

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 668 861**

51 Int. Cl.:

A61K 39/395

(2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **31.07.2013 PCT/US2013/053091**

87 Fecha y número de publicación internacional: **20.02.2014 WO14028221**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **31.07.2013 E 13829184 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **25.04.2018 EP 2879712**

54 Título: **Marcadores histológicos para identificar pacientes con carcinoma de pulmón de células no pequeñas para el tratamiento con un fármaco anti EGFR**

30 Prioridad:

31.07.2012 WO PCT/CN2012/079399

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

22.05.2018

73 Titular/es:

**CROWN BIOSCIENCE, INC. (TAICANG) (100.0%)
6 Beijing West Road, Taicang Economic
Development Area
Jiangsu Province , CN**

72 Inventor/es:

**LI, HENRY QIXIANG y
YANG, MENG MENG**

74 Agente/Representante:

SÁEZ MAESO, Ana

ES 2 668 861 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Marcadores histológicos para identificar pacientes con carcinoma de pulmón de células no pequeñas para el tratamiento con un fármaco anti EGFR

Campo de la invención

La presente invención se refiere al tratamiento de pacientes con cáncer de pulmón así como a la identificación y selección de pacientes con cáncer de pulmón para el tratamiento con un fármaco contra el receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR), tales como tratamientos con anticuerpos anti EGFR, por ejemplo, el cetuximab.

Antecedentes

El cáncer de pulmón de células no pequeñas (NSCLC) es un cáncer común con una mortalidad líder a nivel mundial pero con pocas opciones de tratamiento efectivas. Los NSCLC son además, diversos tipos de enfermedades con subtipos principales de adenocarcinoma (ADC, 40 %), carcinoma de células escamosas (SCC, 25 ~30 %), carcinoma de células grandes indiferenciado (LCC, 10~15 %), carcinoma adenoescamoso (carcinoma pleomorfo o PLC), carcinoma sarcomatoide (<5 %), y otros. Las terapias dirigidas aprobadas recientemente para el (NSCLC) han traído nuevas esperanzas, que incluyen los inhibidores de tirosina quinasa (*por ejemplo*, erlotinib, gefitinib, *etc.*) y ALK (crizotinib). Sin embargo, dos desafíos principales limitan los usos de estos medicamentos. Primero, solo pequeños subconjuntos de pacientes con NSCLC responden a los tratamientos. Los pacientes con mutaciones activadoras del EGFR (~10 %), que se encuentran con mayor frecuencia en mujeres asiáticas, es más probable que respondan a EGFR-TKIs (Lynch T J, y otros. N Engl J Med. 2004;350:2129-39 y Paez JG, y otros. Science. 2004;304:1497-500), y pacientes con fusión ALK-EML4 (3~5 %) es más probable que responda al crizotinib (Rodig SJ, y otros. Curr Opin Investig Drugs. 2010;11:1477-90). Segundo, los tratamientos siempre resultan en un desarrollo rápido de la resistencia a los medicamentos (Gazdar AF, Oncogene. 2009;28 Suppl 1:S24-31; Bean J, y otros. Proc Natl Acad Sci U S A. 2007; 104:20932-7; y Kubo T, y otros. Int J Cancer. 2009;124:1778-84). Por lo tanto, se necesita urgentemente un nuevo medicamento dirigido para compensar los tratamientos dianas existentes. Sigue existiendo la necesidad en la técnica de terapias efectivas para el NSCLC.

La presente invención satisface esta necesidad y proporciona una composición para el tratamiento eficaz del NSCLC, en donde, el paciente sufre de carcinoma de células escamosas (SCC) o NSCLC de carcinoma pleomorfo (PLC).

Resumen de la invención

La presente invención se define en las reivindicaciones anexas. La invención proporciona una composición que comprende una cantidad eficaz de un fármaco contra el receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR) para usarse en el tratamiento del carcinoma de células escamosas (SCC) o el carcinoma pleomorfo (PLC), en donde, el uso comprende (i) determinar la histología del cáncer de pulmón en una muestra biológica de un paciente con cáncer de pulmón de células no pequeñas (NSCLC), en donde, una determinación que dice que el NSCLC es SCC o PLC, es indicativo de un respondedor a un fármaco contra el EGFR y una determinación de que el NSCLC es ADC o LCC es indicativo de un no respondedor a un fármaco contra el EGFR, y (ii) administrar la composición a un paciente diagnosticado con SCC o PLC cuando la determinación en el paso (i) indica que el paciente tiene SCC o PLC. En algunas modalidades, el fármaco se dirige al EGFR. En algunas modalidades, el fármaco se dirige a la ruta de señalización negativa del EGFR. En algunas modalidades, el fármaco es un antagonista o un anticuerpo del ligando del EGFR, por ejemplo, un antagonista o un anticuerpo del factor de crecimiento epidérmico (EGF), factor de crecimiento transformante α (TGF α), HB-EGF, anfiregulina, betacelulina, epigen, y/o epiregulin. En algunas modalidades, el fármaco es una molécula pequeña. En algunas modalidades, el fármaco es contra un heterodímero formado por el EGFR y otro miembro de la familia de receptores ErbB tal como EfbB2/Her2/neu. En algunas modalidades, el fármaco es contra un homodímero formado por EGFR. En algunas modalidades, el fármaco es un anticuerpo o una entidad terapéutica similar al anticuerpo contra el EGFR (tratamiento con anticuerpo anti EGFR), *por ejemplo*, el cetuximab.

En otra modalidad, el uso de la presente invención comprende determinar un régimen de tratamiento para tratar el cáncer de pulmón en un paciente que lo necesite. El método incluye determinar la histología del cáncer de pulmón en una muestra biológica de un paciente con cáncer de pulmón, en donde, una determinación de dicho cáncer de pulmón es NSCLC, y el NSCLC es SCC o PLC es indicativo de un respondedor al tratamiento contra el EGFR, *por ejemplo*, el tratamiento con el cetuximab y una determinación de que el NSCLC es ADC o LCC es indicativo de un no respondedor al tratamiento contra el EGFR, *por ejemplo*, el tratamiento con el cetuximab, y el tratamiento de dicho paciente con un tratamiento contra el EGFR, *por ejemplo*, el cetuximab cuando el NSCLC es SCC o PLC.

