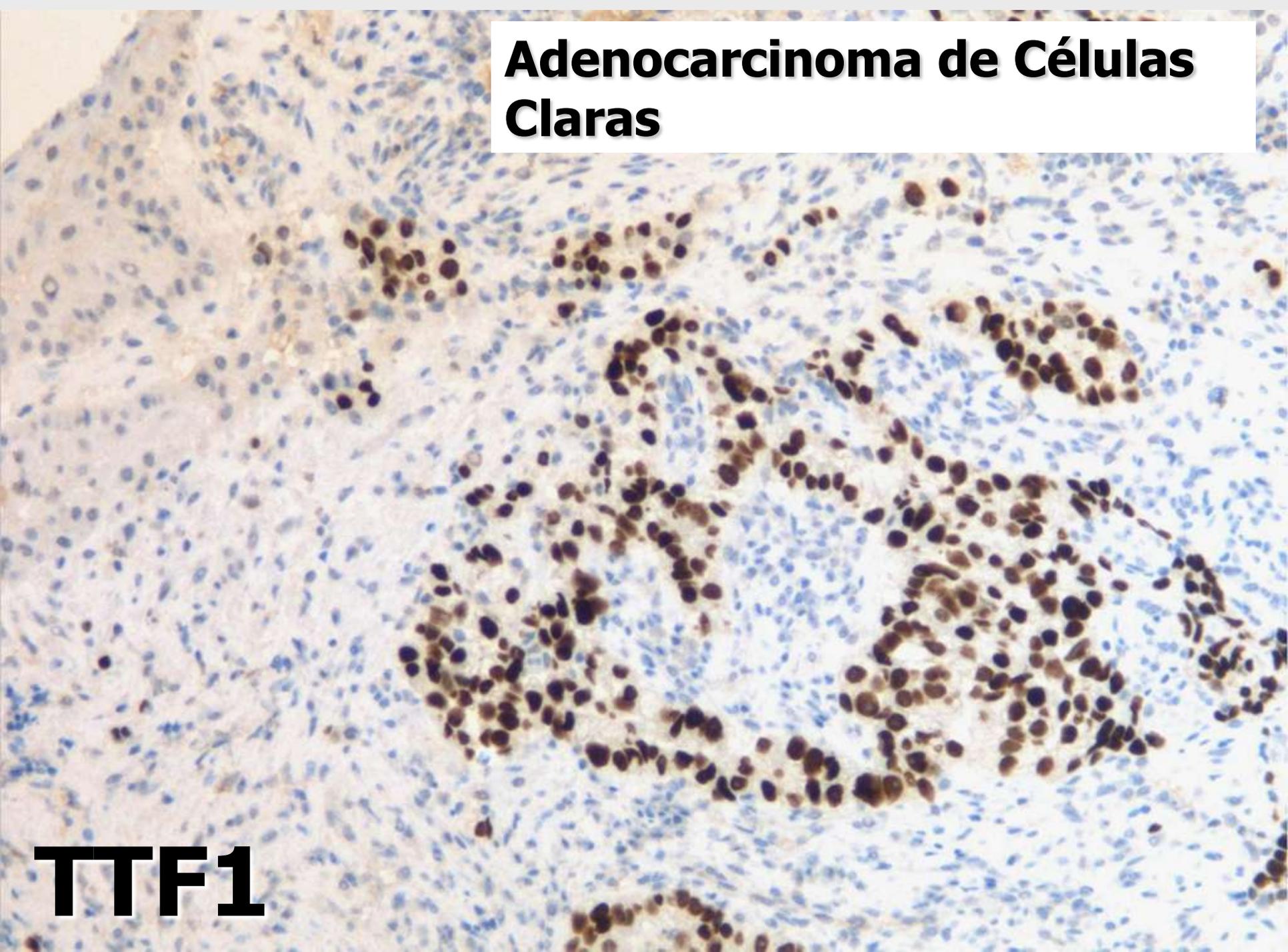






p63

Adenocarcinoma de Células Claras



TTF1

Consensus for *EGFR* Mutation Testing in Non-small Cell Lung Cancer

Results from a European Workshop

Robert Pirker, MD,* Felix J. F. Herth, MD, PhD, FCCP,† Keith M. Kerr, MD, FRCPath,‡
Martin Filipits, PhD,* Miquel Taron, PhD,§|| David Gandara, MD,¶ Fred R. Hirsch, MD,#
Dominique Grunenwald, MD,** Helmut Popper, MD,†† Egbert Smit, MD, PhD,‡‡
Manfred Dietel, MD,§§ Antonio Marchetti, MD, PhD,|||| Christian Manegold, MD,¶¶
Peter Schirmacher, MD,## Michael Thomas, MD, PhD,† Rafael Rosell, MD, PhD,§||
Federico Cappuzzo, MD,*** and Rolf Stahel, MD†††; on Behalf of the European *EGFR* Workshop Group

Conclusion: The recommendations of the workshop will help implement *EGFR* mutation testing in Europe and, thereby, optimize the use of *EGFR*-TKIs in clinical practice.

Key Words: Epidermal growth factor receptor, *EGFR* mutation, *EGFR* testing recommendations, Gefitinib, Erlotinib, Non-small cell lung cancer, Tyrosine kinase inhibitors.

(*J Thorac Oncol.* 2010;5: 1706–1713)

Testing

ie progression

ology

nalin

be used

NA

sequencing

Lower % acceptable with higher sensitivity techniques

No gold standard yet

Detail of biopsy sample and tissue extracted

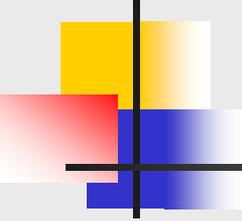
Type of mutation analysis

Mutation present/absent

Interpretation

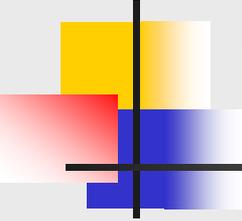
^a Local policy may determine which patients are tested. In European studies, the prevalence of *EGFR* mutation in definitively diagnosed squamous cell carcinoma, neuroendocrine carcinomas, and mucinous bronchioloalveolar-pattern adenocarcinomas is effectively zero.⁴⁵ A pragmatic approach could be to exclude from testing those patients with a confident diagnosis of the above tumor types, but to test all those with other NSCLC subtypes, and all “never smokers,” regardless of tumor type. In cases in which subtype is unclear, testing is indicated.

NSCLC, non-small cell lung cancer



Mensajes importantes

1. Es necesario profundizar en el diagnóstico siempre que sea posible
 - No conformarnos con Carcinoma no microcítico
2. Es necesario ser estricto en el diagnóstico
- 3. La labor del patólogo (y de todos) no es sólo dar un diagnóstico certero si no manejar la muestra de la manera más eficaz**

