



Editorial

Cáncer de pulmón y biopsia líquida: realidades y retos en la práctica clínica

Lung Cancer and Liquid Biopsy: Realities and Challenges in Routine Clinical Practice

 Laura Muínelo-Romay^{a,*}, Jorge García-González^b y Luis León-Mateos^b
^a Unidad de Análisis de Biopsia Líquida, Oncología Médica Traslacional (Oncomet), CIBERONC, Instituto de investigación Sanitaria de Santiago de Compostela (IDIS), Santiago de Compostela, España

^b Departamento de Oncología Médica, Complejo Hospitalario de Santiago de Compostela, SERGAS, Santiago de Compostela, España

En los últimos años estamos viviendo una verdadera revolución en el manejo clínico de los pacientes con cáncer de pulmón. Una de las causas principales, junto con la aparición de los tratamientos de inmunoterapia y las nuevas alternativas de terapia dirigida, es el gran desarrollo que están sufriendo las técnicas de análisis de biopsia líquida. Este término engloba a cualquier fluido biológico que contenga material tumoral que pueda ser caracterizado molecularmente. En este sentido es importante destacar que aunque la sangre es el tipo de biopsia líquida más utilizado, otros fluidos como el líquido pleural o la saliva pueden aportar información valiosa para el diagnóstico, selección de terapia y monitorización de los pacientes con cáncer de pulmón¹.

El valor principal de estudiar biopsia líquida radica en que son muestras de fácil acceso, que pueden ser obtenidas de forma seriada durante la evolución del tumor y nos aportan una visión más global del mismo, ya que contienen material procedente de los distintos focos tumorales que presentan los pacientes¹. Estas características son especialmente importantes para el manejo de los pacientes con cáncer de pulmón, por la dificultad de obtener muestra de tejido, por la necesidad de tener una buena caracterización molecular para poder seleccionar a qué diana dirigir el tratamiento y por el rápido desarrollo de mecanismos de resistencia que los caracteriza².

En la actualidad tenemos cuatro estrategias principales de estudio de biopsia líquida en cáncer de pulmón: la caracterización de las células tumorales circulantes (CTCs), el ADN tumoral circulante (ADNtc), la población de exosomas circulantes y el estudio de plaquetas^{1,3}. De todas ellas, la única que se utiliza hoy en día en clínica en cáncer de pulmón es la caracterización del ADNtc. Las células tumorales liberan a circulación fragmentos de DNA, debido principalmente a procesos de muerte celular⁴. Estos fragmentos de origen tumoral constituyen normalmente menos del 0,1% de todo el DNA libre en circulación, por lo que para poder detectarlos es necesario utilizar técnicas altamente sensibles como la PCR

digital o las nuevas técnicas de secuenciación masiva. Con estas técnicas podemos detectar mutaciones puntuales, alteraciones del número de copias o pequeños *Indels*, con una sensibilidad cercana al 0,01-0,001%^{1,2}. Esto ha supuesto, por ejemplo, que con un simple análisis de sangre tengamos la posibilidad de analizar el estado del panel de mutaciones de *EGFR* que determinan la respuesta al tratamiento con inhibidores de tirosina cinasas⁵. De hecho, actualmente las guías ESMO recomiendan el uso de biopsia líquida para la determinación de la mutación T790M en pacientes con cáncer de pulmón no microcítico que no dispongan de muestra de tejido⁶.

Además de su valor para la selección de terapia, distintos estudios han mostrado como podemos hacer una monitorización precisa de la evolución del cáncer de pulmón analizando los niveles de las mutaciones somáticas que presenta cada paciente^{2,7}. Esto significa que podemos evaluar la evolución clonal, la respuesta al tratamiento o el desarrollo de resistencia meses antes de que las pruebas de imagen evidencien cambios⁸. En pacientes con tumores de pulmón resecaados con intención curativa, podemos determinar también la presencia de enfermedad mínima residual⁹. Por otro lado, el estudio de la carga mutacional de los pacientes utilizando ADNtc constituye una de las herramientas más prometedoras para guiar la selección de inmunoterapia de forma independiente o en combinación con la expresión del *checkpoint inhibitor*, PD-L1¹⁰.

Las hermanas desaventajadas del ADNtc son las CTCs. Estas células son capaces de liberarse del tumor primario o las metástasis y llegar a circulación. La mayoría muere por acción del sistema inmune y la activación de procesos de *anoikis*, pero algunas son capaces de sobrevivir, extravasar y llegar a órganos distales donde anidan y forman un nuevo foco tumoral. Aunque la presencia de estas células en circulación se describió en 1869, hasta hace dos décadas no existían técnicas suficientemente sensibles y específicas para su aislamiento. Es entonces cuando aparecen los primeros trabajos con el sistema CellSearch (Menarini), que es el único equipo con aprobación de la FDA para el uso clínico del recuento de CTCs en pacientes con cáncer de colon, mama y próstata metastásicos¹. En cáncer de pulmón, tanto microcítico como no microcítico, se ha demostrado que niveles superiores a 5 CTCs/7,5 ml de sangre se

* Autor para correspondencia.
Correio electrónico: laura.muinelo.romay@sergas.es (L. Muínelo-Romay).

asocian a peores tasas de supervivencia libre de progresión y global, tanto en pacientes con tumores metastásicos como localizados¹¹. Pero incluso más valiosa que la simple enumeración de CTCs es su caracterización molecular. Distintos estudios han caracterizado la población de CTCs en pacientes con cáncer de pulmón a nivel de genoma y transcriptoma, aportando datos de gran interés para el desarrollo de nuevas terapias^{12,13}. Asimismo, es importante destacar el hito científico que supuso la generación de modelos tumorales murinos derivados de CTCs¹⁴. Con la generación de estos modelos se demostró que estas células eran tumorigénicas y se abrió la puerta al desarrollo de modelos preclínicos en los que hacer cribado personalizado de fármacos sin la necesidad de una muestra sólida del tumor. Lamentablemente, la baja eficiencia de obtención de estos modelos obliga a que su aplicación se limite principalmente a investigación.

