

## Artículo Original

### Estudio de los polimorfismos L858R y G719S del dominio tirosina quinasa del receptor del factor de crecimiento epidermal (EGFR) en individuos de la población ecuatoriana afectos de cáncer pulmonar.

#### *Study of polymorphisms L858R y G719S of the tyrosine kinase domain of epidermal growth factor receptor (EGFR) in normal and lung cancer Ecuadorian people.*

Andrés López-Cortés<sup>a,b</sup>, Melissa Arévalo<sup>a,b</sup>, María José Muñoz<sup>a,b</sup>, Gabriela Oleasa<sup>a,b</sup>, María Eugenia Sánchez<sup>a,b</sup>, César Paz y Miño<sup>a,b</sup>

a. Laboratorio de Genética Molecular y Citogenética Humana.

Pontificia Universidad Católica del Ecuador. Quito – Ecuador.

b. Instituto de Investigaciones Biomédicas. Universidad de las Américas. Quito – Ecuador.

#### RESUMEN

**Introducción:** El cáncer pulmonar representa la primera causa de muerte por neoplasias en países más industrializados, y la cuarta en Ecuador. La fosforilación del dominio tirosina quinasa (TK) del receptor del factor de crecimiento epidermal (EGFR) inicia la cascada de señales de transducción intracelular. La presencia de mutaciones EGFR causa la sobreexpresión de receptores en la membrana celular, induciendo la inhibición de apoptosis, proliferación celular incontrolada y metástasis.

**Materiales y métodos:** Es un estudio retrospectivo. Se analizaron 189 individuos ecuatorianos. Se obtuvo 80 muestras de tejido pulmonar embebido en parafina de individuos con carcinoma pulmonar y 109 muestras de sangre periférica de individuos control. Se extrajo el ADN de las muestras y se hizo genotipaje mediante la técnica reacción en cadena de la polimerasa – fragmentos de restricción de longitud polimórfica (PCR-RFLP). Se analizó estadísticamente mediante la prueba de Chi-cuadrado y Odds Ratio (OR).

**Resultados:** 91% de individuos con cáncer de pulmón de células no pequeñas presentó adenocarcinoma y dentro de este histotipo el 51% de individuos presentó mutaciones EGFR: 79% L858R y el 21% G719S. Se encontraron diferencias significativas entre individuos sanos y afectos con respecto a la variante L858R ( $p < 0,001$ ) y diferencias no significativas con respecto a G719S ( $p > 0,05$ ). El riesgo relativo para los individuos L858R fue  $OR = 5,9$ ; IC 95% 2,7-13,1; y con G719S fue  $OR = 2,5$ ; IC 95% 0,71-8,9.

**Conclusión:** Estos polimorfismos influyen en el riesgo de desarrollar cáncer pulmonar, sugiriéndose el estudio de más mutaciones EGFR y de inhibidores tirosina quinasa (ITQ).

**Palabras claves:** Apoptosis, EGFR, G719S, L858R, oncogén, dominio tirosina quinasa, ITQ.

#### Correspondencia:

César Paz y Miño M.D. D.B.  
Instituto de Investigaciones Biomédicas  
Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad de las Américas  
Dirección: Av. Granados y Colimes  
Teléfono: (593-2) 3981000  
E-mail: cpazymino@uamericas.edu.ec

#### ABSTRACT

**Introduction:** Lung cancer is the first cause of cancer deaths in the most industrialized countries, and the fourth in Ecuador. Phosphorylation of the tyrosine kinase domain (TK) of epidermal growth factor receptor (EGFR) is the leading cause that initializes the downstream of intracellular signal transduction. EGFR gene mutations causes the overexpression of receptors in the cell membrane, leading to the inhibition of apoptosis, uncontrolled cell proliferation, and metastasis.

**Material and methods:** This was a retrospective study where 189 Ecuadorians individuals were analyzed. 80 samples of paraffin embedded blocks of individuals with lung cancer and 109 samples of peripheral blood of healthy individuals were obtained. DNA extraction from the samples was carried out; genotype was determined by polymerase chain reaction – restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP), and statistical analyses by means of Chi-square and Odds Ratio (OR) tests were done.

**Results:** Concerning those individuals affected with non-small cell lung cancer, 91% of them were diagnosed with adenocarcinoma, and from this histotype, 51% had EGFR mutations: 79% L858R and 21% G719S. A highly significant difference was found among healthy and affected individuals regarding the appearance of the L858R ( $p < 0,001$ ) variant and non significant difference were found for G719S ( $p > 0,05$ ) variant. Relative risk for L858R variant individuals was  $OR = 5,9$ ; IC 95% 2,7-13,1; and for G719S was  $OR = 2,5$ ; IC 95% 0,71-8,9.

**Conclusion:** The polymorphisms L858R y G719S of the tyrosine kinase domain of epidermal growth factor receptor (EGFR) have influence in the risk of lung cancer development; therefore, a research of EGFR polymorphisms and tyrosine kinase inhibitors (TKI) are suggested.