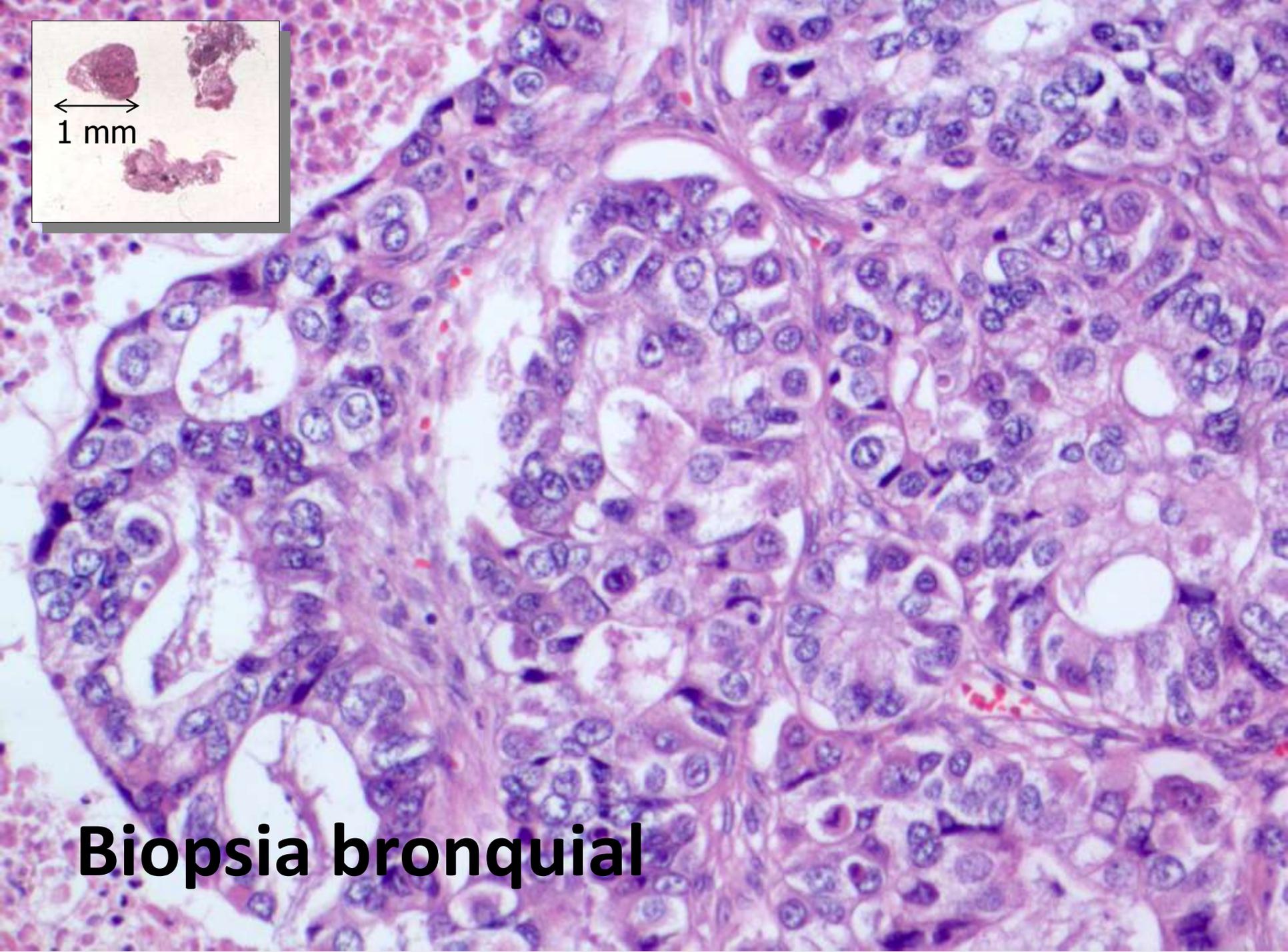


Puntos a tratar

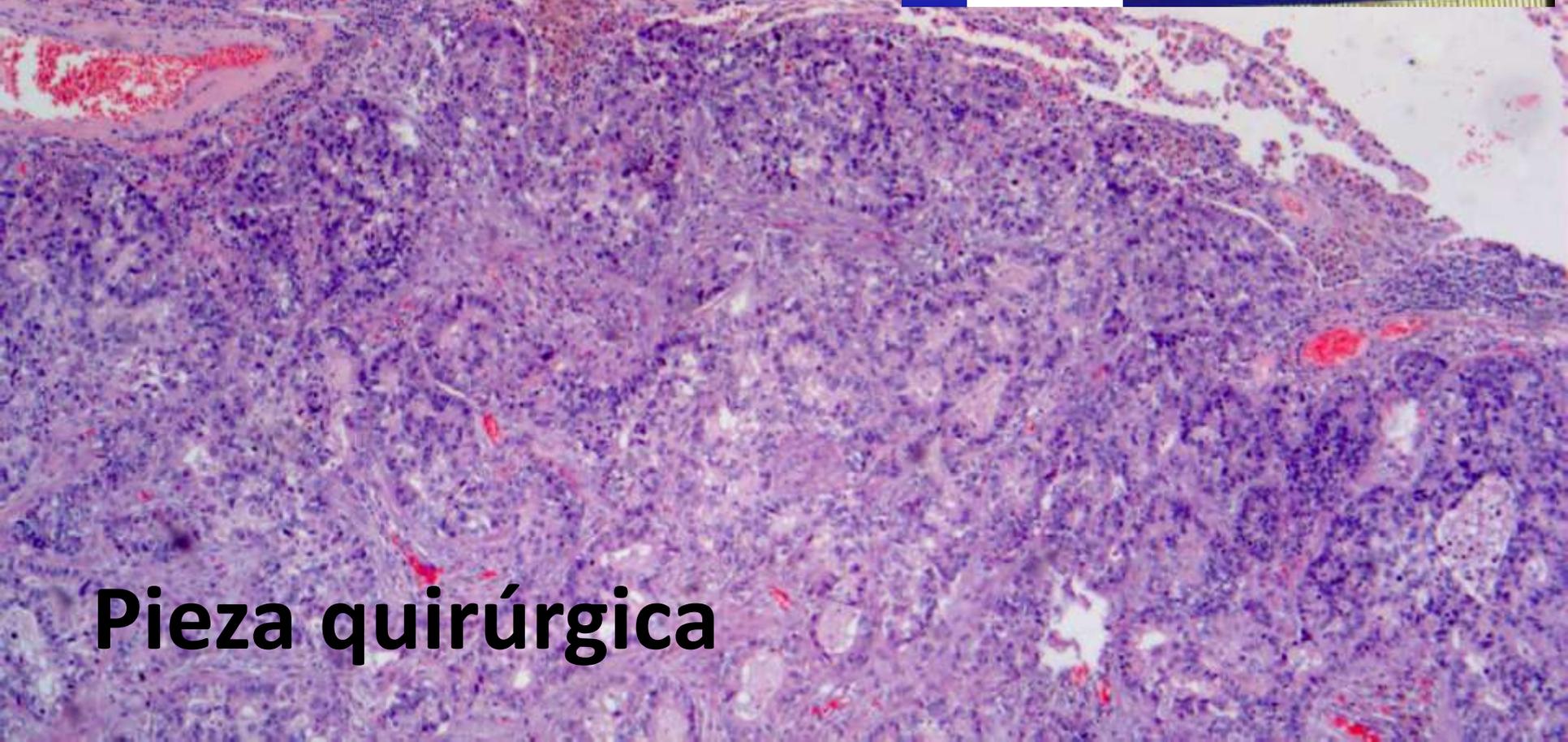
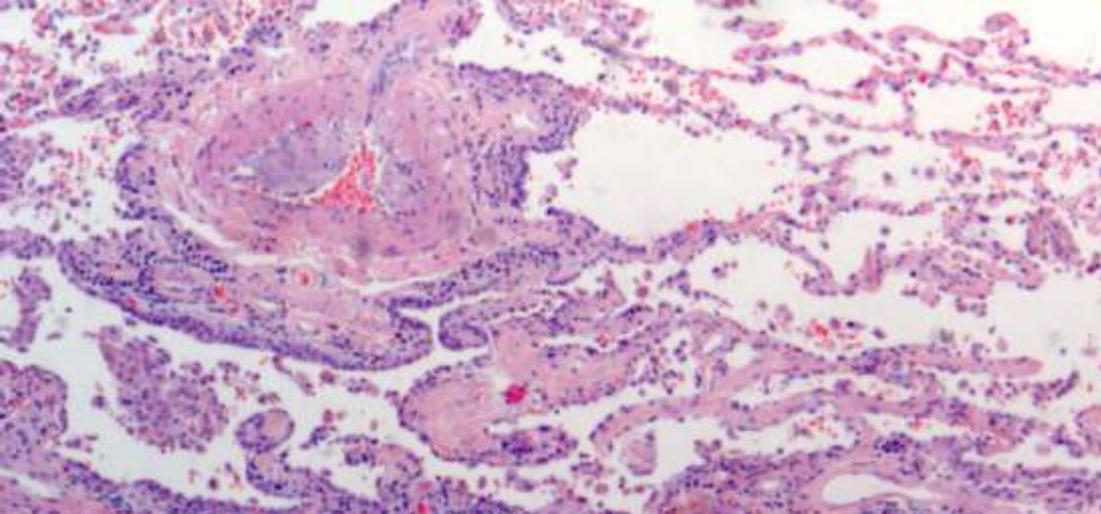
- Y ¿por qué?
- Y ¿cuándo?
- Ya, ya, pero ¿cuándo, cuándo?
- Y ¿dónde?

Y ¿dónde?