En otra modalidad, el uso de la presente invención comprende evaluar el régimen de tratamiento de un cáncer de pulmón por un fármaco contra el EGFR, *por ejemplo*, el cetuximab que comprende determinar la histología del cáncer de pulmón en una muestra biológica de un paciente con cáncer de pulmón que recibe un tratamiento, *por ejemplo*, el tratamiento para el cáncer de pulmón o el cetuximab y alterar el régimen de tratamiento según la histología del cáncer de pulmón. Por ejemplo, el régimen de tratamiento de un tratamiento contra el EGFR, *por ejemplo*, el cetuximab se

continúa cuando dicho cáncer de pulmón es NSCLC, y el NSCLC es SCC o PLC o dicho régimen de tratamiento se interrumpe cuando dicho NSCLC es ADC o LCC.

El uso de la presente invención comprende seleccionar un paciente con cáncer de pulmón para tratar con un tratamiento contra el EGFR, *por ejemplo*, el cetuximab que comprende determinar la histología del cáncer de pulmón en una muestra biológica de un paciente, en la que se determina que el cáncer de pulmón es NSCLC, y el NSCLC es SCC o PLC es indicativo de un respondedor al tratamiento contra el EGFR, *por ejemplo*, el tratamiento con el cetuximab y una determinación de que el NSCLC es ADC o LCC es indicativo de un no respondedor al tratamiento contra el EGFR, *por ejemplo*, el tratamiento con el cetuximab y la selección para el tratamiento con el fármaco contra el EGFR, *por ejemplo*, el cetuximab, aquellos pacientes que se determina que tienen SCC o PLC.

La presente invención proporciona los métodos para predecir la eficacia del tratamiento del cáncer de pulmón con un fármaco contra el EGFR, *por ejemplo*, el cetuximab. El método incluye determinar la histología del cáncer de pulmón en una muestra biológica de un paciente que tiene NSCLC y proporcionar la determinación de la histología a una entidad que proporciona una determinación o evaluación del tratamiento en base a la histología del cáncer de pulmón, en donde, la determinación de que el NSCLC es SCC o PLC es indicativo de un respondedor a un fármaco contra el EGFR, y una determinación de que el NSCLC es ADC o LLC es indicativo de un no respondedor a un fármaco contra el EGFR.

En la presente descripción se describen además los estuches. Los estuches incluyen uno o más reactivos adecuados para determinar la histología de un cáncer de pulmón, y opcionalmente una instrucción para usar los resultados de la histología para la determinación del tratamiento del cáncer de pulmón, *por ejemplo*, cuando el cáncer de pulmón es un NSCLC y el NSCLC es SCC o PLC, la determinación es indicativa de un respondedor y cuando el NSCLC es ADC o LCC, la determinación es indicativa de un no respondedor a un fármaco contra el EGFR, *por ejemplo*, el cetuximab.

Breve descripción de las figuras

La Figura 1 muestra la respuesta al cetuximab por modelos NSCLC-HuPrime representativos. El tamaño del tumor del control del vehículo (círculos) y el cetuximab de 1 mg/ratón (cuadrados) se muestran para LU1204 (SCC), LU2505 (ADC), LU1901 (LCC) y LU1235 (PLC). LU1235 se describió previamente.

La Figura 2 muestra el estudio farmacodinámico del cetuximab en un modelo representativo de NSCLC HuPrime®. El tratamiento de dosis única con el cetuximab como se describe en la Figura 1, y las muestras tumorales se cosecharon en los momentos indicados para el análisis IHC del biomarcador pERK. La Figura 2A representa las imágenes de IHC, y la Figura 2B es un gráfico de barras que muestra los acumulados de IHC.

La Figura 3 muestra la actividad antitumoral del cetuximab junto con la expresión génica de EGFR, AREG y EREG. Panel de arriba hacia abajo: $\Delta T/\Delta C$, EGFR, AREG y EREG. Los bloques rojos son para SCC y los bloques azules son para los tumores no SCC. Los bloques que contienen bordes negros tienen una mutación EGFR.

La Figura 4 muestra la tinción de EGFR-IHC de cuatro modelos de NSCLC-HuPrime representativos (LU357, LU1204, LU1513 y LU387).

La Figura 5 muestra los subtipos de la histología de las imágenes representativas del NSCLC.

Descripción detallada de la invención

La presente invención se basa en parte en el descubrimiento de que el tratamiento con el anticuerpo anti EGFR es eficaz para el tratamiento del NSCLC, especialmente el NSCLC con cierto subtipo de histología. Como consecuencia, la presente invención, como se define en las reivindicaciones adjuntas, proporciona el tratamiento de pacientes de NSCLC con SCC o PLC con un fármaco contra el EGFR.

De acuerdo con la invención, "un fármaco contra el EGFR" se refiere a una composición que puede modificar la actividad de la vía de señalización del EGFR, tal como una composición que puede aumentar, disminuir, eliminar, mejorar, retrasar, reducir o bloquear la actividad de la vía de señalización del EGFR. En algunas modalidades, la composición está directamente contra el EGFR, o uno o más componentes en la ruta de señalización del EGFR, a nivel del ADN, nivel de transcripción, nivel de traducción, nivel postraduccional, y/o nivel de proteína. La composición puede dirigirse específicamente al EGFR, o dirigirse al menos al EGFR. En algunas modalidades, la composición puede causar supresión génica y/o silenciamiento génico del EGFR y/o un componente en la ruta de señalización del EGFR, *por ejemplo*, derribando o eliminando el EGFR y/o un componente en la ruta de señalización del EGFR. En algunas modalidades, la composición puede modificar la actividad de la proteína EGFR, tal como la modificación de la actividad de unión al EGFR a su ligando y/o su capacidad para inducir rutas de señalización negativas. En algunas modalidades, el fármaco es un antagonista o un anticuerpo del ligando del EGFR, *por ejemplo*, un antagonista o un anticuerpo del factor de crecimiento epidérmico (EGF), factor de crecimiento transformante α (TGF α), HB-EGF, anfiregulina, betacelulina, epigen, y/o epiregulin. En algunas modalidades, el fármaco puede dirigirse al EGFR y/o al ligando y bloquear la unión ligando receptor. En algunas modalidades, el fármaco puede provocar cambios de confirmación en el receptor y/o el ligando y reducir o inactivar la señalización celular mediada por el EGFR. En algunas modalidades, el

