

**Artigo**

## Mutações *drivers* em câncer de pulmão não-pequenas células (CPNPC)

Clarissa Baldotto<sup>1</sup>, Pedro Masson<sup>1,2</sup>, Mauro Zukin<sup>1</sup>, Luiz Henrique Araujo<sup>1,2</sup>

### Resumo

O câncer de pulmão não pequenas células (CPNPC) foi durante muito tempo descrito como uma única doença. A partir do maior conhecimento dos mecanismos de carcinogênese e dos avanços da biologia molecular, foram identificados subtipos moleculares específicos. Essas alterações moleculares são consideradas condutoras (*drivers*), quando são capazes de guiar o comportamento clínico dos tumores. Com esse conhecimento novas drogas foram desenvolvidas, capazes de inibir a ativação dessas proteínas mutantes. O primeiro exemplo de sucesso foi visto com os inibidores de tirosina quinase de EGFR, em pacientes com a presença de mutações específicas nesse gene. A partir daí muitas outras alterações vem sendo descritas e deparamo-nos com os benefícios clínicos impressionantes da medicina de precisão.

Descritores Câncer de pulmão, terapia alvo, mutações driver.

### Abstract

Non-small cell lung cancer has long been described as a unique disease. Since the last advances and better understanding of carcinogenesis mechanisms and molecular biology, specific molecular subtypes have been identified. These alterations are considered drivers, when they guide tumor clinical behavior. After driver mutations identification, new drugs have been developed to inhibit the activation of these mutant proteins. The first successful example was seen with tyrosine kinase EGFR inhibitors in patients with positive specific mutations in this gene. After this discovery many other molecular subtypes have been described and are resulting on these impressive clinical benefits from precision medicine.

Keywords: Lung cancer, targeted therapy, driver mutations

1. Instituto COI de Educação e Pesquisa

2. Instituto Nacional de Câncer José de Alencar Gomes da Silva

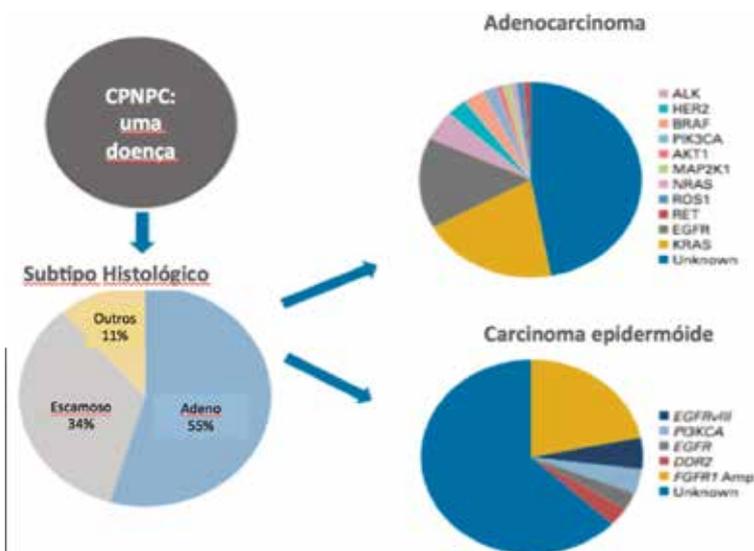
**Endereço para contato:** Av. das Américas, 6205 Loja E Barra da Tijuca Rio de Janeiro- RJ cep:22793-080

**Email:** clarissabaldotto@grupocoi.com.br

## Introdução

Por décadas a classificação dos tumores de pulmão não-pequenas células era realizada exclusivamente através de análise histológica. Adenocarcinoma, carcinoma escamoso e carcinoma de grandes células são os subtipos histológicos mais frequentes e, portanto, os mais relevantes. Apesar de refletir algumas características clínicas da doença, essa subdivisão não possuía real impacto preditivo, ou seja, não era capaz de ser usada como ferramenta para uma terapia personalizada.

Mais recentemente, após o desenvolvimento das técnicas de sequenciamento genômico e de métodos de avaliação de alteração moleculares como expressão, amplificação e fusão gênica, fomos capazes de identificar subgrupos de alterações moleculares responsáveis por determinados fenótipos tumorais, que guiam o comportamento clínico desses tumores (Figura 1).