**Key words:** Apoptosis, EGFR, G719S, L858R, oncogene, tyrosine kinase domain, TKI.



## 1. Introducción.

La Organización Mundial de la Salud establece que el cáncer de pulmón representa la primera causa de muerte en los países más industrializados <sup>(1)</sup>. En Estados Unidos, en el año 2007, se diagnosticaron 213.380 nuevos casos de cáncer pulmonar, siendo el total de defunciones de 160.380, es decir, el 75%<sup>(2)</sup>. En Ecuador, según el Instituto Nacional de Estadística y Censos (INEC), el cáncer de pulmón representa la cuarta causa de muerte entre los tumores malignos, seguido del cáncer gástrico, pancreático y de mama; siendo las provincias de mayor incidencia Guayas (32,8%), Pichincha (20,7%) y Manabí (7,5%) <sup>(3)</sup>.

La etiología del cáncer de pulmón tiene en cuenta la inhalación de sustancias que poseen actividad carcinogénica; el factor de riesgo más importante es el tabaco, sin embargo, la incidencia del cáncer de pulmón ha ido en aumento en personas no fumadoras, lo cual sugiere que otros factores tienen importancia, como la exposición al asbesto, radón; la contaminación por hidrocarburos aromáticos policíclicos <sup>(4)</sup>.

La familia de receptores de factores de crecimiento epidérmico (ERBB) es uno de los sistemas de receptores localizados en la membrana citoplasmática que presentan actividad tirosina quinasa (TQ); están implicados en procesos de señalización celular, los cuales han sido ampliamente caracterizados y relacionados en neoplasias epiteliales como el cáncer pulmonar <sup>(5,6)</sup>. Está conformada por cuatro miembros: EGFR, ERBB2, ERBB3 y ERBB4<sup>(7-9)</sup>. El receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR) se localiza en el brazo corto del cromosoma 7 humano (7p12.1-12.3), está formado por 28 exones (118 kb) y los exones del 18 al 24 forman el dominio tirosina quinasa <sup>(10)</sup>. El gen EGFR codifica a una proteína precursora de 1210 aminoácidos, conformada por el dominio extracelular del receptor membranal, constituida por dos zonas de residuos de cisteína, entre las que se encuentra el sitio de unión al ligando; el dominio transmembranal lipofílico; y el dominio intracelular que presenta un sitio catalítico, el cual es responsable de la actividad TQ intrínseca <sup>(11)</sup>.

En este dominio se encuentra un residuo de lisina (Lys721), responsable de la unión del ATP al receptor y en el extremo más distal del dominio citoplasmático se encuentran cinco residuos de tirosina (Tyr992, Tyr1045, Tyr1068, Tyr1148 y Tyr1173) que son susceptibles a ser fosforilados después de producirse la dimerización del receptor <sup>(12,13)</sup>. La fosforilación del dominio citosólico TQ es el suceso clave que inicia la cascada de señales de transducción intracelular mediante la activación de las vías MAPK, P13K que regulan la proliferación celular y angiogénesis <sup>(14,15)</sup>. Las mutaciones

somáticas del gen EGFR se encuentran agrupadas en la región de enlace a las moléculas de ATP del dominio TQ. Dentro de esta región de encuentran los polimorfismos G719S y L858R <sup>(16)</sup>. El polimorfismo G719S (exón 18), consiste en el cambio del residuo glicina por serina, siendo a nivel de bases el cambio de guanina por adenina <sup>(17)</sup>. El polimorfismo L858R (exón 21) consiste en el cambio del residuo leucina por arginina, siendo a nivel de bases el cambio de timina por guanina <sup>(17-19)</sup>. Estas variaciones se correlacionan con la presencia de factores oncogénicos y mecanismos apoptóticos <sup>(15)</sup>.

Por ello, los objetivos planteados en esta investigación consistieron en correlacionar la presencia de los polimorfismos L858R y G719S en población sana y afecta con cáncer pulmonar y con ello determinar si dichos polimorfismos pueden ser utilizados como biomarcadores clínicos de la enfermedad. De la misma forma se planteó como objetivo el determinar la frecuencia alélica del gen EGFR en población ecuatoriana y compararlo con población de otras regiones continentales.

## 2. Materiales y métodos.

### 2.1 Muestra biológica.

Este estudio trata sobre un diseño retrospectivo. Se analizaron 189 individuos ecuatorianos de sexo masculino y femenino. En cuanto a individuos afectados, se obtuvieron 80 biopsias de tejido tumoral embebido en parafina, de pacientes diagnosticados con cáncer pulmonar en los años 2005 y 2006. La obtención de las muestras tumorales se realizó a través del Departamento de Patología del Hospital Carlos Andrade Marín de Quito. Para control, se obtuvieron 109 muestras de sangre periférica de individuos donantes y cada uno de ellos llenó una encuesta biomédica y consentimiento informado.