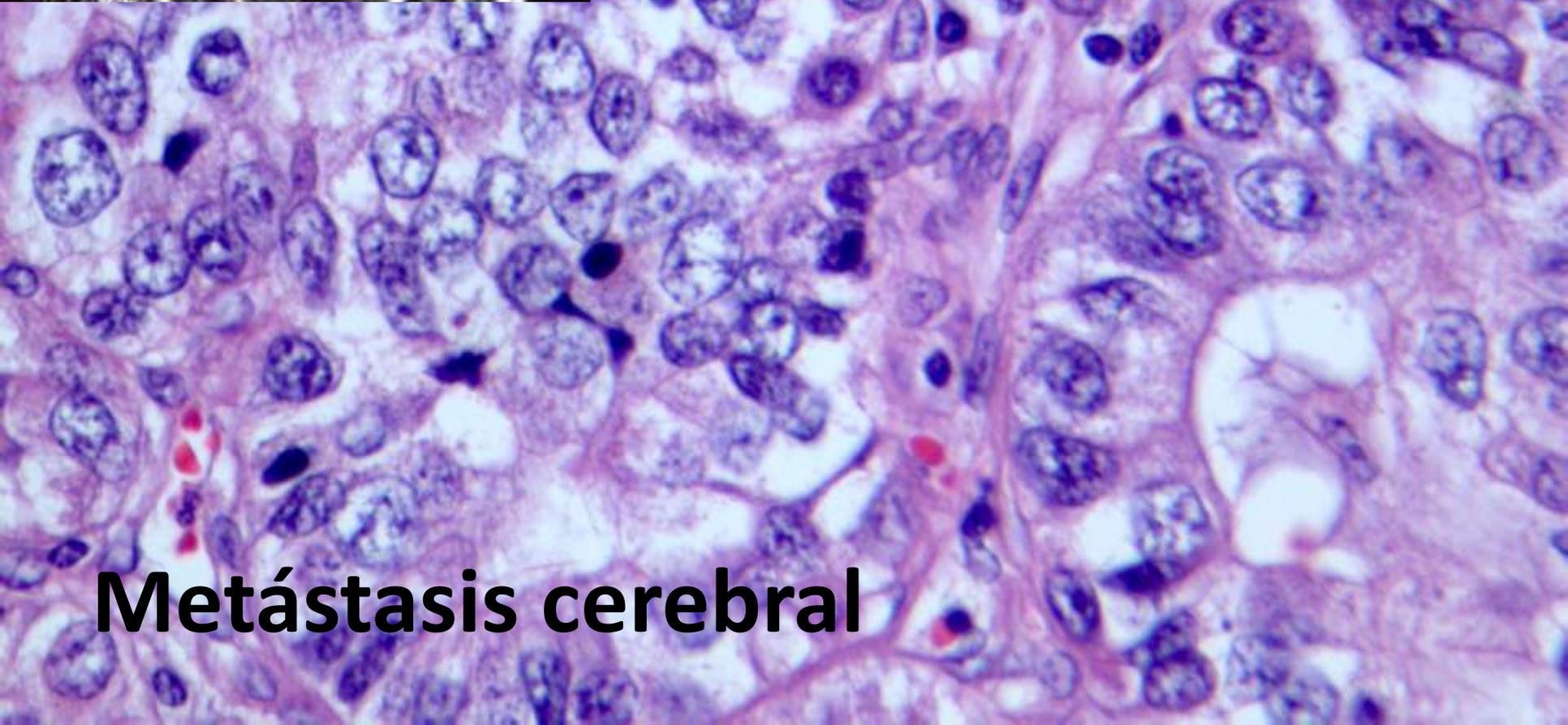
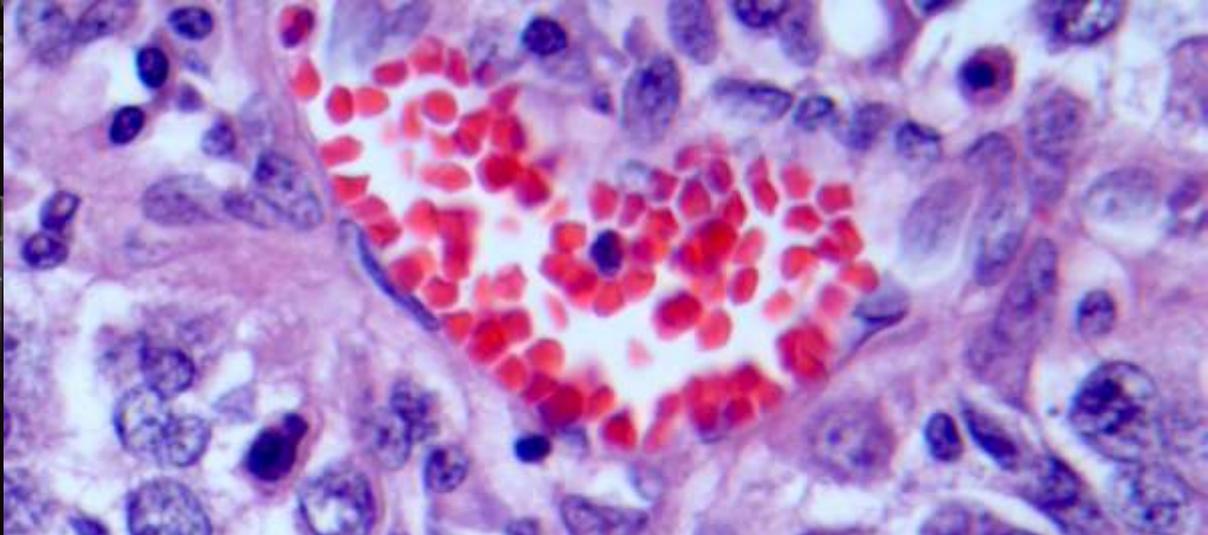
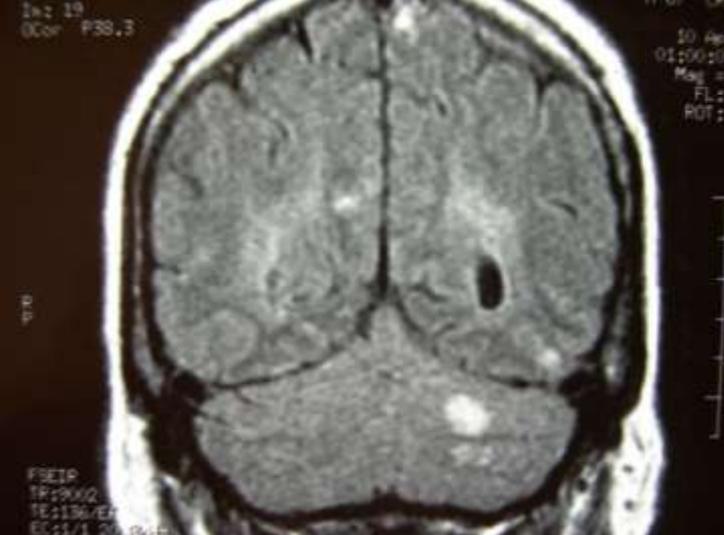
- Paciente mujer de 56 años no fumadora con lesión pulmonar ya biopsiada (Adenocarcinoma)
 - Adenopatías mediastínicas positivas por TAC y EBUS
 - Mediastinoscopia de reestadiaje negativa
 - Rescate quirúrgico (Adenocarcinoma residual)
 - A los tres años, metástasis cerebral intervenida
- **¿DÓNDE HAGO LA DETERMINACIÓN DE LA MUTACIÓN DE EGFR?**



Biopsia bronquial



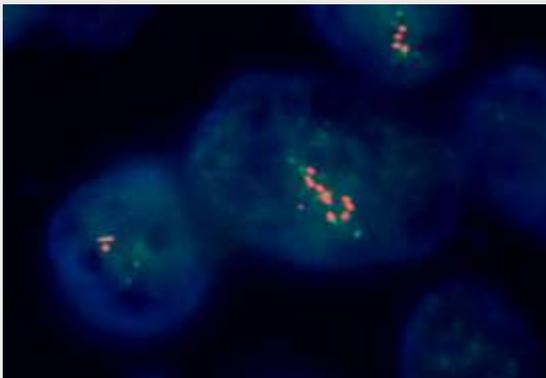
Pieza quirúrgica



Metástasis cerebral

Localización preferente de la muestra

- No hay evidencia suficiente sobre disparidad entre tumor primario y metástasis o recidivas
- Existen estudios con discordancia entre lesión primaria y metastásica de hasta un 32%
 - FISH en material de citología. Polisomías tumorales
- Técnicas moleculares destinadas a la detección de mutaciones encuentran mayor correlación



Bozzetti et al J Thorac Oncol. 2008;3(1):18-22

Daniele L et al J Thorac Oncol. 2009;4(6):684-8

Savic S et al Br J Cancer. 2008;98(1):154-60

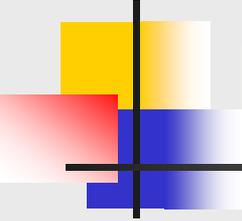
Gomez-Roca C et al J Thorac Oncol. 2009;4(10):1212-20

Y ¿dónde?