**Figura 1.** Evolução da classificação histológica e molecular do câncer de pulmão não pequenas células

Exemplo claro desse fato se dá pela detecção e pelo amplo uso de mutações condutoras (*drivers*) na classificação e tratamento dessa doença<sup>1</sup>. Mutações *drivers* são alterações genéticas que quando presentes são diretamente responsáveis pela ativação constitutiva de cascatas de sinalização intracelular, que induzem proliferação e invasão. Ou seja, essas mutações são necessárias para o surgimento do fenótipo maligno. Além do mais, as mutações *drivers* conferem uma dependência biológica em que as proteínas mutantes geradas tornam-se fundamentais para a manutenção da sobrevivência dessas células malignas. Outra característica relevante dessas alterações genéticas é o seu caráter exclusivo. Quando uma determinada mutação *driver* é detectada usualmente ela é única. Dependência biológica e caráter exclusivo fazem com que as mutações *drivers* ser tornem bons biomarcadores para seleção de pacientes para terapias alvo<sup>2</sup>.

Com o desenvolvimento de drogas inibidoras da porção tirosina quinase dessas proteínas mutantes, de-

paramo-nos com os benefícios clínicos impressionantes da medicina de precisão. Drogas inibidoras da proteína mutante do receptor do fator de crescimento epidérmico (*EGFR*) foram um dos primeiros exemplos do uso da terapia alvo em CPNPC. Pacientes com CPNPC metastático que carregavam a mutação no *EGFR*, além de possuir características clínicas distintas (mais comum em pacientes com adenocarcinoma, do sexo feminino, não tabagistas e de etnia asiática), apresentaram taxas de resposta e sobrevivência livre de progressão (SLP) duplicada com a exposição a essas terapias<sup>3</sup>. Posteriormente à descoberta das mutações no *EGFR*, diversas outras foram descritas, cada uma com diferentes características clínicas, prognósticas e preditivas de respostas a determinadas drogas alvo (Tabela 1)<sup>4</sup>. A seguir detalharemos algumas das principais alterações moleculares em câncer de pulmão, e seu impacto na prática clínica.

## EGFR (Receptor do Fator de Crescimento Epidérmico)

Um subgrupo de pacientes com câncer de pulmão pode apresentar determinadas mutações somáticas no gene que codifica o *EGFR*. Nessa população, o uso de inibidores de tirosina quinase (TKI) de *EGFR* é um dos exemplos mais bem sucedidos nos últimos tempos da chamada terapia-alvo.

Depois de tratar aleatoriamente pacientes com CPNPC avançado com TKI, com resultados positivos porém semelhantes aos da quimioterapia, observamos que um subgrupo de pacientes com fenótipo específico (mulheres, asiáticas, não-fumantes, com adenocarcinoma) vinha obtendo respostas mais expressivas<sup>5</sup>. A partir desse pressuposto, um

estudo clínico de fase 3, enriquecido com essas características clínicas, foi capaz de demonstrar que havia uma especificidade no genótipo, mutações no gene de EGFR, que se traduzia em maior benefício com o tratamento com TKI de *EGFR*<sup>6</sup>. Diante dessa descoberta, passamos aos estudos que selecionavam pacientes com a mutação do EGFR e comparamos com a então terapia padrão (quimioterapia baseada em platina). O resultado foi significativamente melhor para o TKI. Estávamos diante de um novo padrão no tratamento desses pacientes, um novo paradigma. Passamos a selecionar os pacientes não só baseados no tipo histológico, ou pelo fenótipo, mas a partir de agora priorizando o genótipo.