fármaco es contra un heterodímero formado por el EGFR y otro miembro de la familia de receptores ErbB tal como EfbB2/Her2/neu, o un homodímero formado por dos moléculas de EGFR. La ruta de señalización del EGFR se describe en Sechacharyulu y otros. (Targeting the EGFR signaling pathway in cancer therapy, Expert Opin Ther Targets, 2012 enero; 16(1): 15-31.), Oda y otros.(A comprehensive pathway map of epidermal growth factor receptor signaling, Molecular Systems Biology 1:2005.0010), y Development EGFR Signaling Pathway (Pathway Maps, Thomson Reuters, 2012).

En algunas modalidades, el fármaco comprende una molécula pequeña. Como se utiliza en la presente descripción, el término "molécula pequeña" se refiere a una molécula que tiene un peso molecular de menos de 500 MW, en donde, el fármaco es un agente no peptídico o un agente peptídico. En algunas modalidades, el fármaco comprende una proteína o un polipéptido. En algunas modalidades, el fármaco comprende una molécula híbrida. En algunas modalidades, el fármaco es un anticuerpo. En algunas modalidades, el fármaco es un anticuerpo anti EGFR. En algunas modalidades, el fármaco es un anticuerpo ligando anti EGFR. En algunas modalidades, el fármaco es un anticuerpo ligando anti EGFR humanizado. En algunas modalidades, el anticuerpo es un anticuerpo monoclonal.

En algunas modalidades, el fármaco es un anticuerpo anti EGFR. En algunas modalidades, el fármaco es el Cetuximab o las variantes funcionales o derivados de estos. No se han descrito ejemplos limitantes de anticuerpos anti EGFR en las publicaciones PCT núms. WO/2011/140151, WO/2007/058823, WO/2011/080209, WO/2010/080463, WO/2012/020059, WO/2011/080209, WO/2011/059762, WO/2011/152525, WO/2011/140254, WO/2010/034441, WO/2011/156617, WO/2005/090407, WO/2013/006547, WO/2008/140493, WO/2011/156617, patentes de los Estados Unidos núms. 5942602, 6129915, 7723484, 7618631, 7598350, y publicación de las solicitudes de patentes de Estados Unidos núms. 20100166755, 20080274114, 20130142812, 20110158987, 20120107234, 20110117110, 20110287002, 20120149879, 20120282633, 20100009390, 20050238640, 20060154334, 20120231021 y 20130149299.

Además, se proporcionan los métodos para seleccionar pacientes de NSCLC para determinado tratamiento con anticuerpos anti EGFR en base al subtipo de histología del paciente, *por ejemplo*, el NSCLC con SCC o PLC es adecuado para el tratamiento contra el EGFR, como tratamiento con el anticuerpo anti EGFR *por ejemplo*, el cetuximab. De acuerdo con la presente invención, el término "un tratamiento contra el EGFR" se refiere a un tratamiento que usa un fármaco contra el EGFR.

En una modalidad, la presente invención proporciona una composición que comprende una cantidad eficaz de un fármaco contra el receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR) para usarse en el tratamiento del carcinoma de células escamosas (SCC) o carcinoma pleomórfico (PLC), en donde, el uso comprende determinar la histología del cáncer de pulmón en una muestra biológica de un paciente con cáncer de pulmón de células no pequeñas (NSCLC), en donde, una determinación que dicho NSCLC es SCC o PLC es indicativo de un respondedor a un fármaco contra el EGFR y una determinación que dice que el NSCLC es ADC o LCC es indicativo de un no respondedor a un fármaco contra EGFR, y administrar la composición a un paciente diagnosticado con SCC o PLC. En algunas modalidades, el fármaco contra el EGFR es un anticuerpo anti EGFR, tal como el cetuximab o variantes funcionales de éste.

En otra modalidad, se proporcionan los métodos para identificar pacientes respondedores y no respondedores que comprenden determinar la histología del cáncer de pulmón en una muestra biológica de un paciente con cáncer de pulmón, en donde, una determinación de que dicho cáncer de pulmón es NSCLC, y el NSCLC es SCC o PLC es indicativo de un respondedor a un tratamiento contra el EGFR, como un tratamiento con anticuerpos anti EGFR, *por ejemplo*, el tratamiento con el cetuximab y una determinación de que el NSCLC es adenocarcinoma (ADC) o carcinoma de células grandes (LCC) es indicativo de un no respondedor a un tratamiento contra el EGFR, tal como un tratamiento con el anticuerpo anti EGFR, *por ejemplo*, el tratamiento con el cetuximab.

En otra modalidad, se proporcionan los métodos para determinar un régimen de tratamiento para tratar el cáncer de pulmón en un paciente que lo necesite. El método incluye determinar la histología del cáncer de pulmón en una muestra biológica de un paciente con NSCLC. Una determinación de que el cáncer de pulmón es NSCLC, y el NSCLC es SCC o PLC indica que responde a un tratamiento contra el EGFR, como un tratamiento con anticuerpos anti EGFR, *por ejemplo*, el tratamiento con el cetuximab y una determinación de que el NSCLC es ADC o LCC indica un no respondedor a un tratamiento contra el EGFR, tal como un tratamiento con un anticuerpo anti EGFR, *por ejemplo*, el tratamiento con el cetuximab. El paciente después se trata con un tratamiento contra el EGFR, tal como un tratamiento con un anticuerpo anti EGFR, *por ejemplo*, el cetuximab cuando el NSCLC es SCC o PLC.