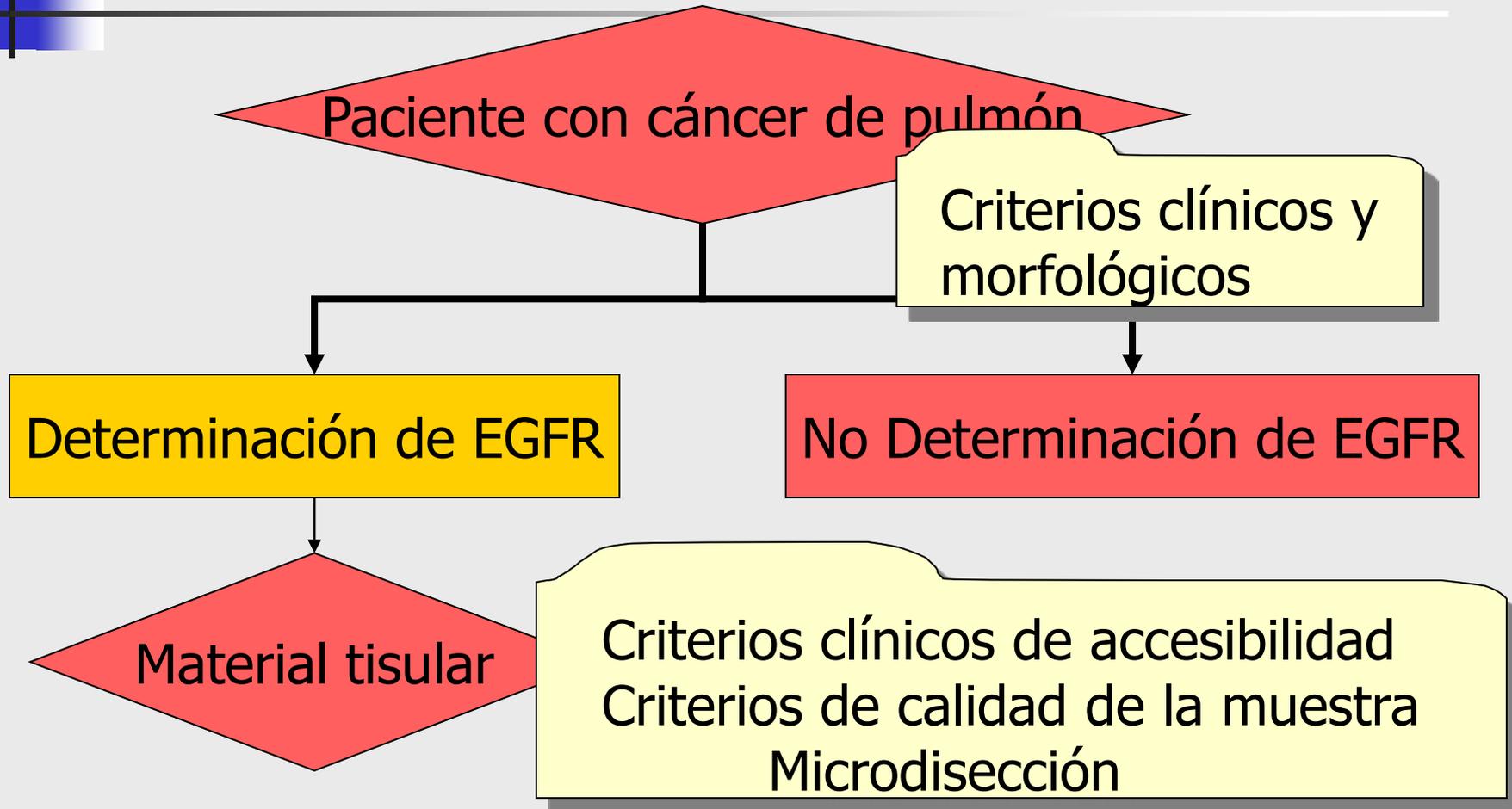
- Citología exfoliativa
- Broncoaspirado
- Lavado broncoalveolar
- Punción aspiración con aguja fina (PAAF)
 - Lesiones primarias
 - Mediastino o localizaciones metastásicas (endoscopia, EBUS o similar)
- Biopsia bronquial
- Biopsia transbronquial
- Biopsia con aguja gruesa (BAG)
- Piezas quirúrgicas

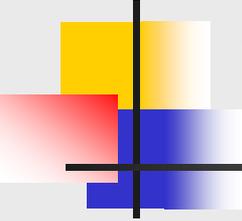
Técnicas recomendadas para la obtención de la muestra adecuada

- Agujas de diferentes calibres
 - Mayor cantidad de ADN con las agujas de calibre 18
 - Si bien la calidad del ADN parece mejor con el calibre 20
- Lavado de la aguja de PAAF con buffer y congelación
- Número necesario de células tumorales para realizar el estudio
 - Con 150 se alcanzan resultados valorables
- Colaboración de neumólogos, broncoscopistas, radiólogos, cirujanos y personal auxiliar para evitar problemas
 - Mala fijación
 - Preservación inicial
 - Transporte
 - Tiempo máximo asumible antes que sean procesadas por el patólogo responsable.



Proceso EGFR

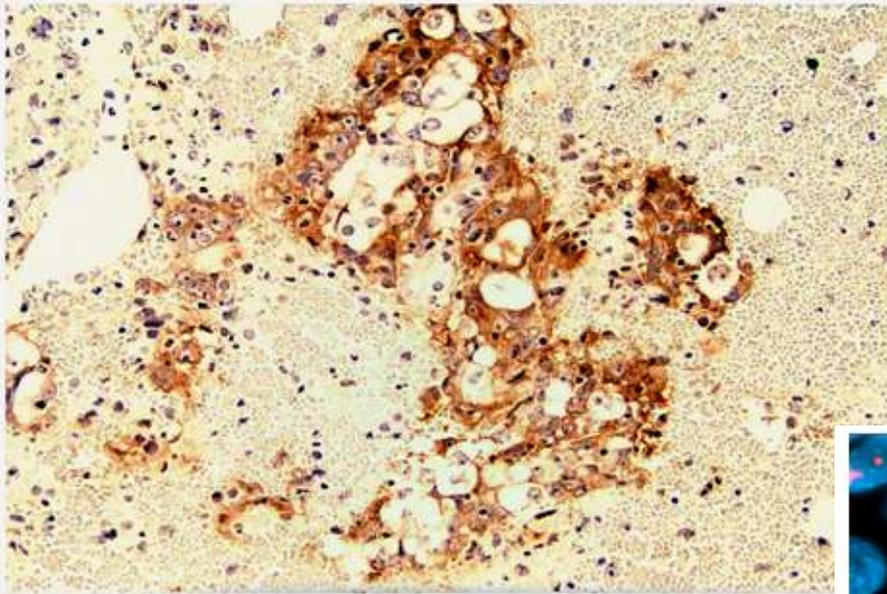




Puntos a tratar

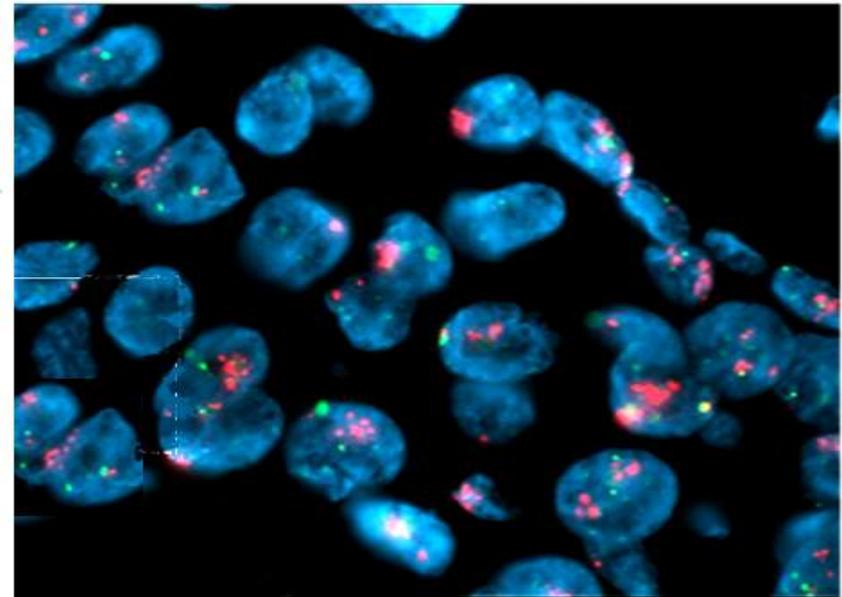
- Y ¿por qué?
- Y ¿cuándo?
- Ya, ya, pero ¿cuándo, cuándo?
- Y ¿dónde?
- Y ¿cómo?

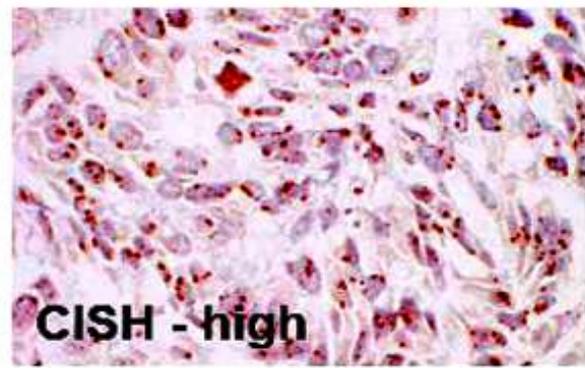
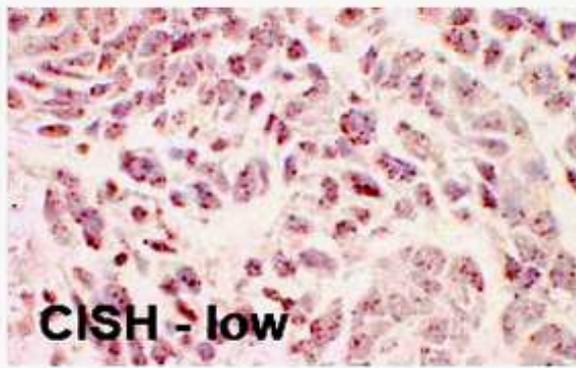
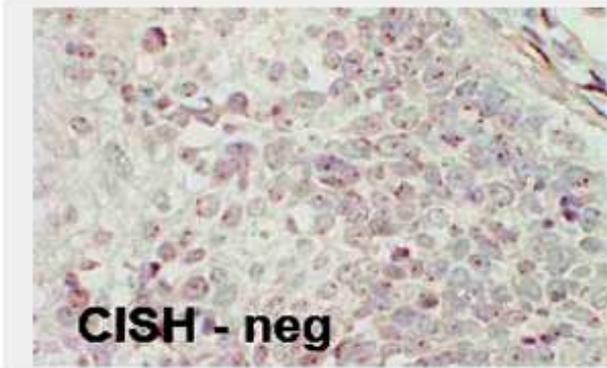
Antes de 2004