A prevalência dessas mutações pode variar de, aproximadamente, 15% na população ocidental até 60% em população asiática. Há diferentes tipos de mutação de EGFR. As mais comuns, que conferem sensibilidade aos TKIs são as deleções do exon 19 e a inversão L858R do exon 21. Diversos estudos de fase III, prospectivos,

**Tabela 1.** Principais mutações *drivers* identificadas associadas a terapias- alvo

Eventos <i>drivers</i>	Terapia alvo possível	Prevalência em CPNPC
<i>EGFR</i>	Erlotinibe Gefitinibe Afatinibe	9-51%
<i>ALK</i>	Crizotinibe	4-6%
<i>ROS1</i>	Crizotinibe	1-2%
<i>BRAF V600E</i>	Vemurafenibe Dabrafenibe	2-3%
Amplificação <i>MET</i> , mutação Exon 14 <i>MET</i>	Crizotinibe	3-4%
<i>RET</i>	Cabozatinibe	1-2%
<i>HER2</i>	Trastuzumabe Afatinibe	1-2%

Fonte: Adaptado de [www.nccn.org](http://www.nccn.org) versão 4.2016 (1)

randomizados, compararam TKI versus quimioterapia baseada em platina no tratamento de primeira linha de pacientes com mutação de *EGFR* e mostraram maior taxa de resposta (TR) e de SLP com o uso de TKIs. Os principais estudos clínicos estão representados na Tabela 2.

Apesar de uma excelente resposta inicial, os pacientes sempre desenvolvem resistência aos TKIs. Os mecanismos de resistência começaram a ser elucidados. O mais comum é a presença de uma mutação secundária de resistência, observada em até 60% dos casos, quando há uma substituição da metionina pela treonina na posição 790 (T790M), no exon 20. Na tentativa de neutralizar esse mecanismo, uma nova geração de TKIs foi desenvolvida e o Osimertinib é o principal exemplo dessa estratégia. Esta droga teve sua aprovação acelerada pelo *Food and Drug Administration* (FDA) baseado em estudo de fase II com 253 pacientes mostrando TR de 61% e SLP aproximada de 10 meses. Resultados muito superiores aos obtidos com quimioterapia padrão<sup>14</sup>. A *American Society of Clinical Oncology* (ASCO) preconiza que todos os pacientes com mutação ativadora do *EGFR* expostos a um TKI de primeira ou segunda gerações e que tenham apresentado progressão de doença, em vigência do

**Tabela 2.** Principais estudos com inibidores de tirosina quinase de *EGFR* em pacientes com mutação de *EGFR*

Estudo	Droga	Taxa de Resposta (EGFR TKI vs QT)	SLP (m) (EGFR TKI vs QT)
IPASS <sup>7</sup>	Gefitinibe	71% vs 47%	9,5 vs 6,3 m (HR=0,48)
NEJSG002 <sup>8</sup>	Gefitinibe	74% vs 31%	10,8 vs 5,4 m (HR=0,30)
WJTOG3405 <sup>9</sup>	Gefitinibe	62% vs 32%	9,2 vs 6,3 m (HR=0,49)
EURTAC <sup>10</sup>	Erlotinibe	58% vs 15%	9,7 vs 5,2 m (HR=0,37)
OPTIMAL <sup>11</sup>	Erlotinibe	83% vs 36%	13,1 vs 4,6m (HR=0,16)
LUX-LUNG 3 <sup>12</sup>	Afatinibe	56% vs 23%	11,1 vs 6,9 m (HR=0,58)
LUX-LUNG 6 <sup>13</sup>	Afatinibe	67% vs 23%	11,0 vs 5,6 m (HR=0,28)

EGFR (receptor do fator de crescimento epidérmico); TKI (inibidor de tirosina quinase); QT (quimioterapia); SLP (sobrevida livre de progressão)

mesmo, sejam rebiopsiados e/ou submetidos a biopsia líquida para investigação do mecanismo adquirido de resistência à droga. Na ausência dessa mutação, o tratamento de escolha passa a ser de quimioterapia com platina.

## ALK e ROS-1

Dentre as alterações moleculares que são condutoras (*drivers*) de carcinogênese e passíveis de terapia-alvo

destacam-se as translocações dos genes *ALK* (*anaplastic lymphoma kinase*) e *ROS-1*. Aproximadamente 4% dos pacientes com Adenocarcinoma de pulmão apresentam uma inversão no cromossomo 2, que aproxima a terminação 5' do gene *EML4* (echinoderm microtubule-associated protein-like 4) da terminação 3' do gene *ALK*, resultando no oncogene de fusão *EML4-ALK*. Desde sua descoberta, outros genes parceiros da fusão com *ALK* também foram identificados. Essa alteração é mais frequente em indivíduos não fumantes, mais jovens e com adenocarcinoma.