En otra modalidad, se proporcionan los métodos para alterar o modificar el régimen de tratamiento de un tratamiento contra el EGFR para un paciente con cáncer de pulmón, tal como un tratamiento con un anticuerpo anti EGFR, *por ejemplo*, el cetuximab que comprende determinar la histología del cáncer de pulmón en una muestra biológica de un paciente con cáncer de pulmón que recibe el estándar de atención para el cáncer de pulmón o un tratamiento contra el EGFR, como un tratamiento con un anticuerpo anti EGFR, *por ejemplo*, el cetuximab y alterar o modificar el régimen del tratamiento en base a la histología del cáncer de pulmón. Por ejemplo, el régimen de tratamiento continúa para un tratamiento contra el EGFR, como un tratamiento con un anticuerpo anti EGFR, *por ejemplo*, el cetuximab cuando dicho cáncer de pulmón es NSCLC, y el NSCLC es SCC o PLC o el régimen de tratamiento contra el EGFR, tal como un tratamiento con un anticuerpo anti EGFR, *por ejemplo*, el cetuximab se interrumpe cuando dicho NSCLC es ADC o LCC.

En otra modalidad, se proporcionan los métodos para seleccionar un paciente con cáncer de pulmón para el tratamiento con un fármaco contra el EGFR, tal como un tratamiento con un anticuerpo anti EGFR, *por ejemplo*, el cetuximab que comprende determinar la histología del cáncer de pulmón en una muestra biológica de un paciente. Una determinación de que el cáncer de pulmón es NSCLC, y el NSCLC es SCC o PLC indica que responde a un tratamiento contra el EGFR, como un tratamiento con anticuerpos anti EGFR, *por ejemplo*, el tratamiento con el cetuximab y una determinación de que el NSCLC es ADC o LCC indica un no respondedor a un tratamiento contra el EGFR, tal como un tratamiento con un anticuerpo anti EGFR, *por ejemplo*, el tratamiento con el cetuximab. Los pacientes que se determina que tienen SCC o PLC se seleccionan para un tratamiento contra el EGFR, tal como un tratamiento con un anticuerpo anti EGFR, *por ejemplo*, cetuximab.

Una determinación histológica de que el cáncer de pulmón es NSCLC, y el NSCLC es SCC o PLC indica un respondedor a un tratamiento contra el EGFR, tratamiento con un anticuerpo anti EGFR, *por ejemplo*, el tratamiento con cetuximab. Una determinación histológica de que el NSCLC es ADC o LCC indica un no respondedor a un tratamiento contra el EGFR, como un tratamiento con un anticuerpo anti EGFR, *por ejemplo*, el tratamiento con cetuximab. En algunas modalidades, la determinación histológica del cáncer de pulmón se realiza antes de un tratamiento contra el EGFR, tal como un tratamiento con un anticuerpo anti EGFR, *por ejemplo*, el tratamiento con cetuximab. En algunas modalidades, la determinación histológica del cáncer de pulmón se realiza durante un tratamiento contra el EGFR, tal como un tratamiento con un anticuerpo anti EGFR, *por ejemplo*, el tratamiento con cetuximab. En algunas modalidades, la determinación histológica del cáncer de pulmón se realiza después de un tratamiento contra el EGFR, tal como un tratamiento con un anticuerpo anti EGFR, *por ejemplo*, el tratamiento con cetuximab.

Un respondedor de acuerdo con la presente invención, es un individuo que exhibe eficacia del tratamiento y un no respondedor no exhibe la eficacia del tratamiento. La frase "determinar la eficacia del tratamiento" o "determinar la eficacia del tratamiento" y las variantes de éstos pueden incluir cualquiera de los métodos para determinar que un tratamiento está proporcionando un beneficio a un individuo. El término "eficacia del tratamiento" y variantes de este se indican generalmente mediante el alivio de uno o más signos o síntomas asociados con la enfermedad y puede determinarse fácilmente por un experto en la técnica. "Eficacia del tratamiento" puede referirse además a la prevención o mejora de los signos y síntomas de las toxicidades típicamente asociadas con el tratamiento estándar o no estándar de una enfermedad, *es decir*, la quimioterapia o la terapia de radiaciones para el tratamiento del cáncer. La determinación de la eficacia del tratamiento suele ser indicativa y específica de la enfermedad y puede incluir cualquier método conocido o disponible en la técnica para determinar que un tratamiento está proporcionando un efecto beneficioso a un paciente. Por ejemplo, la evidencia de la eficacia del tratamiento puede incluir, pero no se limita, a la remisión de la enfermedad o la indicación, para el cáncer esto puede incluir, pero no se limita, a una disminución o reducción del tamaño del tumor, en la metástasis del tumor, etc. Además, la eficacia del tratamiento puede incluir mejoras generales en la salud global del sujeto, como pero no se limita, a la mejora de la calidad de vida del paciente, el aumento en la velocidad de la supervivencia del individuo predicho, la disminución de la depresión o la disminución de la velocidad de recurrencia de la indicación (aumento en el tiempo de remisión). (Ver, *por ejemplo*, *Physicians' Desk Reference* (2010).)

Un tratamiento con un anticuerpo anti EGFR puede incluir cualquier tratamiento que use el anticuerpo anti EGFR o una terapéutica similar al anticuerpo que incluye sin cualquier limitación, cualquier molécula con una o más CDR anti EGFR. En una modalidad, el tratamiento con un anticuerpo anti EGFR incluye cualquier anticuerpo anti EGFR aprobado, *por ejemplo*, cetuximab (conocido además como erbitux) o biosimilar o derivados de estos, *por ejemplo*, el anticuerpo anti EGFR completamente humano, *etc.* El Cetuximab (comercializado en Norteamérica por ImClone y Bristol-Myers Squibb y en el resto del mundo por la Merck KGaA) es un anticuerpo monoclonal quimérico humano/ratón recombinante que bloquea la activación del receptor (EGFR) del factor de crecimiento epidérmico (EGF). El cetuximab puede administrarse por infusión intravenosa para el tratamiento del cáncer colorrectal metastásico y los cánceres de cabeza y cuello. En algunas modalidades, el cetuximab se formula en un líquido estéril incoloro de pH 7,0 a 7,4. En algunas modalidades, el cetuximab se formula a una concentración de 2 mg/mL en 100 mg (50 mL) o 200 mg (100 mL). En algunas modalidades, el cetuximab se formula en viales de un solo uso. En algunas modalidades, la formulación del cetuximab incluye cloruro sódico 8,48 mg/mL, fosfato sódico dibásico heptahidrato 1,88 mg/mL, monohidrato monobásico de fosfato sódico 0,41 mg/mL, y agua estéril para inyección. Los métodos y las formulaciones para administrar el cetuximab son bien conocidos por aquellos con experiencia en la técnica médica y cualquier método bien conocido de administración del cetuximab, los regímenes de dosificación para el cetuximab o formulaciones para el cetuximab se contemplan para usarse con los métodos de la presente invención. Las composiciones detalladas y los métodos para usar el Cetuximab se describen en las patentes de Estados Unidos núms. 8075916, 7977336, 6217866.