IHQ para la expresión
proteica

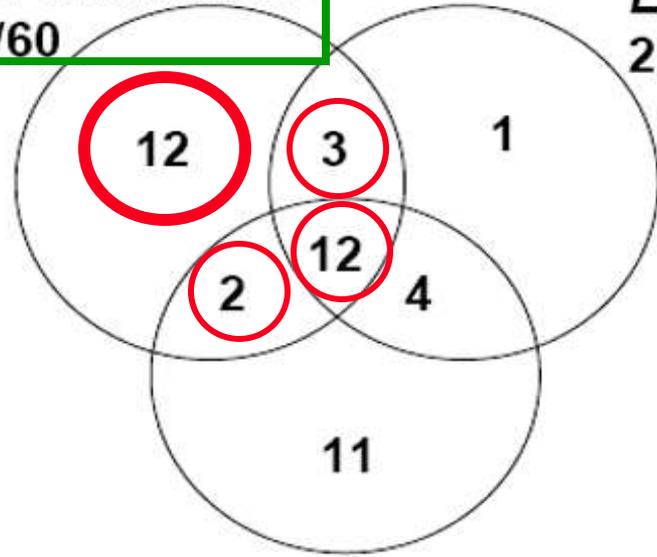
FISH para la amplificación
génica



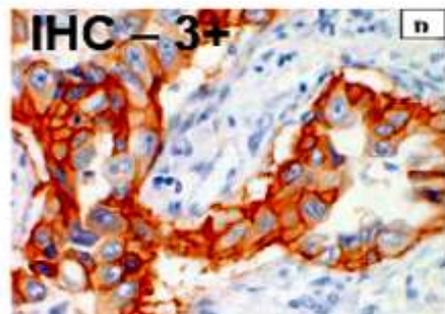
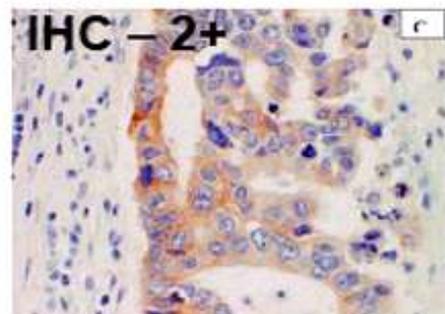
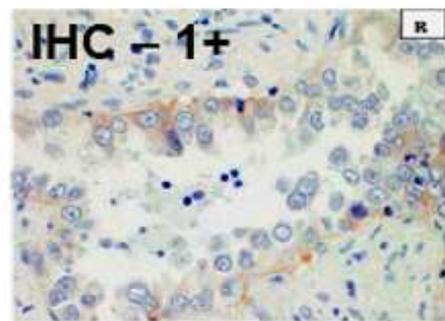
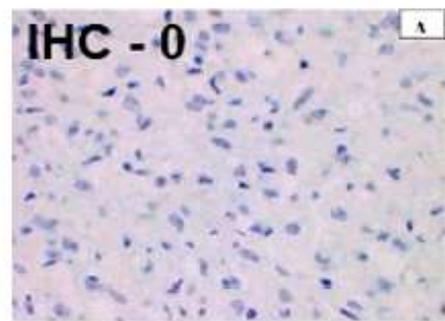


EGFR mutation
29/60

EGFR amplification by CISH
20/60



EGFR overexpression by IHC
29 / 60



Después de

EGFR Mutations in Lung Cancer: Correlation with Clinical Response to Gefitinib Therapy

Guermat, M.,^{1,2*} ... Jeffrey C. Lee,^{1,2*} ...
 ... Gabriel,⁴ Paula Harman,¹ ...
 ... Titas J. Boggon,^{1,2} ...
 ... Michael J. Eck,^{1,2} William R. Sellers,^{1,2,4†} ...
 Bruce E. Johnson,^{1,2†} Matthew Mayhew,^{1,2,4†}

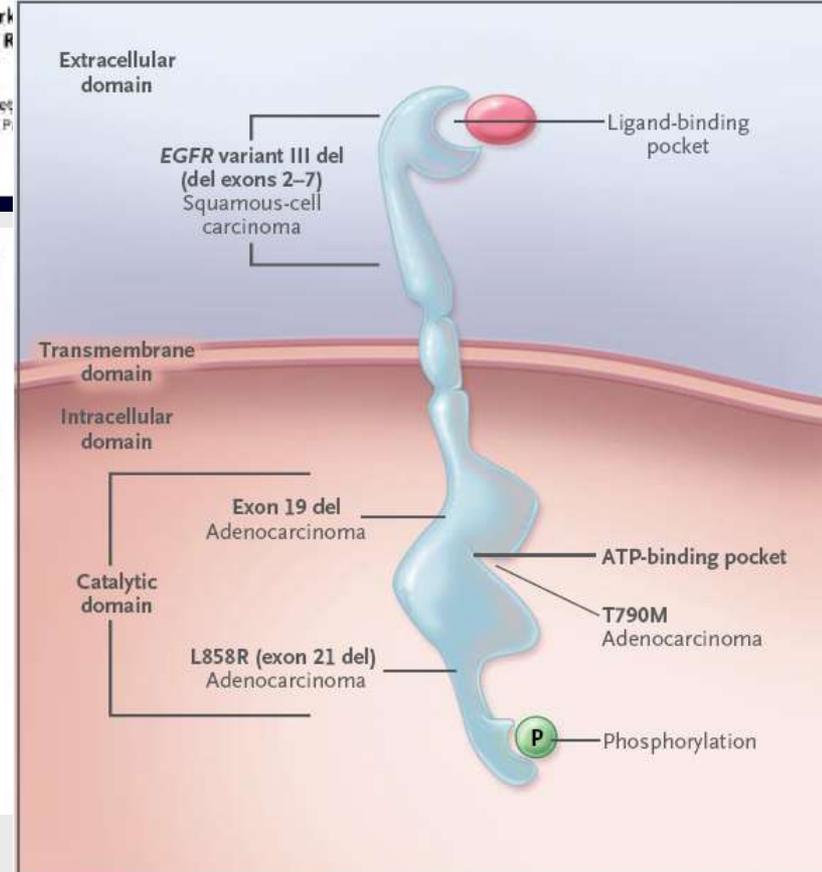
EGF receptor gene mutations are common in lung cancers from “never smokers” and are associated with sensitivity of tumors to gefitinib and erlotinib

William Pao^{**†}, Vincent Miller^{†§}, Maureen Zakowski[§], Jennifer Doherty^{*}, Katerina Politi^{*}, Inderpal Sarkaria[†], Bhuvanesh Singh[†], Robert Heelan^{**}, Valerie Rusch[†], Lucinda Fulton^{††}, Elaine Mardis^{††}, Doris Kupfer^{††}, R. Mark Kris^{†§}, and Harold Varmus^{*}

*Program in Cancer Biology and Genetics and Departments of [†]Medicine, [‡]Surgery, [§]Pathology, and ^{**}Radiology, Memorial Sloan-Kettering Cancer Center, 1275 York Avenue, New York, NY 10021; and ^{††}Genome Sequencing Center, Washington University School of Medicine, 660 South Euclid Avenue, St. Louis, MO 63108

Contributed by Harold Varmus, July 19, 2004

... or tyrosine kinase genes were sequenced in non-small cell lung cancer (NSCLC) ...
 ... EGFR were found in 15 of 58 unselected tumors from Japan and 1 of 61 from the United States. Treatment with the EGFR kinase inhibitor gefitinib (Iressa) causes tumor regression in some patients with NSCLC, more frequently in Japan. EGFR mutations were found in additional lung cancer samples from U.S. patients who responded to gefitinib therapy and in a lung adenocarcinoma cell line that was hypersensitive to inhibition by gefitinib, but not in gefitinib-insensitive tumors or cell lines.



The NEW ENGLAND JOURNAL of MEDICINE

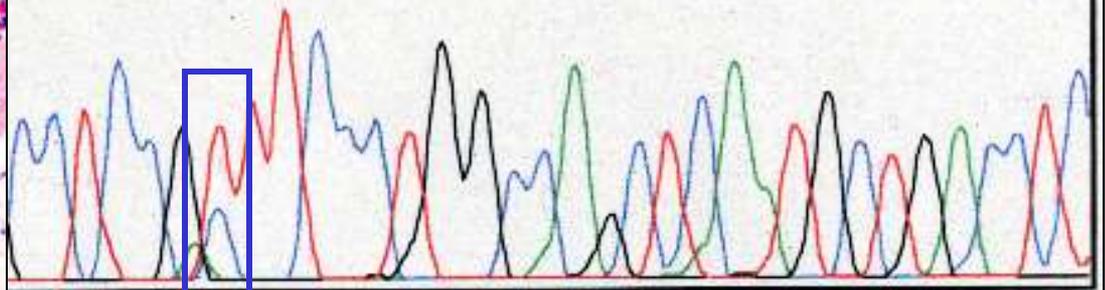
ESTABLISHED IN 1812 MAY 20, 2004 VOL. 350 NO. 21

Activating Mutations in the Epidermal Growth Factor Receptor Underlying Responsiveness of Non-Small-Cell Lung Cancer to Gefitinib

Thomas J. Lynch, M.D., Daphne W. Bell, Ph.D., Raffaella Sordella, Ph.D., Sarada Gurubhagavatula, M.D., Ross A. Okimoto, B.S., Brian W. Brannigan, B.A., Patricia L. Harris, M.S., Sara M. Haselet, B.A., Jeffrey G. Supko, Ph.D., Frank G. Haluska, M.D., Ph.D., David N. Louis, M.D., David C. Christiani, M.D., Jeff Settleman, Ph.D., and Daniel A. Haber, M.D., Ph.D.