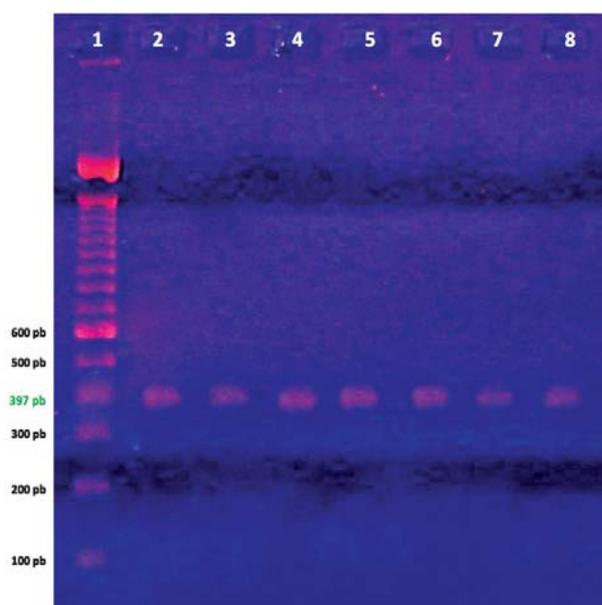
### 2.2 Técnica de extracción del ADN

La extracción de ADN a partir de muestras de sangre periférica de individuos sanos, se realizó a través del protocolo de extracción con sales (Salting Out), en donde no hubo fragmentación del ADN (20). La extracción de ADN de muestras de cáncer pulmonar embebido en parafina se realizó mediante el uso de PureLink™ Genomic DNA Kit Invitrogen™, en donde se observó fragmentación de ADN. Posteriormente se obtuvo la concentración de las muestras de ADN mediante la migración en gel de agarosa con el marcador molecular Low DNA Mass Ladder Invitrogen™, siendo los niveles de concentración óptima para la PCR de 100 ng/μl de ADN de tejido tumoral y de 120 ng/μl de ADN de sangre periférica.



### 2.3 Reacción en cadena de la polimerasa (PCR)

Para la amplificación del fragmento de 397 pb del exón 18 del gen EGFR, se obtuvo un volumen final de PCR de 25  $\mu$ l. Cada muestra estuvo conformada por 10,85  $\mu$ l de H<sub>2</sub>O Milli-Q, 2,5  $\mu$ l de buffer 10x, 0,75  $\mu$ l de MgCl<sub>2</sub>, 2  $\mu$ l de dNTPs a una concentración de 200mM, 2,5  $\mu$ l del cebador F: 5'-tccaaatgagctggcaagtg-3', 2,5  $\mu$ l del cebador R: 5'-tcccaaacactcagtgaaacaaa-3' (BioSynthesis Inc.), 0,4  $\mu$ l de Taq polimerasa InvitrogenTM y 3,5  $\mu$ l de muestra de ADN. Luego de obtener la reacción de PCR se procedió a colocar las muestras en el termociclador MJ Research PTC 200® (MJ-Research Inc., Watertown, Mass., USA) para su amplificación. El primer paso de denaturación inicial duró 15 min a 95°C, seguido de 35 ciclos de 20s a 95°C, 20s a 57°C, 30s a 72°C y 3 min a 72°C<sup>(21)</sup> (Figura 1).

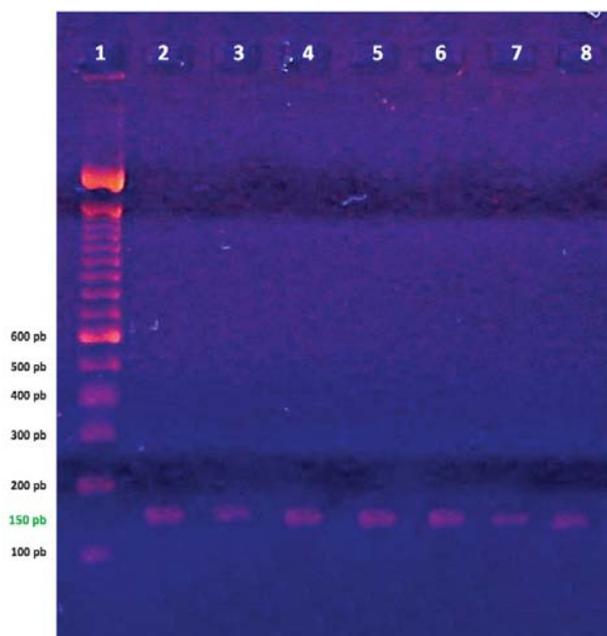


**Figura 1.** Amplificación del exón 18 del gen EGFR mediante PCR.

En el primer carril (izquierda) se observa el marcador de peso molecular de 100 pb. En los carriles del 2 al 8, se observa los fragmentos amplificados de 397 pb de individuos sanos y afectados.

Para la amplificación del fragmento de 150 pb del exón 21 del gen EGFR se obtuvo un volumen final de PCR de 25  $\mu$ l por cada muestra, la cual estuvo conformada por 10,85  $\mu$ l de H<sub>2</sub>O Milli-Q, 2,5  $\mu$ l de buffer 10x, 0,75  $\mu$ l de MgCl<sub>2</sub>, 2  $\mu$ l de

dNTPs, 2,5  $\mu$ l del cebador F: 5'-atgaactacttggaggaccgtc-3', 2,5  $\mu$ l del cebador R: 5'-tgcctccttctgcatggtattc-3', 0,4  $\mu$ l de Taq polimerasa y 3,5  $\mu$ l de muestra de ADN; posteriormente se lo amplificó. La denaturación inicial duró 12 min. a 95°C, seguido de 35 ciclos de 30s a 94°C, 30s a 61°C, 30s a 72°C y 20 min a 72°C [22] (Figura 2).