Los métodos para determinar la histología del cáncer son bien conocidos en la técnica y aquellos con experiencia en la técnica pueden usar cualquier método conocido para determinar la histología de SCC, PLC, ADC o LCC de una muestra de cáncer.

El carcinoma de pulmón de células escamosas (SCC) es típicamente un cáncer de células grandes ubicado en el centro (cáncer de pulmón de células no pequeñas o NSCLC) que frecuentemente tiene un síndrome paraneoplásico que causa la producción ectópica de la proteína relacionada con la hormona paratiroidea (PTHrP), lo que resulta en la hipercalcemia. Se debe principalmente al hábito de fumar. Las células SCC son grandes, aplanadas y estratificadas con una alta relación de citoplasma con respecto a núcleo. Las principales características del diagnóstico incluyen la presencia de queratina intracitoplásmica que puede relacionarse con la presencia de puentes intercelulares y la

formación de la perla escamosa. La mayoría de las células del SCC surgen centralmente dentro de los bronquios principales, lobulares, segmentales o subsegmentales, pero algunas ocurren más periféricamente. La masa tumoral, generalmente, se extiende hacia el lumen de la vía respiratoria con la invasión de la pared subyacente. El carcinoma de células escamosas requiere la presencia de al menos uno de los siguientes: queratina, perlas de queratina o puentes intercelulares.

El adenocarcinoma (ADC) del pulmón es una forma histológica común de cáncer de pulmón que contiene ciertas características arquitectónicas, citológicas o moleculares del tejido maligno, que incluyen la formación de glándula y/o conductos y/o producción de cantidades significativas de moco. El adenocarcinoma es el tipo más común de cáncer de pulmón en no fumadores de por vida. Los adenocarcinomas son tumores altamente heterogéneos, y actualmente se reconocen varios subtipos histológicos principales: adenocarcinoma acinar, adenocarcinoma papilar, adenocarcinoma bronquioloalveolar, adenocarcinoma sólido con producción de mucina y tipos mixtos. El adenocarcinoma de pulmón tiende a teñir la mucina de manera positiva, ya que se deriva de las glándulas productoras de moco de los pulmones. Al igual que otros adenocarcinomas, si este tumor está bien diferenciado (bajo grado) se parecerá a la estructura glandular normal. El adenocarcinoma pobremente diferenciado no se parecerá a las glándulas normales (alto grado) y se detectará al ver que están teñidas positivas para la mucina (que producen las glándulas). El adenocarcinoma requiere la presencia de un patrón lepidico (anteriormente patrón bronquioloalveolar), patrón acinar (formación definida de la glándula), patrón papilar, nódulos papilares sin núcleos estromales (patrón micropapilar) o vacuolas intracelulares que contienen mucina en más de cinco células en dos campos consecutivos de alta potencia de cualquier otra manera un carcinoma indiferenciado (patrón sólido). Como la mayoría de los ADC son histológicamente heterogéneos, generalmente, caen en la categoría mezclada. Los tumores generalmente surgen en las vías respiratorias periféricas más pequeñas (a diferencia del cartílago que portan los bronquios) pero pueden encontrarse más centralmente. Las principales características de diagnóstico de ADC incluyen la formación de glándulas, - donde las células tumorales se disponen alrededor de un lumen central - y/o producción de mucina.

El carcinoma de pulmón de células grandes (LCC) es un grupo heterogéneo de neoplasmas malignos indiferenciados que se originan a partir de células epiteliales transformadas en el pulmón. El LCC es, en efecto, un "diagnóstico de exclusión", en que las células tumorales carecen de características de microscopía óptica que pudieran clasificar a la neoplasia como un carcinoma de células pequeñas, carcinoma de células escamosas, adenocarcinoma o otro tipo histológico más específico de cáncer de pulmón, por ejemplo, las células de la lesión no son de forma columnar, no contienen mucosa, no muestran diferenciación escamosa, y no tienen propiedades neuroendocrinas o características de células pequeñas. El LCC se diferencia del carcinoma de pulmón de células pequeñas (SCC) principalmente por el tamaño más grande de las células anaplásicas, una mayor relación de tamaño citoplasmático con respecto al nuclear y una carencia de cromatina "sal y pimienta". Los tumores tienden a consistir en células grandes con abundantes citoplasmas, núcleos grandes y nucléolos prominentes y pueden ocurrir periféricamente o centralmente. Las variantes de LCC incluyen el carcinoma de células claras, el carcinoma de células gigantes y el carcinoma neuroendocrino de células grandes (LCNEC). Las revisiones más recientes de la Organización Mundial de la Salud del esquema de tipificación histológica de cáncer de pulmón incluye diversas variantes de LCC, que incluyen el carcinoma (a) basaloide, (b) células claras, (c) tipo linfopitelioma, (d) fenotipo rabdoide y (e) neuroendocrino de células grandes. Adicionalmente, una "subvariante", conocida "carcinoma neuroendocrino de células grandes combinadas", o c-LCNEC, se reconoce bajo el nuevo sistema. Para ser designado un c-LCNEC, el tumor debe contener al menos un 10 % de células LCNEC, en combinación con al menos 10 % de otras formas de NSCLC.