**Al menos 20% de
celularidad tumoral**

CCTCCGTTTCCCTGGCCAGCTCAATGCTGACCTC
370 380 390

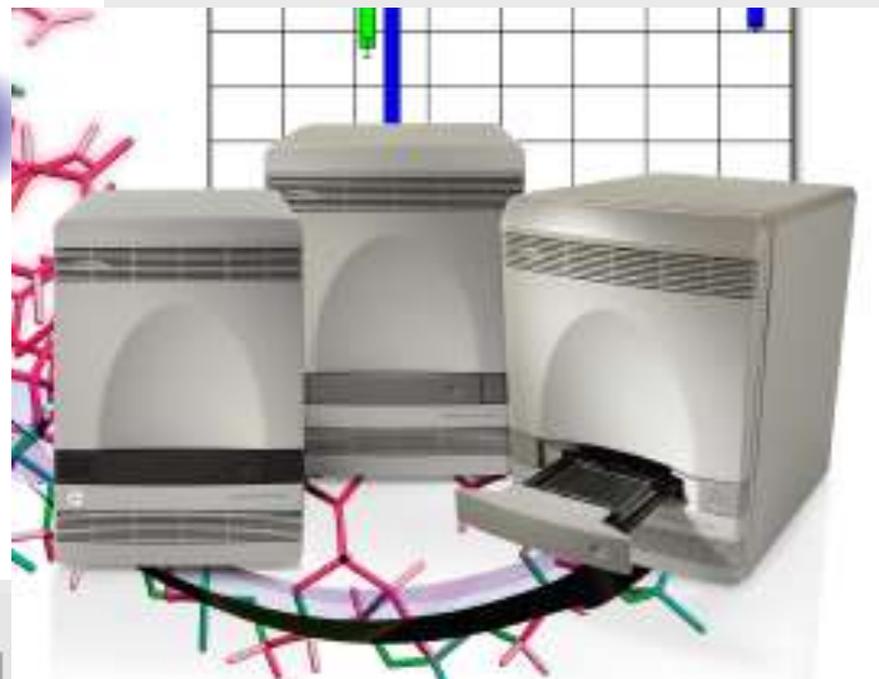


TheraScreen®

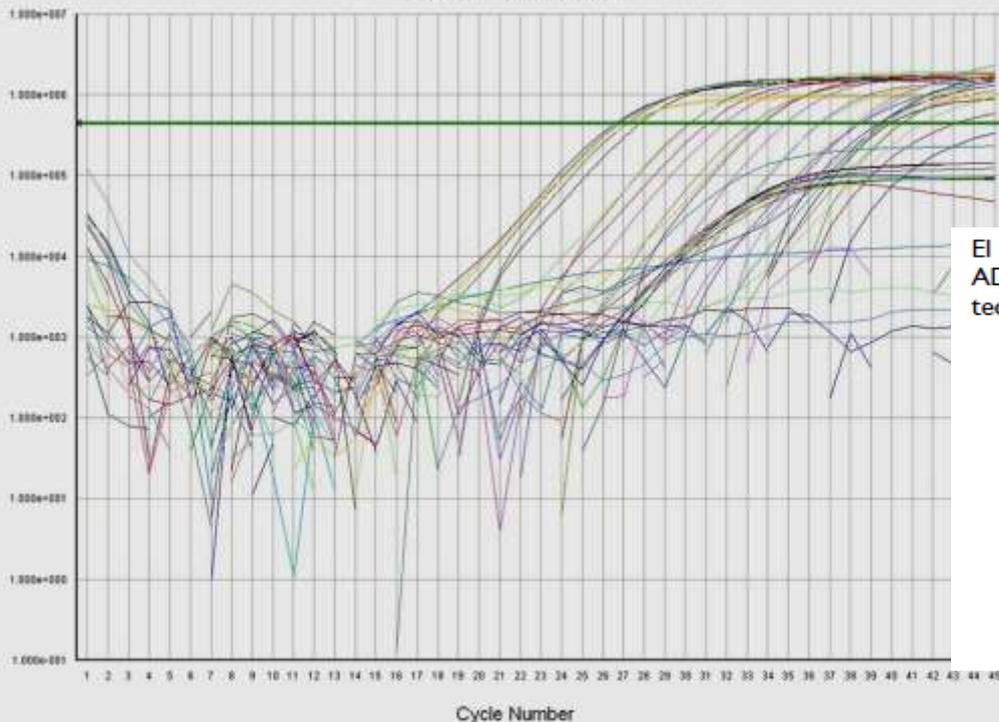
molecular diagnostics
for personalised medicine

TheraScreen: EGFR29 Kit para mutaciones

Para la detección de 29 mutaciones en el gen del receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR)

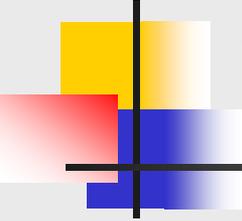


Delta Rn vs Cycle



El kit permite la detección de las siguientes mutaciones frente a un fondo de ADN genómico natural en un ensayo de PCR en tiempo real basado en tecnología DxS Scorpions® (ver en el apéndice I los detalles de las mutaciones).

- 19 deleciones en el exón 19 (detecta la presencia de cualquiera de las 19 deleciones, pero no distingue entre ellas)
- T790M
- L858R
- L861Q
- G719X (detecta la presencia de G719S, G719A o G719C pero no distingue entre ellas)
- S768I
- 3 inserciones en el exón 20 (detecta la presencia de cualquiera de las 3 inserciones, pero no distingue entre ellas)



Puntos a tratar

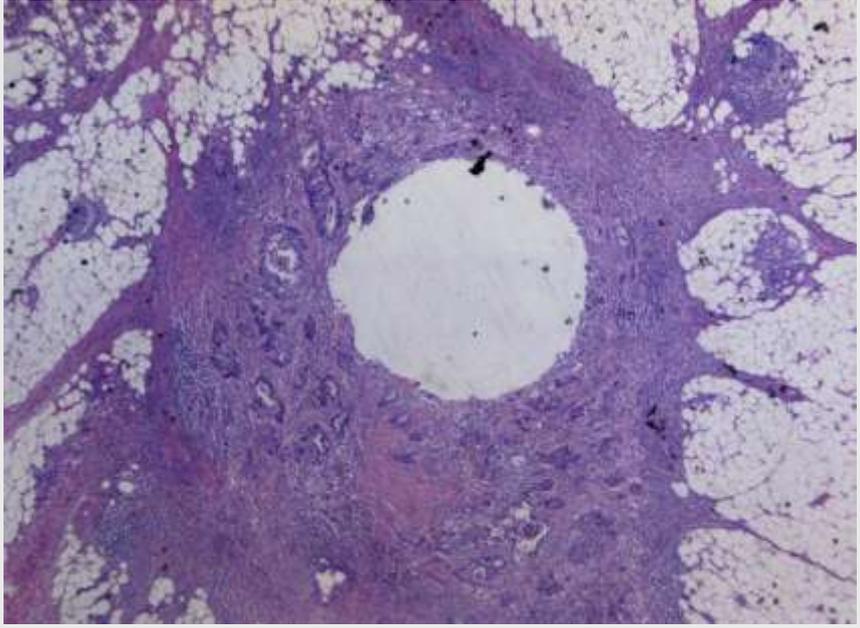
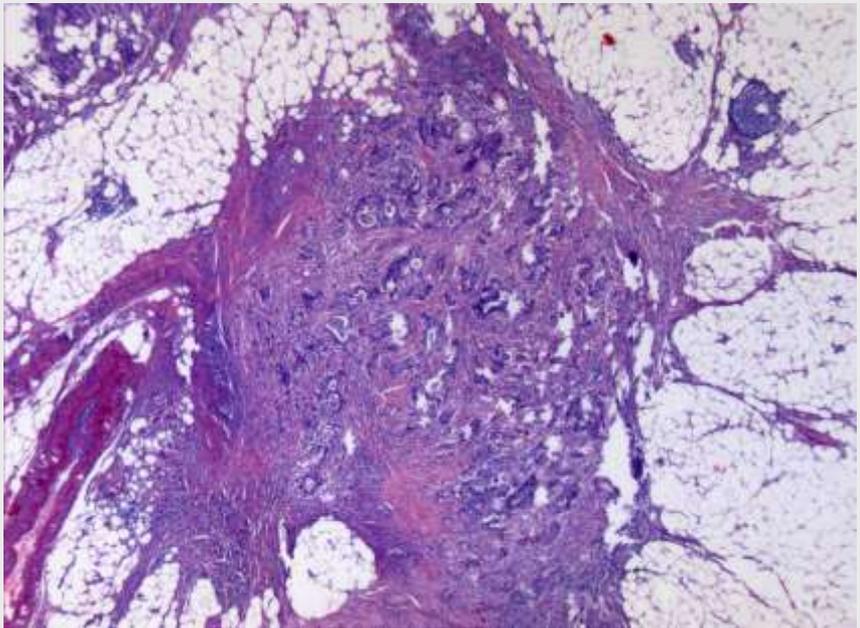
- Y ¿por qué?
- Y ¿cuándo?
- Ya, ya, pero ¿cuándo, cuándo?
- Y ¿dónde?
- Y ¿cómo?
- Y ¿cómo sé que lo estoy haciendo bien?