**Figura 2.** Amplificación del exón 21 del gen EGFR mediante PCR.

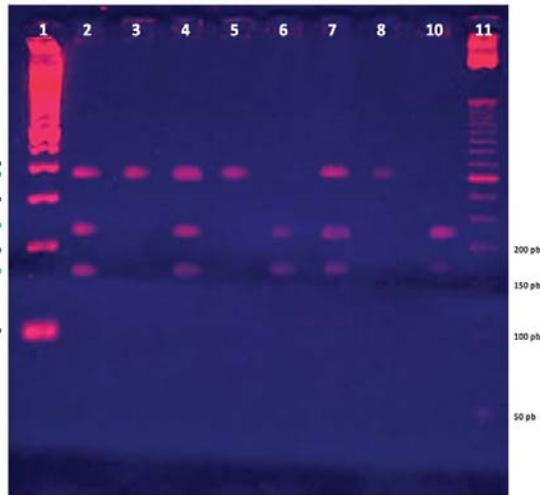
En el primer carril (izquierda) se observa el marcador de peso molecular de 100 pb. En los carriles del 2 al 8, se observa los fragmentos amplificados de 150 pb de individuos sanos y afectados.

### 2.4 Técnica PCR-RFLP

Se determinó el genotipo de los individuos afectados y controles mediante la técnica de reacción en cadena de la polimerasa – fragmentos de restricción de longitud polimórfica (PCR-RFLP). La enzima de restricción Sau96I (New England BioLabs® Inc.) se utilizó para identificar la variante L858R, mientras que la enzima SacI permitió identificar la variante G719S. Cuando la enzima de restricción no reconoce el sitio de corte se trata de un ADN no mutado, observándose en el gel de agarosa una banda de 397 pb y se demuestra que se trata de un individuo homocigoto (gli/gli); cuando se observa tres bandas (397, 227 y 170 pb), se trata de un heterocigoto



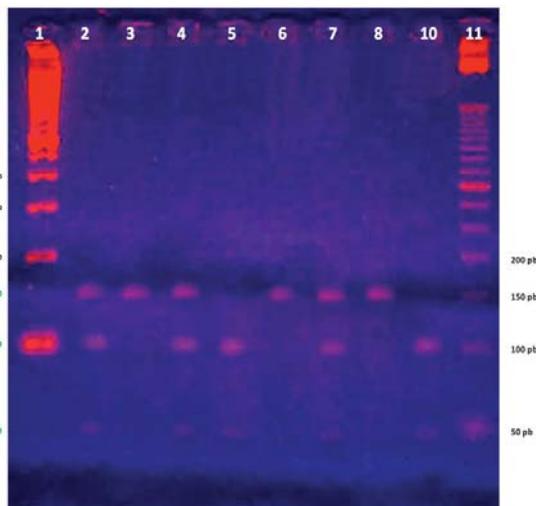
(gli/ser); y cuando se observan dos bandas (227 y 170 pb), se trata de un homocigoto (ser/ser) (Figura 3).



**Figura 3.** Genotipos para el polimorfismo G719S obtenidos a partir de digestión con la enzima SacI.

En el primer carril (izquierda) se observa el marcador de peso molecular de 100 pb. En los carriles 3, 5 y 8 individuos homocigotos (gli/gli), en los carriles 2, 4 y 7 individuos heterocigotos (gli/ser), en los carriles 6 y 9 individuos homocigotos (ser/ser) y en el último carril el marcador de 50 pb.

Para el polimorfismo L858R, cuando la enzima de restricción no reconoce el sitio de corte se observó una banda de 150 pb tratándose de un homocigoto (leu/leu); si se observa tres bandas (150, 100 y 50 pb), se trató de un heterocigoto (leu/arg); y si se observan dos bandas (100 y 50 pb), se trata de un homocigoto (arg/arg) (Figura 4).



**Figura 4.** Genotipos para el polimorfismo L858R obtenidos a partir de digestión con la enzima Sau96I.

En el primer carril (izquierda) se observa el marcador de peso molecular de 100 pb. En los carriles 3, 6 y 8 individuos homocigotos (leu/leu), en los carriles 2, 4 y 7 individuos heterocigotos (leu/arg), en los carriles 5 y 9 individuos homocigotos (arg/arg) y en el último carril el marcador de 50 pb.

### 2.5 Análisis estadístico

Se calculó la frecuencia alélica de las dos variantes estudiadas. Se calculó las frecuencias genotípicas observadas y esperadas. Mediante Chi-cuadrado se determinó la diferencia significativa entre individuos afectados, sanos y los polimorfismos en estudio L858R y G719S. Se aplicó Odds Ratio (OR) para determinar el riesgo relativo de desarrollar la enfermedad en presencia de L858R y G719S, entre individuos afectados y control (23). También se aplicó OR para establecer si el tabaquismo presentó correlación con los polimorfismos en estudio y con la enfermedad. El análisis estadístico se llevó a cabo usando SPSS para Windows, versión 12.0.

## 3.- Resultados.

### 3.1 Parámetros bio-patológicos

Los parámetros bio-patológicos considerados en este estudio fueron la edad, género, tabaquismo y el histotipo. La edad media de los individuos control, al momento de adquirir su historial clínico, fue 56 años; mientras que, la edad media de los individuos con cáncer pulmonar al momento del diagnóstico fue 68 años. Con respecto al sexo, en individuos control, 73 (67%) fueron hombres y 36 (33%) mujeres; mientras que el 52 (65%) individuos afectados fueron hombres y 28 (35%) mujeres. Acerca de los individuos con presencia de mutaciones EGFR, 17 (46%) fueron hombres y 21 (54%) fueron mujeres.