Pacientes com câncer de pulmão avançado e *ALK* positivo possuem alta sensibilidade aos inibidores de tirosina quinase de *ALK*. Estudos clínicos de fase 3 compararam a eficácia do crizotinibe, um inibidor de tirosina quinase de *ALK* de 1ª geração, com a quimioterapia padrão. O estudo PROFILE 1007 mostrou ganho de SLP, TR e qualidade de vida para pacientes que já haviam falhado a quimioterapia de primeira linha<sup>15</sup>. E o estudo PROFILE 1014 mostrou os mesmos resultados em pacientes virgens de tratamento<sup>16</sup>. O ganho de sobrevida global não pôde ser demonstrado, provavelmente pelo alto índice de cruzamento nos estudos.

Apesar dos bons resultados, todos os pacientes desenvolvem resistência ao crizotinibe após alguns meses de tratamento. Alguns dos mecanismos que levam à falha terapêutica já foram identificados, como mutações secundárias (ex: L1196M, G1269A), amplificação de *ALK* e alterações em outras vias

factor-1 receptor) e KIT. Desde o desenvolvimento clínico do crizotinibe, novos inibidores de ALK foram identificados, como o ceritinib e o alectinib, sendo utilizados no momento da falha ao crizotinibe. Estudo clínico recente de fase 3, em população asiática, sugeriu que o alectinib possa ser superior ao crizotinibe em pacientes virgens de tratamento<sup>17</sup>.

ROS-1 também é um receptor de tirosina quinase que atua como condutor de carcinogênese em 1-2 % dos pacientes com CPNPC, quando seu gene sofre uma translocação com outros genes (ex: CD74). As características clínicas são semelhantes às dos pacientes com ALK translocado. Trata-se de uma alteração molecular também altamente sensível ao crizotinibe. Um estudo clínico com esta droga foi conduzido com 50 pacientes politratados e portadores de translocação de ROS1, mostrando alta TR e SLP<sup>18</sup>.

## Outras alterações moleculares

Outras alterações *drivers* em CPNPC podem ser classificadas como alterações de receptores de membrana ou de proteínas intracitoplasmáticas. Entre os receptores estão RET, HGFR e ERBB2, enquanto BRAF se destaca como proteína citoplasmática. Em CPNPC, as translocações de RET foram inicialmente descritas em 2011, envolvendo *KIF5B* (*kinesin family member 5B*) como parceiro. Subsequentemente, *CCDC6*, *NCOA4* e *TRIM33* foram descritos como parceiros de *RET*. Assim como as fusões de ALK e ROS1, fusões de RET predominam em não-tabagistas e na histologia adenocarcinoma, com uma frequência global em torno de 1% a 2% em CPNPC<sup>19</sup>. Resultados preliminares de cabozantinibe – um TKI com múltiplos alvos e atividade anti-RET – mostraram uma elevada taxa de resposta em pacientes com translocações de RET. Outros agentes em testagem neste cenário incluem sorafenibe, sunitinibe, vandetanibe e ponatinibe. Dados mais recentes têm sugerido que a resposta aos inibidores possa depender do parceiro de RET, com maior benefício nas fusões envolvendo *CCDC6* e menor com *KIF5B*.

O receptor do fator de crescimento de hepatócitos (do inglês *hepatocyte growth factor receptor* ou HGFR) é um receptor com atividade tirosina quinase codificado pelo gene *MET* e tem papel fundamental no desenvolvimento embrionário pulmonar. Este alvo ganhou importância com a descoberta recente de mutações em sítios de *splicing* em adenocarcinomas pulmonares. Estas mutações levam à perda da codificação do exon 14 e previnem o receptor de se ligar a enzimas com atividade E3 ligase e, por conseguinte, bloqueia a sua degradação. As mutações de perda do exon 14 de *MET* acontecem em aproximadamente 4% dos adenocarcinomas pulmonares e têm sido testadas como biomarcador de sensibilidade aos inibidores de HGFR, como crizotinibe. Dados preliminares de um estudo de fase I (Profile 1001) demonstra-

ram uma taxa de resposta de 44% e controle de doença de 94% com crizotinibe em CPNPC<sup>20</sup>.