Criterios de calidad

- Fijación menos de 24 horas
- Formol tamponado al 10%
- Proporción de fijador adecuada
- Temperatura ambiente
- Piezas quirúrgicas
 - Seleccionar un fragmento de tumor que debe fijarse en las condiciones idóneas de temperatura, tiempo y concentración reservado para el análisis molecular
 - El resto será fijado por insuflación de la manera habitual pudiendo utilizarse este tejido en el caso que no se disponga del bloque especial

Criterios de calidad

- Confirmar morfológicamente que el tejido analizado contiene células neoplásicas
- Estimar el porcentaje de células tumorales incluidas en la muestra
 - Necesario para analizar los resultados moleculares
 - No todas las técnicas aseguran resultados fiables con porcentajes de células tumorales bajos (secuenciación)

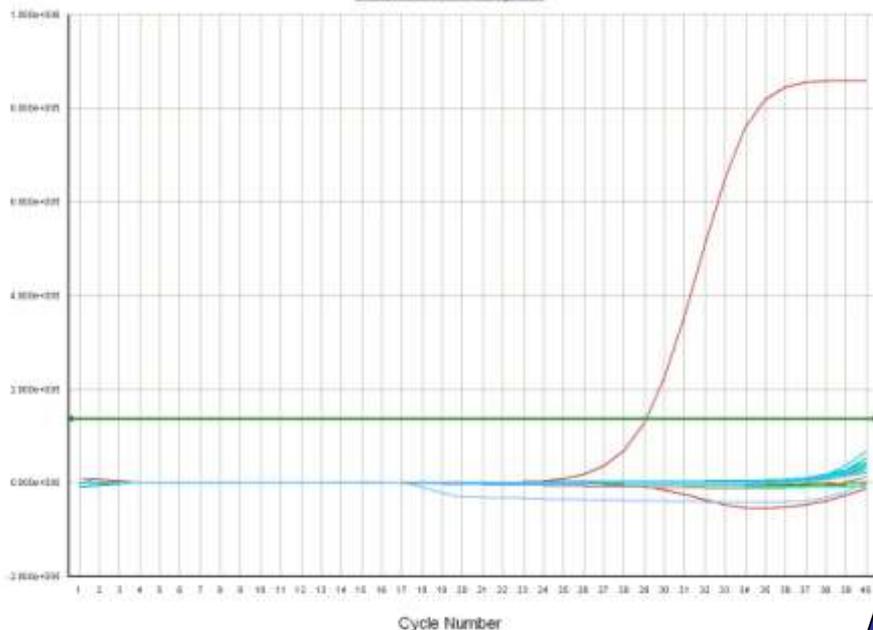


EXTRACCIÓN DE ADN

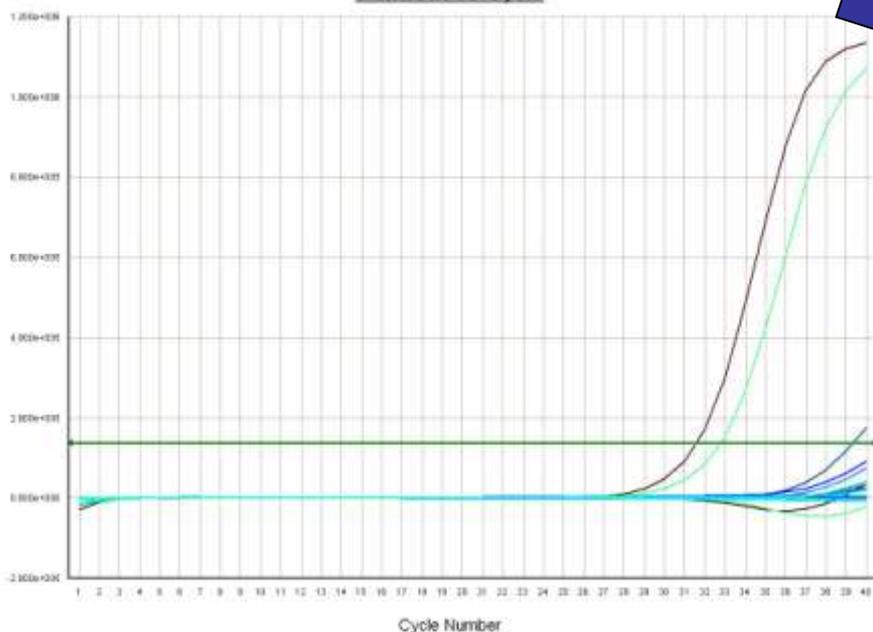
- Métodos automáticos
 - Qiacube (resinas)
 - Magnapure (magnético)
- Manuales
 - Proteinasa K (20 ng/ml) más detergente (Tween 20) 50%
 - 55°C tiempo variable
 - Hervido 100° durante 10 minutos
 - Centrifugación 12.000 10 minutos
 - Fase líquida
- Rendimiento
 - 10-200 nanogr/microl



Delta Rn vs Cycle



Delta Rn vs Cycle



Mutación	Exón	Cambio en la base	Cosmic ID
T790M	20	2369C>T	6240
L858R	21	2573T>G	6224
L861Q	21	2582T>A	6213
S747N	20	2303G>T	6241
G797A	18	2156G>C	6239
S747S	18	2155G>A	6252
G797C	18	2155G>T	6253
Deleciones	20	2307_2308ins9	12376
		2319_2320insCAC	12377
		2310_2311insGGT	12378
Deleciones	19	2235_2249del15	6223
		2235_2252>AAT (complejo)	13551
		2236_2253del18	12728
		2237_2251del15	12678
		2237_2254del18	12367
		2237_2255>T (complejo)	12384
		2236_2250del15	6225
		2238_2255del18	6220
		2238_2248>GC (complejo)	12422
		2238_2252>GCA (complejo)	12419
		2239_2247del9	6218
		2239_2253del15	6254
		2239_2256del18	6255
		2239_2248TTAAGAGAAG >C (complejo)	12382
		2239_2258>CA (complejo)	12387
		2240_2251del12	6210
2240_2257del18	12370		
2240_2254del15	12369		
2239_2251>C (complejo)	12383		

- Sensibilidad: 1 célula mutada entre 100 wt
- Cantidad mínima: 150 células

Muestra TIPO: INTERCONSULTA

INFORME DE PATOLOGÍA MOLECULAR (RC.APA.04.14-04)

Tipo de Estudio Realizado: Análisis de Identificación Molecular de Mutaciones en el gen EGFR

Diagnóstico: Se realiza técnica para la detección de mutaciones en los exones 18, 19, 20 y 21 de EGFR por métodos de PCR en tiempo real que resulta:

Resultado: POSITIVA para la Mutación L858R en el exón 21 de EGFR

Observaciones: Tecnología utilizada DxS Scorpions (TheraScreen)

Sensibilidad alcanzada: 1% de celularidad con mutaciones sobre fondo celular no mutado.

Material tisular utilizado: Tejido neoplásico fijado en formol e incluido en parafina.

Procedencia de la biopsia: Tejido tumoral pulmonar

Porcentaje de células tumorales en la muestra: 40%

Mutaciones detectadas por el ensayo: Deleción exón 19, Mutaciones L858R y L861Q en exón 21,

Mutación G791X en exón 18, inserciones en exón 20 y Mutación S7881 en exón 20

Equipamiento utilizado: 7300 RealTime PCR System. Applied Biosystems.