57 (30%) de ellos presentaron antecedentes de fumador, y 132 (70%) de ellos no fueron fumadores. En los individuos con presencia de mutaciones EGFR, 15 (39%) de ellos fueron fumadores y 23 (61%) fueron no fumadores. Respecto al tipo histológico, 75 (94%) afectados presentó cáncer de pulmón de células no pequeñas (CPCNP), de los cuales el 91% presentó adenocarcinoma; del total de individuos con adenocarcinoma, 37 (49%) presentaron mutaciones EGFR. Por el contrario, 5 (6%) afectados presentaron cáncer de pulmón de células pequeñas (CPCP) y ninguno de ellos presentó mutaciones EGFR.

### 3.2 Frecuencia alélica de los polimorfismos L858R y G719S

Con respecto al polimorfismo L858R, 99 individuos sanos fueron homocigotos para el alelo leucina, 1 fue heterocigoto

(leu/arg) y 9 fueron homocigotos para el alelo arginina; en los individuos afectos, 50 fueron homocigotos para leucina, 5 fueron heterocigotos (leu/arg) y 25 homocigotos para arginina. La frecuencia del alelo leucina para casos fue 0,66 y para controles fue 0,91; mientras que la frecuencia del alelo arginina para casos fue 0,34 y para controles fue 0,09 (Tabla 1).

Tabla 1 Frecuencia y distribución del polimorfismo L858R

Grupo	Genotipo	No. individuos	%	No. alelos	Frecuencia observada	Frecuencia esperada	Frecuencia alélica
Afectos	leu/leu	50	63	100	0,63	0,43	0,66
	leu/arg	5	6	10	0,06	0,45	
	arg/arg	25	31	50	0,31	0,12	0,34
	Σ	80					
Controles	leu/leu	99	91	198	0,91	0,83	0,91
	leu/arg	1	1	2	0,01	0,16	
	arg/arg	9	8	18	0,08	0,01	0,09
	Σ	109					

Con respecto a G719S, 105 casos fueron homocigotos para el alelo glicina, 1 fue heterocigoto (gli/ser) y 3 fueron homocigotos para serina; en los individuos afectos, 73 fueron homocigotos para el alelo glicina, 2 fueron heterocigotos (gli/ser) y 5 homocigotos para serina. La frecuencia del alelo glicina para casos fue 0,92 y para controles fue 0,96; mientras que la frecuencia del alelo serina para casos fue 0,08 y para controles fue 0,04 (Tabla 2).

Tabla 2 Frecuencia y distribución del polimorfismo G719S

Grupo	Genotipo	No. individuos	(%)	No. alelos	Frecuencia observada	Frecuencia esperada	Frecuencia alélica
Afectos	gli/gli	73	91	146	0,91	0,846	0,92
	gli/ser	2	3	4	0,03	0,147	
	ser/ser	5	6	10	0,06	0,006	0,08
	Σ	80					
Controles	gli/gli	105	96	210	0,96	0,921	0,96
	gli/ser	1	1	2	0,01	0,076	
	ser/ser	3	3	6	0,03	0,002	0,04
	Σ	109					

### 3.3 Análisis estadístico

Con respecto al polimorfismo L858R, al correlacionar los datos del total de 80 individuos afectos y 109 individuos sanos, se obtuvo un nivel de significación de 0,001 y 2 grados de libertad, un  $\chi^2$  de 22,4 ( $p < 0,001$ ). En cuanto al polimorfismo G719S, se obtuvo a un nivel de significación de 0,05 y 2 grados de libertad, un  $\chi^2$  de 2,2 ( $p > 0,05$ ).

La prueba de OR permitió determinar el riesgo relativo de individuos afectos y controles relacionados con la presencia de los polimorfismos L858R y G719S. Del total de 80 individuos afectos, 30 de ellos presentaron alelo mutante (L/R o R/R) y 50 de ellos presentaron alelo normal (L/L), por el contrario, del total de 109 individuos sanos, 10 presentaron alelo mutante y 99 de ellos alelo normal; se obtuvo un OR de 5,9 (OR=5,9 IC95%=2,7-13,1;  $p < 0,001$ ). En cuanto al polimorfismo G719S, del total de 109 individuos control, 4 de ellos presentaron alelo mutante (G/S o S/S) y 105 no presentaron alelo mutante (G/G), del total de 80 individuos afectos, 7 de ellos presentaron alelo mutante y 73 de ellos presentaron alelo normal; obteniéndose un OR de 2,5 (OR=2,5 IC95%=0,71-8,9;  $p > 0,05$ ). También se aplicó la prueba OR para determinar el riesgo relativo relacionado con el factor tabaquismo, obteniéndose un OR de 0,033 (OR=0,033 IC95%=0,007-0,155;  $p < 0,001$ ).