El carcinoma pleomórfico pulmonar es un tumor epitelial poco común y tiene un curso clínico agresivo. Como se han descrito pocos estudios de carcinoma pleomórfico pulmonar, ver Kaira y otros (Pulmonary Pleomorphic Carcinoma: A Clinicopathological Study Including EGFR Mutation Analysis, Journal of Thoracic Oncology: abril 2010 - Volumen 5 - número 4 - págs 460-465).

Cualquier prueba adecuada puede usarse para determinar la histología del cáncer. Dicha prueba y examen incluyen, pero no se limitan a, signos y síntomas comunes de cáncer de pulmón, síndrome de Horner, síndrome de la vena cava superior, síndromes paraneoplásicos, historial médico y examen físico, pruebas de imagen, rayos X de tórax, tomografía axial computarizada (CT), imagen por resonancia magnética (MRI), tomografía por emisión de positrones (PET), gammagrafía ósea, citología de esputo, biopsia con aguja, broncoscopia, ecografía endobronquial, ecografía esofágica endoscópica, mediastinoscopia y mediastinotomía, toracentesis, toracoscopia, inmunohistoquímica, pruebas moleculares, análisis de sangre, pruebas de función pulmonar, o cualquier método adecuado derivado de estos. Ejemplos no limitantes de los métodos para determinar la histología del cáncer se describen en Walter y otros (The Histology of Lung Cancer, Thorax, 1955, 10:107), Nicholson y otros (Standards and Datasets for Reportin Cancers Dataset for lung cancer histopathology reports (3ra edición), Colegio Royal de Patólogos, abril 2011), Travis y otros, (Asociación Internacional para el Estudio de Cáncer de Pulmón/Sociedad Americana de Tórax/clasificación internacional multidisciplinaria de adenocarcinoma de pulmón de la European Respiratory Society. J Thorac Oncol 2011; 6:244-285.), Organización Mundial de la Salud. Tumours of the lung, pleura, thymus and heart. Lyons:IARC Press, 2004, Tan y otros. (A 5-MicroRNA Signature for Lung Squamous Cell Carcinoma Diagnosis and hsa-miR-31 for Prognosis, Imaging, Diagnosis, Prognosis, DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-11-0419), y Bishop y otros. (p40 (ΔNp63) is Superior to p63 for the Diagnosis of Pulmonary Squamous Cell Carcinoma, Mod Pathol. 2012;25(3):405-415), Iwasaki y otros, (Pulmonary Pleomorphic Carcinoma:Diagnosis Using Small Biopsy Specimens, (Journal of Thoracic Oncology: septiembre 2010 - Volumen 5 - número 9 - pág 1492).

Los métodos para obtener muestras biológicas son bien conocidos en la técnica y puede emplearse cualquiera de los métodos estándar para obtener muestras biológicas. Las muestras biológicas que encuentran uso con los métodos de la presente invención incluyen, pero no se limitan a, suero, sangre, plasma, sangre completa y sus derivados, piel, cabello, folículos pilosos, saliva, mucosa oral, mucosa vaginal, sudor, lágrimas, tejidos epiteliales, orina, semen, fluido seminal, plasma seminal, fluido prostático, fluido preeyaculatorio (fluido de Cowper), excrementos, biopsia, ascitis, líquido cefalorraquídeo, linfa y muestra o biopsia de extracto de tejido. (Ver, *por ejemplo*, Clinical Proteomics: Methods and Protocols, Vol. 428 en Methods in Molecular Biology, Ed. Antonia Vlahou (2008).) En una modalidad, la muestra biológica de la presente invención incluye cualquier muestra de células o tejidos de pulmón, *por ejemplo*, células de NSCLC en el sitio o circulantes o migratorias. En otra modalidad, la muestra biológica de la presente invención incluye cualquier extracto o fraccionamiento parcial o completo de células o muestras de tejido de pulmón, *por ejemplo*, células de NSCLC en el sitio o circulantes o migratorias.

En algunas modalidades, el paciente adecuado para el tratamiento de acuerdo con la presente invención es de ascendencia asiática. En algunas modalidades, el paciente es de ascendencia asiática, tiene NSCLC que exhibe histología de SCC o PLC. En algunas modalidades, el paciente es de ascendencia asiática oriental.

En algunas modalidades, el tratamiento con anticuerpo anti EGFR *por ejemplo*, el cetuximab puede coadministrarse con uno o más agentes quimioterapéuticos, radioterapéuticos, agentes terapéuticos de quimiorradiación, o agentes terapéuticos específicos.

En algunas modalidades, el quimioterapéutico incluye, pero no se limita a, vinblastina, vincristina, dactinomicina, daunorrubicina, doxorubicina, etopósido, mitramicina, paclitaxel, docetaxel, cisplatino, carboplatino, fluorouracilo, ácido folínico e irinotecán.

En algunas modalidades, la terapia específica incluye, pero no se limita a, bevacizumab, trastuzumab, erlotinib, panitumumab, sorafenib, infliximab, adalimumab, basiliximab, daclizumab y omalizumab.

En algunas modalidades, la radiación terapéutica se administra a una dosificación de aproximadamente 40 Gy a aproximadamente 80 Gy. En algunas modalidades, la dosificación es de aproximadamente 50 Gy a aproximadamente 70 Gy, en algunas modalidades, la dosificación es de aproximadamente 50 Gy a aproximadamente 65 Gy. En algunas modalidades, la radioterapia se administra a una dosificación de aproximadamente 50 Gy, aproximadamente 55 Gy, aproximadamente 60 Gy o aproximadamente 65 Gy.

Aún en otra modalidad, la presente invención proporciona métodos para proporcionar información útil para predecir, determinar, evaluar o controlar el tratamiento o la eficacia del tratamiento del NSCLC, *por ejemplo*, con el tratamiento del anticuerpo anti EGFR, *por ejemplo*, con el cetuximab. El método incluye determinar la histología de NSCLC en una muestra biológica de un paciente y proporcionar la determinación de la histología a una entidad que proporciona determinación, predicción o evaluación del tratamiento y/o la eficacia del tratamiento en base a la histología del NSCLC. Si la histología es SCC o PLC, la entidad puede proporcionar una determinación de que el tratamiento con la terapia del anticuerpo anti EGFR, *por ejemplo*, el cetuximab debe usarse o debe continuarse. Si la histología es ADC o LLC, la entidad puede proporcionar una determinación de que el tratamiento con la terapia del anticuerpo anti EGFR, *por ejemplo*, el cetuximab no debe usarse o debe suspenderse.