Técnica realizada en el bloque B10-07121-A2

Inf. Asociado: B10-07121

Consensus for *EGFR* Mutation Testing in Non-small Cell Lung Cancer

Results from a European Workshop

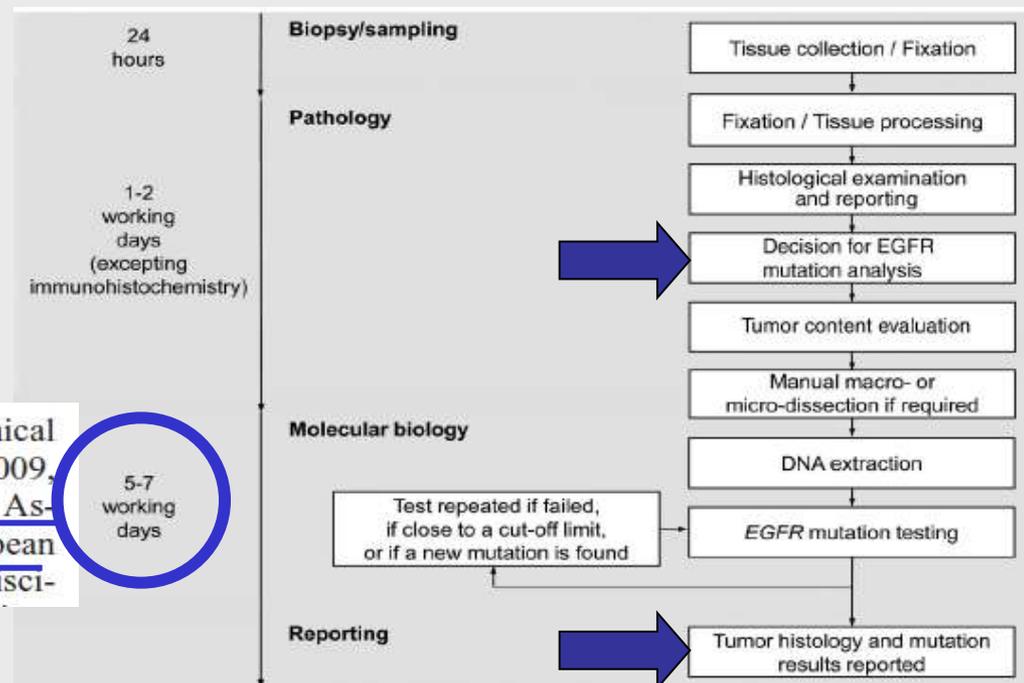
Robert Pirker, MD,* Felix J. F. Herth, MD, PhD, FCCP,† Keith M. Kerr, MD, FRCPath,‡
Martin Filipits, PhD,* Miquel Taron, PhD,§|| David Gandara, MD,¶|| Fred R. Hirsch, MD,#
Dominique Grunenwald, MD,** Helmut Popper, MD,†† Egbert Smit, MD, PhD,‡‡
Manfred Dietel, MD,§§ Antonio Marchetti, MD, PhD,|||| Christian Manegold, MD,¶¶
Peter Schirmacher, MD,### Michael Thomas, MD, PhD,† Rafael Rosell, MD, PhD,§||
Federico Cappuzzo, MD,*** and Rolf Stahel, MD†††; on Behalf of the European *EGFR* Workshop Group

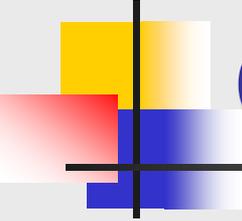
Conclusion: The recommendations of the workshop will help implement *EGFR* mutation testing in Europe and, thereby, optimize the use of *EGFR*-TKIs in clinical practice.

Key Words: Epidermal growth factor receptor, *EGFR* mutation, *EGFR* testing recommendations, Gefitinib, Erlotinib, Non-small cell lung cancer, Tyrosine kinase inhibitors.

(*J Thorac Oncol.* 2010;5: 1706–1713)

The “*EGFR* testing in NSCLC: from biology to clinical practice” workshop was held on 27–28 November 2009, Vienna, Austria, under the auspices of the [International Association for the Study of Lung Cancer](#) and the [European Thoracic Oncology Platform](#). This European multidisci-





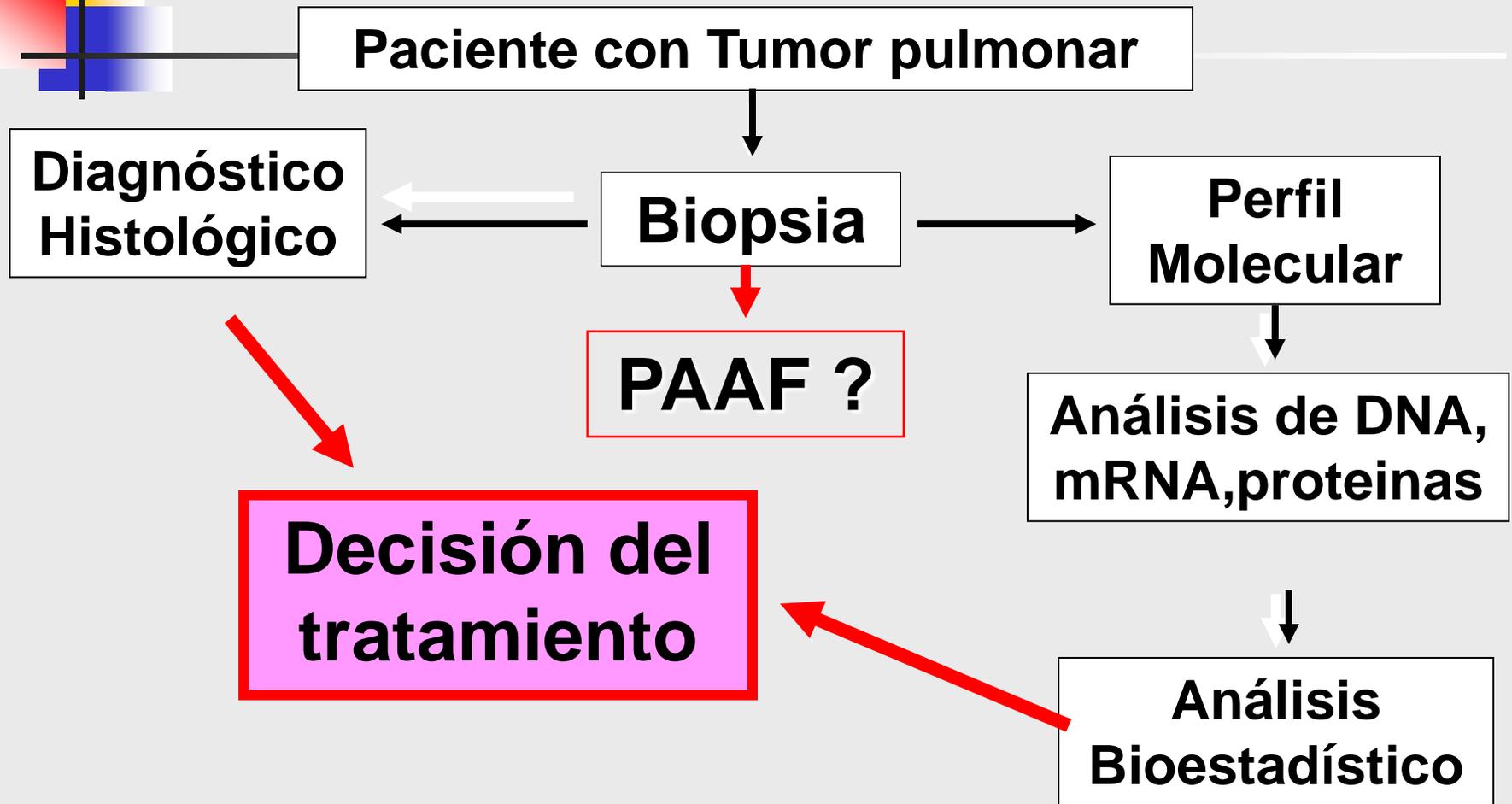
Controles de calidad

- Internos
 - Reevaluar al año un porcentaje de casos
- Externos
 - Control de calidad SEAP en Patología Molecular

Gestión por procesos

- Calidad de un producto
 - Características técnicas
 - Percepción del receptor del producto
 - Comparación con él mismo a lo largo del tiempo (**estandarización**)
 - Adecuación a la norma
- ISO: International Standardization Organization
 - No variabilidad por causas organizativas
 - Garantizar la continuidad del proceso asistencial

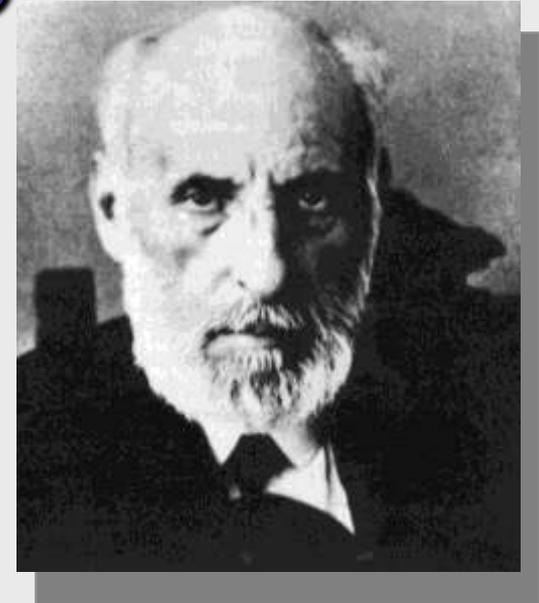
Perfil molecular y clasificación del cáncer de pulmón



Los retos del futuro

■ Ante los retos del futuro hay tres tipos de personas:

- Las que lo hacen llegar
- Las que dejan que llegue
- Las que se preguntan ¿cómo llegó?



Se ha dicho tantas veces que el problema de España es un problema de cultura. Urge, en efecto, si queremos incorporar a los pueblos civilizados, cultivar intensamente la granja de nuestra tierra y de nuestros cerebros, salvando para la prosperidad y enaltecimiento patrio toda la vida que se pierden en el mar y todos los talentos que se pierden en la ignorancia.

J. Ramón Cajal

Hijos, lo intentásteis al máximo y fracasásteis. La lección es: no intentarlo nunca