### 4.- Discusión.

El análisis de los parámetros bio-patológicos realizados a los individuos control y con carcinoma pulmonar, demostró que la edad avanzada es un factor de riesgo para adquirir esta enfermedad; esto se debe al deterioro progresivo que sufren las células pulmonares, las cuales se relacionan con la edad y la exposición a carcinógenos a lo largo de la vida <sup>(24)</sup>. En cuanto al tabaquismo, se determinó que el riesgo de presentar esta enfermedad es 117,7 veces mayor en fumadores activos, es decir, se evidencia que el tabaquismo es el factor de riesgo más relacionado con cáncer pulmonar <sup>(25,26)</sup>. Sin embargo, la mayoría (61%) de individuos con mutaciones EGFR no eran fumadores activos y presentaron un OR de 0,033; es decir, no existió riesgo relativo entre fumar y presentar polimorfismos en el dominio TQ. Dentro del CPCNP, el histotipo más representativo fue el adenocarcinoma con un 91%, lo cual se corroboró en la literatura <sup>(27)</sup>.

Los individuos en estudio con polimorfismos L858R y G719S presentaron histotipo adenocarcinoma. Con respecto a L858R, se observó con mayor frecuencia el alelo leucina en individuos afectos, la prueba de Chi-cuadrado determinó que existe diferencia altamente significativa con respecto a la presencia del polimorfismo L858R entre individuos afectos y controles; por lo tanto, la presencia de este polimorfismo se asocia con la presencia de esta enfermedad. La prueba OR determinó que existe 5,9 veces más riesgo de presentar cáncer pulmonar cuando se presenta genotipo mutado. Con respecto al polimorfismo G719S, la prueba de Chi-cuadrado determinó que no existe diferencia significativa con respecto a la presencia de este polimorfismo entre casos y controles, por lo tanto, la presencia del polimorfismo no está relacionada



a la presencia de la enfermedad en esta población<sup>(17)</sup>. Investigaciones internacionales demuestran que las mutaciones EGFR se encuentran sobreexpresadas en individuos con carcinoma pulmonar<sup>(28)</sup>. En Japón la prevalencia de las mutaciones EGFR varía entre el 25 y el 40%, en China el 18%, en Taiwán el 55%, al igual que existe una alta incidencia en Corea y Tailandia, en Estados Unidos varía entre el 8% al 10%<sup>(17,18,29-33)</sup>. Según esta investigación, en el Ecuador se observó que el polimorfismo L858R se encuentra sobreexpresado, estando presente en el 47% de individuos con esta neoplasia. Se están realizando estudios sobre infecciones con virus del papiloma humano, estatus nutricional, susceptibilidad genética, infecciones inmunológicas, tuberculosis y asma como causas para que mujeres no fumadoras, asiáticos y diagnosticados con adenocarcinoma presenten con mayor frecuencia carcinoma pulmonar y polimorfismos en el gen EGFR<sup>(9,10,17,18,26,32,34-36)</sup>.

Existe una alta frecuencia del polimorfismo L858R en población ecuatoriana, al igual que en población europea y asiática; pero diferenciándose de población norteamericana. Estos polimorfismos del gen EGFR, al igual que la alta incidencia ya confirmada de otros genes como BCR-ABL, CYP1A1, RB1, hMSH2, FQ, NF2 en población ecuatoriana, puede deberse a las múltiples oleadas migratorias realizadas por tres grupos étnicos típicos (caucasoide, negroide y mongoloide), evidenciándose flujos poblacionales de

Asia, Europa y Oceanía, y por ello la pluriétnicidad o polihibridización en la composición de los habitantes de América y del Ecuador<sup>(37-43)</sup>.

El gen EGFR también se encuentra asociado en la patogénesis de carcinomas de la cabeza y cuello, ovario, cérvix, vejiga, esófago, estómago, cerebro, mama, endometrio y colon<sup>(9,35,40,44)</sup>. Se ha demostrado que las mutaciones EGFR son marcadores moleculares sensibles a los inhibidores de tirosina quinasa (ITQ) Gefitinib (Iressa; ZD-1839, AstraZeneca, Osaka, Japón) y Erlotinib (Tarceva; OSI-774, OSI, Genentech y Roche)<sup>(9,10,17,26,35,37,45,46)</sup>. Se ha reportado que los tratamientos de cáncer de pulmón con ITQ presentan una efectividad del 70% en individuos con mutaciones EGFR, además este tratamiento es efectivo tan sólo en el 10% de individuos sin mutaciones EGFR<sup>(26)</sup>. A modo de resumen, podemos decir que la presencia de mutaciones EGFR incide en la capacidad de adquirir carcinoma pulmonar, que el polimorfismo L858R es uno de los más frecuentes en el dominio TQ de individuos con cáncer pulmonar<sup>(47)</sup> y que al investigar una muestra de población ecuatoriana existe alta frecuencia del polimorfismo L858R y menor frecuencia en el polimorfismo G719S. Finalmente, sería importante realizar futuros estudios acerca de otros polimorfismos EGFR y acerca de la eficacia de los ITQ en población ecuatoriana afecta.