Se describen además en la presente descripción los estuches. Los estuches incluyen uno o más reactivos para determinar la histología del NSCLC y opcionalmente con instrucciones para usar los resultados de la histología para determinar el tratamiento de pacientes con NSCLC, *por ejemplo*, con el tratamiento del anticuerpo anti EGFR. Por ejemplo, cuando el NSCLC es SCC o PLC, la determinación indica que es un respondedor y cuando el NSCLC es ADC o LCC, la determinación indica un no respondedor del tratamiento con anticuerpo anti EGFR.

EJEMPLOS

Ejemplo 1: Tasa de respuesta (RR) alta al Cetuximab por NSCLC-SCC PDX

El cetuximab todavía debe aprobarse para el tratamiento del cáncer de pulmón de células no pequeñas (NSCLC), aunque varios ensayos clínicos indicaron beneficio clínico en algunos pacientes, debido a la carencia de un(os) biomarcador(es) predictivo(s) convincente(s) para posibles respondedores (Pirker R, y otros Lancet. 2009;373:1525-31; Khambata-Ford S, y otros J Clin Oncol. 2010;28:918-27; y O'Byrne KJ, y otros Lancet Oncol. 2011;12:795-805). Para explorar el biomarcador predictivo de la respuesta al cetuximab, establecimos una gran colección de xenoinjertos derivados de pacientes (PDX) de pacientes asiáticos con diferentes subtipos de histología de NSCLC, incluido el adenocarcinoma (ADC), carcinoma de células escamosas (SCC), carcinoma pleomórfico (PLC) y carcinoma de células grandes (LCC), etc. Curiosamente, mientras que el NSCLC tuvo una tasa de aceptación general de injerto del 25 %, la tasa del SCC fue ~31 %, casi el doble del -17 % del ADC, un fenómeno puede tener implicaciones biológicas para el potencial metastásico del tumor y el pronóstico. Cuando se prueba el cetuximab en una cohorte seleccionada al azar de 32 modelos PDX, se confirma que un subconjunto de ellos respondió al cetuximab (15/32) (como se definió mediante el $\%^{\Delta T}/_{\Delta C} < 50 \%$, 47 %). Examinando cuidadosamente la histopatología junto con los rasgos genéticos moleculares de esta

cohorte, sorprendentemente se encuentra que todos los modelos respondedores pertenecen exclusivamente a SCC y PLC (14/15 y 1/15 respectivamente), a diferencia de ninguno para ADC (0/15). Por el contrario, los no respondedores ($\%^{\Delta T}/_{\Delta C} > 50 \%$) inclusive son de ADC (7/17), LCC (2/17), y SCC (7/17). Mientras que ninguno para los respondedores, 1/7 de SCC no respondedores tiene la activación de la mutación KRAS G12D. Un respondedor parcial tiene la fusión ALK-EML4 ($\%^{\Delta T}/_{\Delta C} = 37 \%$). En general, el SCC no respondedor o parcialmente respondedor tiende a tener una expresión de EGFR relativamente menor en comparación con los buenos respondedores ($\%^{\Delta T}/_{\Delta C} < 20 \%$). Entre los buenos respondedores se incluyen la activación de mutaciones de EGFR (deleción, inserción y mutaciones puntuales). En resumen, nuestros datos parecen sugerir que el SCC asiático tiene una tasa de aceptación de injerto superior y una tasa de respuesta (RR) superior de cetuximab que el ADC asiático, con factores posiblemente positivos de mayor expresión y mutación de EGFR, y factores negativos de mutación de KRAS, fusión de ALK y amplificación de c-Met.

Aunque los NSCLC se consideran generalmente enfermedades agresivas, entre los dos principales subtipos de histología, el SCC es aún más agresivo en términos de metástasis y peor pronóstico (What is non-small cell lung cancer, Sociedad Americana del Cáncer, 2012). Se creía que los inhibidores de la tirosina quinasa (TKI) eran más efectivos en el tratamiento del adenocarcinoma que SCC, ya que el factor positivo de las mutaciones EGFR para beneficio de los tratamientos con TKI frecuentemente se asocian con adenocarcinoma (20 %~40 %) (Pao y otros, 2009 y Billah, y otros 2011) y raramente con SCC (<3 %) (Sequest LV y otros, 2011). Debido a que las pruebas de mutación de EGFR se consideraron pruebas predictivas para el tratamiento con TKI para ADC, pero no para SCC (NCCN Guía de Prácticas Clínicas), o en otras palabras, los TKI se han considerado principalmente como un tratamiento para ADC, excluyendo el SCC. Consecuentemente, hoy esencialmente no existe un tratamiento objetivo para SCC. Sin embargo, la mayoría de los estudios clínicos que condujeron a esta creencia se han llevado a cabo en gran parte de Occidente y en pacientes de poblaciones caucásicas. Aún no se ha determinado cuánto de estos son verdaderos para pacientes asiáticos, *por ejemplo*, pacientes chinos con NSCLC.

Todos estos representan la urgencia extrema de las opciones de tratamiento adicionales para pacientes con NSCLC, particularmente los fármacos comercializados pero que aún no se han aprobado para esta indicación. Entre ellos se encuentran los anticuerpos monoclonales contra el EGFR, el mismo objetivo de los dos fármacos NSCLC aprobados (EGFR-TKI), que incluyen cetuximab y panitumumab (también Matuzumab no aprobado) que son opciones potenciales de ese tipo.