Um outro receptor de interesse é o ERBB2 (também conhecido como *human epidermal growth factor receptor 2* [HER2]/neu), membro da família erbB de receptores juntamente com *EGFR*. Mutações de ERBB2 foram identificadas em aproximadamente 2% dos casos, representadas por inserções no exon 20 ao redor do códon 776. Estas inserções ocorrem predominantemente em mulheres, não-tabagistas, com histologia adenocarcinoma. Estudos baseados em séries de casos sugerem que trastuzumabe pode ser ativo em adenocarcinomas pulmonares que apresentam mutações de *ERBB2*<sup>21</sup>. Ademais, inibidores irreversíveis contra ERBB2 e EGFR como neratinibe, dacomitinibe e afatinibe se mostraram promissores em estudos pré-clínicos e ensaios clínicos iniciais.

Entre os efetores intracelulares se destacam as proteínas da família RAF, serina/treonina cinases que podem ser ativadas por mutações pontuais. *BRAF* é o membro mais comumente mutado em câncer de pulmão, em aproximadamente 3% dos casos. Dabrafenibe – um inibidor específico contra a forma mutada V600E de *BRAF* – apresentou uma taxa de resposta promissora da ordem de 40% em um estudo de fase 2 envolvendo pacientes com adenocarcinoma pulmonar que apresentava esta mutação. Mais recentemente, uma combinação de dabrafenibe e trametinibe levou a uma taxa de resposta de 63% e uma taxa de controle de doença de 79% em pacientes com CPNPC acometidos por mutações tipo V600E em *BRAF*<sup>22</sup>. A duração mediana de resposta foi de 9 meses, dados superiores àqueles encontrados com monoterapia.

## Conclusão

O desenvolvimento da biologia molecular propiciou enormes avanços no tratamento do CPNPC. Hoje a terapia-alvo é uma realidade, trazendo benefícios para um grande número de pacientes. Entretanto, a totalidade das drogas alvos desenvolvidas até hoje são ativas em alterações moleculares detectadas quase que exclusivamente no subtipo histológico adenocarcinoma. Na realidade, mais da metade dos CPNPC ainda não tiveram mutações *drivers* identificadas. Desta forma, esperamos que o conhecimento crescente sobre os mecanismos de carcinogênese, aliado a adaptações nos desenhos de estudos clínicos possam continuar descobrindo novos alvos e principalmente tratamentos menos tóxicos e mais precisos.