## Bibliografía:

- 1.- OMS Centre International de Recherche sur le Cancer. Rapport Biennal 2000-2001 Lyon France, 2002.
- 2.- American Cancer Society. Cancer Facts and Figures 2007. Atlanta, Ga: American Cancer Society, 2007.
- 3.- Instituto Nacional de Estadísticas y Censos. Anuario de Estadísticas Vitales, Nacimientos y Defunciones. Ecuador, 2005.
- 4.- Gozetti G, Mastroiilloi M, Bragalia RB, Schiviana M, Fransschelli N, Bussuttil, et al. Surgical management of N2 lung cancer. Lung Cancer 1986;2:96.
- 5.- Robinson DR, Wu YM, Lin SF. The protein tyrosine kinase family of the human genome. Oncogene 2000;19(49):5548-5557.
- 6.- Casalini P, Iorio MV, Galmozzi E, et al. Role of HER receptors family in development and differentiation. J Cell Physiol 2004;200(3):343-350.
- 7.- Olayioye MA, Neve RM, Lane HA, et al. The ErbB signalling network: Receptor heterodimerization in development and cancer. EMBO J 2000;19:3159-3167.
- 8.- Yarden Y, Sliwkowski MX. Untangling the ErbB signalling network. Nature Rev Mol Cell Biol 2001;2:127-137.
- 9.- Sasaki H, Endo K, Takada M, Kawahara M, Kitahara N, Tanaka H, et al. L858R EGFR mutation status correlated with clinic-pathological features of Japanese lung cancer. Lung Cancer 2006;54(1):103-8.
- 10.- Ahmed SM, Salgia R. Epidermal growth factor receptor and susceptibility to targeted therapy in lung cancer. Respirology 2006;11(6):687-92.
- 11.- Wells A. EGF receptor. Int J Biochem Cell Biol 1999;31(6):637-43.
- 12.- Downward J. Ras signalling and apoptosis. Curr Opin Genetics Dev 1998;8(1):49-54.
- 13.- Zhang X, et al. An Allosteric Mechanism for Activation



- of the Kinase Domain of Epidermal Growth Factor Receptor. *Cell* 2006;125:1137-1149.
- 14.- Soltoff, S. Related adhesion focal tyrosine kinase and the epidermal growth factor receptor mediate the stimulation of mitogen-activated protein kinase by the G-protein-coupled P2Y2 receptor: phorbol ester or Ca<sup>2+</sup> elevation can substitute for receptor activation. *J Biol Chem* 1998;273(36):23110-7.
- 15.- Jorrissen R, Walker F, Pouliot N, et al. Epidermal growth factor receptor: mechanisms of activation and signaling. *Exp Cell Res* 2003;284(1):31-35.
- 16.- Kosaka T, Yatabe Y, Endoh H, Kuwano H, Takahashi T, Mitsumodi T. Mutations of the epidermal growth factor receptor gene in lung cancer: biological and clinical implications. *Cancer Res* 2004;64:8919-8923.
- 17.- Paez JG, Janne PA, Lee JC, Tracy S, Greulich H, Gabriel S, et al. EGFR mutations in lung cancer: correlation with clinical response to gefitinib therapy. *Science* 2004;304:1497-500.
- 18.- Lynch TJ, Bell DW, Sordella R, Gurubhagavatula S, Okimoto RA, Brannigan BW, et al. Activating mutations in the epidermal growth factor receptor underlying responsiveness of non-small-cell lung cancer to gefitinib. *N Engl J Med* 2004;350:2129-39.
- 19.- Mitsudomi T, Kosaka T, Endoh H, Horio Y, Hida T, Mori S, et al. Mutations of the epidermal growth factor receptor gene predict prolonged survival after gefitinib treatment in patients with non-small-cell lung cancer with postoperative recurrence. *J Clin Oncol* 2005;23:2513-20.
- 20.- Sambrook J, Fritsch E, Maniatis T. *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*. New York, Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989.
- 21.- Sasaki H, Endo K, Konishi A, Takada M, Kawahara M, Iuchi K, et al. EGFR Mutation Status in Japanese Lung Cancer Patients: Genotyping Analysis Using LightCycler. *Clin Cancer Res* 2005;11(8):2924-2929.
- 22.- Nomura M, Shigematsu H, Li Lin, Suzuki M, Takahashi T, Estess P, et al. Polymorphisms, Mutations, and Amplification of the EGFR Gene in Non-Small Cell Lung Cancers. *PLOS Medicine* 2007;4:715-727.
- 23.- Ponce E, Martínez E, Ávila M. Estudios epidemiológicos de casos y controles. Fundamento teórico, variantes y aplicaciones. *Salud pública de México* 2001;43(2):135-150.
- 24.- Dos Santos I. *Epidemiología del Cáncer: Principios y Métodos*. Agencia Internacional sobre el cáncer. Organización Mundial de la Salud, 1999.
- 25.- National Cancer Institute. Lung Cancer (PDQ®) Health professional version. U.S. National Institutes of Health. actualizada 2007; citada 26 abril 2008.. Disponible en: [www.cancer.gov](http://www.cancer.gov), 2007.
- 26.- Zhang X, Chang A. Somatic mutations of the epidermal growth factor receptor and non-small-cell lung cancer. *J Med Genet* 2007;44:166-172.
- 27.- Ruiz A, Cabezón M, Sáez M, Lara P. Cáncer de pulmón. Servicio de Oncología Radioterápica Hospital General de Gran Canaria "Dr. Negrín". Instituto Canario de Investigación del Cáncer. *Biocáncer*, 2004.
- 28.- Yeh KH, Yeh SH, Wan JP, Shen YC, Cheng AL. Somatic mutations in epidermal growth factor receptor underlying complete responsiveness to gefitinib in a Taiwanese female patient with metastatic adenocarcinoma of lung. *Anticancer drugs* 2005;16(7):739-42.
- 29.- Zhao YL, Li Q, Li XH, Han WD, Hao HJ, Wu ZQ. Epidermal growth factor receptor mutation in non-small cell lung cancer and breast cancer. *Yi chuan* 2007;29(5):547-53.
- 30.- Huang SF, Liu HP, Li LH, Ku YC, Fu YN, Tsai HY, et al. High frequency of epidermal growth factor receptor mutations with complex patterns in non-small cell lung cancer related to gefitinib responsiveness in Taiwan. *Clin Cancer Res* 2004;10:8195-203.
- 31.- Sriuranpong V, Chantranuwat C, Huapai N, et al. High frequency of mutation of epidermal growth factor receptor in lung adenocarcinoma in Thailand. *Cancer Lett* 2006;239:292-7.
- 32.- Shigematsu H, Lin L, Takahashi T, Nomura M, Suzuki M, Witsub II, et al. Clinical and biological features associated with epidermal growth factor receptor gene