Otra fuente importante de información sobre el tumor se encuentra en los exosomas, pequeñas vesículas que portan ADN y ARN en su interior y que son liberados por las células tumorales para, entre otras cosas, favorecer el proceso de diseminación tumoral. Distintos trabajos han demostrado la utilidad del análisis de exosomas circulantes como marcador pronóstico¹⁵. Asimismo, las plaquetas son capaces de asimilar fragmentos de material genético tumoral, por lo que también constituyen una vía interesante para la caracterización y monitorización del cáncer de pulmón¹⁵.

Afortunadamente para los oncólogos y sus pacientes el campo de estudio de biopsia líquida en cáncer de pulmón avanza rápidamente, aunque es necesario seguir progresando en el desarrollo de protocolos estandarizados y definir mejor el contexto de mayor beneficio clínico del uso de estas técnicas. Sin embargo, está claro que estas técnicas serán claves para alcanzar una oncología más precisa y eficaz durante los próximos años.

Bibliografía

1. Siravegna G, Marsoni S, Siena S, Bardelli A. Integrating liquid biopsies into the management of cancer. *Nat Rev Clin Oncol*. 2017;14:531–48.
2. Calabuig-Fariñas S, Jantus-Lewintre E, Herreros-Pomares A, Camps C. Circulating tumor cells versus circulating tumor DNA in lung cancer-which one will win? *Transl Lung Cancer Res*. 2016;5:466–82.
3. Köhn L, Johansson M, Grankvist K, Nilsson J. Liquid biopsies in lung cancer-time to implement research technologies in routine care? *Ann Transl Med*. 2017;5:278.
4. Stroun M, Lyautey J, Lederrey C, Olson-Sand A, Anker P. About the possible origin and mechanism of circulating DNA apoptosis and active DNA release. *Clin Chim Acta*. 2001;313:139–42.
5. Wu YL, Tong RZ, Zhang Y, Hu BB, Zheng K, Ding ZY, et al. Conventional real-time PCR-based detection of T790M using tumor tissue or blood in patients with EGFR TKI-resistant NSCLC. *Onco Targets Ther*. 2017;10:3307–12.
6. Planchard D, Popat S, Kerr K, Novello S, Smit EF, Faivre-Finn C, et al. Metastatic non-small cell lung cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol*. 2018;29 Suppl. 4:iv192–237.
7. Marq M, Vallée A, Bizieux A, Denis MG. Detection of EGFR mutations in the plasma of patients with lung adenocarcinoma for real-time monitoring of the therapeutic response to tyrosine kinase inhibitors? *J Thorac Oncol*. 2014;9:e49–50.
8. Abbosh C, Birkbak NJ, Swanton C. Early stage NSCLC - challenges to implementing ctDNA-based screening and MRD detection. *Nat Rev Clin Oncol*. 2018;15:577–86.
9. Ludovini V, Pistola L, Gregorc V, Floriani I, Rulli E, Piattoni S. Plasma DNA, microsatellite alterations, and p53 tumor mutations are associated with disease-free survival in radically resected non-small cell lung cancer patients: a study of the perugia multidisciplinary team for thoracic oncology. *J Thorac Oncol*. 2008;3:365–73.
10. Gandara DR, Kowanetz M, Mok TSK, Rittmeyer A, Fehrenbacher L, Fabrizio D, et al. Blood-based biomarkers for cancer immunotherapy: tumor mutational burden in blood (bTMB) is associated with improved atezolizumab (atezo) efficacy. *Ann Oncol*. 2017;28 Suppl. 5. Abstr 12950.
11. Mohan S, Chemi F, Brady G. Challenges and unanswered questions for the next decade of circulating tumour cell research in lung cancer. *Transl Lung Cancer Res*. 2017;6:454–72.
12. Park SM, Wong DJ, Ooi CC, Kurtz DM, Vermesh O, Aalipour A, et al. Molecular profiling of single circulating tumor cells from lung cancer patients. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2016;113:E8379–86.
13. Mariscal J, Alonso-Nocelo M, Muinelo-Romay L, Barbazan J, Vieito M, Abalo A, et al. Molecular profiling of circulating tumour cells identifies Notch1 as a principal regulator in advanced non-small cell lung cancer. *Sci Rep*. 2016;6:37820.
14. Hodgkinson CL, Morrow CJ, Li Y, Metcalf RL, Rothwell DG, Trapani F, et al. Tumorigenicity and genetic profiling of circulating tumor cells in small-cell lung cancer. *Nat Med*. 2014;20:897–903.
15. Bracht JWP, Mayo-de-las-Casas C, Berenguer J, Karachaliou N, Rosell R. The present and future of liquid biopsies in non-small cell lung cancer: Combining four biosources for diagnosis, prognosis, prediction, and disease monitoring. *Curr Oncol Rep*. 2018;20:70.