## Referências

- Sequist LV, Heist RS, Shaw AT, et al. Implementing multiplexed non-small-cell lung cancers into routine clinical practice. *Ann Oncol* 2011;22(12):2616–24.
- Barlesi F, Blons H, Beaur-Faller M et al. Biomarkers (BM) France: Results of routine EGFR, HER2, KRAS, BRAF, PI3KCA mutations detection and EML4-ALK gene fusion assessment on the first 10,000 non-small cell lung cancer (NSCLC) patients (pts). 2013 ASCO annual Meeting abstract #8000.
- Rosell R, Moran T, Queralt C, et al; Spanish Lung Cancer Group Screening for epidermal growth factor receptor mutations in lung cancer. *N Engl J Med* 2009;361:958–967.
- NCCN Clinical Practice Guidelines. Non-Small-Cell Lung Cancer Version 4.16. [www.nccn.org](http://www.nccn.org) (acesso em 03/10/2016).
- Shepherd FA, Pereira JR, Ciuleanu T et al. Erlotinib in Previously Treated Non-Small-Cell Lung Cancer. *N Engl J Med* 2005; 353:123-132
- Mok TS, Wu YL, et al. Gefitinib or Carboplatin-Paclitaxel in Pulmonary Adenocarcinoma. *N Engl J Med* 2009; 361:947-57
- Tony S. Mok, Yi-Long Wu, et al. Gefitinib or Carboplatin-Paclitaxel in Pulmonary Adenocarcinoma. *N Engl J Med* 2009; 361:947-57
- Tetsuya Mitsudomi, Satoshi Morita, et al. Gefitinib versus cisplatin plus docetaxel in patients with non-small-cell lung cancer harbouring mutations of the epidermal growth factor receptor (WJTOG 3405): an open label, randomised phase 3 trial. *Lancet Oncol* 2010; 11:121-
- Makoto Maemondo, Akira Inoue, et al. Gefitinib or Chemotherapy for non-small-cell lung cancer with mutated EGFR. *N Engl J Med* 2010; 362:2380-88
- Caicun Zhou, Yi-Long Wu, et al. Erlotinib versus Chemotherapy as first line treatment for patients with advanced EGFR mutation-positive non-small-cell lung cancer (OPTIMAL, CTONG – 0802): a multicenter, open-label, randomized, phase 3 study. *Lancet Oncol* 2011; 12:735-42
- Rafael Rosell, Enric Carcereny, et al. Erlotinib versus standard chemotherapy as first-line treatment for European patients with advanced EGFR mutation-positive non-small-cell lung cancer (EUR-TAC): a multicenter, open-label, randomized phase 3 trial. *Lancet Oncol* 2012; 13:239-46
- Lecia V. Sequist, James Chih-Hsin Yang, et al. Phase 3 study of Afatinib or Cisplatin plus Pemetrexed in patients with metastatic Lung Adenocarcinoma with EGFR mutations. *J Clin Oncol* 2013; 31:3327-34
- Yi-Long Wu, Caicun Zhou, et al. Afatinib versus Cisplatin plus Gemcitabine for first-line treatment of Asian patients with advanced non-small-cell lung cancer harbouring EGFR mutations (LUX-LUNG 6): an open-label, randomized phase 3 trial. *J Clin Oncol* 2014; 15231-22
- Pasi A. Janne, James Chih-Hsin Yang, et al. AZD9291 in EGFR Inhibitor-Resistant Non-Small-Cell Lung Cancer. *N Engl J Med* 2015; 372:1689-99.
- Shaw AT, Kim DW, Nakagawa K, et al. Crizotinib versus chemotherapy in advanced ALK-positive lung cancer. *N Engl J Med* 2013; 368:2385.
- Solomon BJ, Mok T, Kim DW, et al. First-line crizotinib versus chemotherapy in ALK-positive lung cancer. *N Engl J Med* 2014; 371:2167.
- Kim DW, Tiseo M, Ahn MJ, Reckamp KL. Brigatinib (BRG) in patients (pts) with crizotinib (CRZ)-refractory ALK+ non-small cell lung cancer (NSCLC): First report of efficacy and safety from a pivotal randomized phase (ph) 2 trial (ALTA). *J Clin Oncol* 2016; 34S: ASCO #9007.
- Shaw AT, Ou SH, Bang YJ et al. Crizotinib in ROS1-rearranged non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med*. 2014;371(21):1963.
- Wang R. et al. RET fusions define a unique molecular and clinicopathologic subtype of non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol* 2012; 30(35): 4352-9.
- Drilon A. et al. Efficacy and safety of crizotinib in patients (pts) with advanced MET exon 14-altered non-small cell lung cancer (NSCLC). *J Clin Oncol* 2016; 34, 2016 (suppl; abstr 108).
- Gatzemeier U. et al. Randomized phase II trial of gemcitabine-cisplatin with or without trastuzumab in HER2-positive non-small-cell lung cancer. *Ann Oncol* 2004; 15: 19-27.
- Planchard D. et al. An open-label phase II trial of dabrafenib (D) in combination with trametinib (T) in patients (pts) with previously treated BRAF V600E-mutant advanced non-small cell lung cancer (NSCLC; BRF113928). *J Clin Oncol* 2016; 34 (suppl; abstr 107).

Apoiadores PulmãoRJ

---



Apoiadores SOPTERJ

---