- mutation in lung cancers. *Journal of Natl Cancer Inst* 2005;97:339-46.
- 33.- Marchetti A, Martella C, Felicioni L, Barassi F, Salvatore S, Chella A, et al. EGFR mutations in non-small-cell lung cancer: analysis of a large series of cases and development of a rapid and sensitive method for diagnostic screening with potential implications on pharmacologic treatment. *J Clin Oncol* 2005;23:857-65.
- 34.- Sakuma Y, Matsukuma S, Yoshihara M, Nakamura Y, Nakayama H, Kameda Y, et al. Epidermal growth factor receptor gene mutations in atypical adenomatous hyperplasias of the lung. *Mod pathol* 2007;20(9):967-73.
- 35.- Okabe T, Okamoto I, Tamura K, Terashima M, Yoshida T, Satoh T, et al. Differential constitutive activation of the epidermal growth factor receptor in non-small cell lung cancer cells bearing EGFR gene mutation and amplification. *Cancer Res* 2007;67(5):2046-53.
- 36.- Sequist L, Joshi V, Janne P, Bell D, Fidias P, Lindeman N, et al. Epidermal Growth Factor Receptor Mutation Testing in the Care of Lung Cancer Patients. *Clin Cancer Res* 2006;12(14):4403s-4408s.
- 37.- Paz-y-Miño C, Burgos R, Morillo S, Santos JC, Fiallo F, Leone PE. BCR-ABL rearrangement frequencies in CML and ALL in Ecuador, South America. *Cancer Genet Cytogenet* 1998;132:65-67.
- 38.- Paz-y-Miño C, Pérez JC, Burgos R, Dávalos MV, Leone PE. The  $\Delta$ F508 mutation in Ecuador, South America. *Hum Mutat* 1999;14:348-350.
- 39.- Paz-y-Miño C, Leone PE. Three novel somatic mutations in the  $\Delta$ NF2 tumor suppressor gene (g816T>A; g1159A>G; gIVS11-1G>T). *Hum Mutat* 2000;15(5):487.
- 40.- Paz-y-Miño C, Pérez JC, Fiallo BF, Leone PE. A polymorphism in the hMSH2 gene (gIVS12-6T>C) associated with non-Hodgkin lymphomas. *Cancer Genet Cytogenet* 2001;133:29-33.
- 41.- Leone PE, Vega ME, Jervis P, Pestaña A, Alonso J, Paz-y-Miño C. Two new mutations and three novel polymorphisms in the RB1 gene in Ecuadorian patients. *J Hum Genet* 2003;48(12):639-641.
- 42.- Paz-y-Miño C, Arévalo M, Sánchez ME, Leone PE. Chromosome and DNA damage analysis in individuals occupationally exposed to pesticides with relation to genetic polymorphism for CYP1A1 gene in Ecuador. *Mutat Res* 2004;562:77-89.
- 43.- Paz-y-Miño C. Caracterización de secuencias de ADN repetidas en tándem (STRs) en población mestiza ecuatoriana. *Pontificia Universidad Católica del Ecuador* 2005;59-60.
- 44.- Hirsch FR, Franklin WA, Veve R, Varella-Garcia M, Bunn PA. HER2/neu expression in malignant lung tumors. *Semin Oncol.* 2002;29:51-8.
- 45.- Yatabe Y, Mitsumodi T. Epidermal growth factor receptor mutations in lung cancers. *Pathol Int* 2007;57(5):233-44.
- 46.- Young Tae Kim, Tae-you Kim, Dong Soon Lee, Sun Jung Park, Ju-yeon Park, Soon-Jung Seo, et al. Molecular changes of epidermal growth factor receptor (EGFR) and KRAS and their impact on the clinical outcomes in surgically resected adenocarcinoma of lung cancer. *Lung Cancer* 2008;59:111-118.
- 47.- Sharma S, Bell D, Settleman J, Haber D. Epidermal -growth factor receptor mutations in lung cancer. *Nature Rev Cancer.* 2007;(7):169:181.