El cetuximab es un anticuerpo monoclonal IgG1. Se dirige al EGFR y bloquea la unión ligando receptor, provocando cambios de conformación en el receptor e inactivando la señalización celular mediada por el EGFR (Mendelsohn J, y otros J Clin Oncol. 2003;21:2787-99). Fue aprobada por la Administración de Drogas y Alimentos de los EE. UU. (FDA) para el tratamiento del carcinoma colorrectal metastásico (mCRC) que expresa EGFR, ya sea como agente único (para pacientes resistentes a irinotecán/oxaliplatino) o en combinación con el irinotecán (para pacientes resistentes a irinotecán) (Ciardiello F, y otros. N Engl J Med. 2008;358:1160-74), excluir aquellos con mutaciones de KRAS en los codones 12 y 13 (De Roock W, y otros Lancet Oncol. 2011; 12:594-603). El cetuximab está aprobado además para la indicación del carcinoma de células escamosas (SCC) de cabeza y cuello con enfermedad localmente avanzada y recurrente/metastásica como un tratamiento combinado con la quimioterapia (Vermorken JB, y otros N Engl J Med. 2008;359:1116-27) y radiación (Bonner JA, y otros N Engl J Med. 2006;354:567-78). Sin embargo, no se ha aprobado para el tratamiento del NSCLC, aunque los ensayos clínicos (*por ejemplo*, FLEX) indicaron actividad antitumoral en algunos pacientes cuando se combinan con agentes quimioterapéuticos (Pirker R, y otros Lancet. 2009;373:1525-31). Esto se debe a la imposibilidad de identificar un biomarcador predictivo convincente para los posibles respondedores (BMS099) (Khambata-Ford S, y otros J Clin Oncol. 2010;28:918-27 y O'Byrne KJ, y otros Lancet Oncol. 2011;12:795-805), aunque los esfuerzos recientes han sugerido que las puntuaciones más altas de EGFR-IHC demostraron una mayor supervivencia (Pirker R, y otros Lancet Oncol. 2012;13:33-42).

Los xenoinjertos derivados de pacientes (PDX), sin ninguna manipulación *in vitro*, reflejan los perfiles histopatológicos y genéticos de los pacientes, que incluyen los modelos NSCLC PDX (Ding L, y otros Nature. 2010;464:999-1005; Marangoni E, y otros Clin Cancer Res. 2007;13:3989-98; Nemati F, y otros Clin Cancer Res. 2010;16:2352-62; Nemati F, y otros Anticancer Drugs. 2010;21:25-32; Fichtner I, y otros Clin Cancer Res. 2008;14:6456-68; y Hennessey PT, y otros PLoS One. 2011;6:e20584). PDX mejoró el poder predictivo de los modelos de cáncer preclínicos y permite el descubrimiento de biomarcadores predictivos para terapias específicas. Se describió previamente el establecimiento de una gran colección de modelos PDX (denominados NSCLC HuPrime®) injertando tejidos tumorales de pacientes NSCLC asiáticos en ratones inmunocomprometidos (Yang M, y otros Overcoming drug resistance with tailored treatment regimen in patient derived xenografts from naïve Asian NSCLC patients resistant to EGFR inhibitors. 2012; *presentado*). Esta colección permitió el examen minucioso de la naturaleza de los subtipos de NSCLC y además la capacidad de realizar ensayos clínicos similares a los ensayos en base a una cohorte seleccionada al azar. Encontramos que el subtipo de SCC tiene una tasa de injerto significativamente mayor que ADC, además tiene un alto porcentaje de tasa de mutaciones de EGFR y, en particular, tiene una tasa de respuesta (RR) alta para el tratamiento con el cetuximab; en los modelos de NSCLC probados, todos los respondedores son casi exclusivamente SCC, al menos para los modelos derivados de pacientes asiáticos. El tratamiento con el cetuximab de una cohorte seleccionada al azar de los modelos injertados demostró que no solo un subconjunto de ellos respondió al tratamiento, sino que todos los que respondieron hasta ahora son sorprendentemente casi exclusivamente SCC, lo que sugiere una tasa de respuesta (RR) significativamente mayor para SCC que para no SCC, al menos para los pacientes asiáticos. Además, identificamos una

serie de factores que pueden influir ya sea en la respuesta positiva o negativa. Este descubrimiento indicó que el cetuximab para NSCLC-SCC podría ser un buen objetivo de enfermedad para el cetuximab, así como otros fármacos de anticuerpos monoclonales antagonistas del EGFR. Estas observaciones pueden ayudar a definir los probables respondedores al cetuximab de NSCLC en la clínica para pacientes asiáticos.

5 Materiales y Métodos:

Muestras tumorales de pacientes, el injerto en ratones inmunocomprometidos y la evaluación de la eficacia del compuesto. El injerto de tejidos tumorales recién extirpados quirúrgicamente de los pacientes diagnosticados como NSCLC se describieron anteriormente (Yang M, y *otros* Overcoming drug resistance with tailored treatment regimen in patient derived xenografts from naïve Asian NSCLC patients resistant to EGFR inhibitors. 2012; *presentado*), y se aprobó por las Juntas de Revisión Institucional del Cuarto Hospital de la Universidad Médica de Hebei, con los consentimientos informados de los pacientes. Todos los estudios con animales de experimentación se llevaron a cabo en estricto cumplimiento con las recomendaciones de la Guía para el Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio de los Institutos Nacionales de la Salud. El protocolo se aprobó por el Comité de Ética de los Experimentos Animales de Crown Bioscience, Inc. (Comité Crown Bioscience IACUC). La evaluación de la actividad antitumoral del cetuximab en modelos NSCLC-PDX establecidos se describió además anteriormente (Yang M, y *otros* Overcoming drug resistance with tailored treatment regimen in patient derived xenografts from naïve Asian NSCLC patients resistant to EGFR inhibitors. 2012; *presentado*). El crecimiento tumoral se controló dos veces por semana y los $\% \Delta T / \Delta C$ se calcularon los valores para evaluar la respuesta tumoral al tratamiento (ΔT = cambio del volumen del tumor en el grupo de tratamiento y ΔC = cambio de volumen del tumor en el grupo de control).

Análisis de la mutación hotspot del oncogén. Los análisis hotspot del gen EGFR de los modelos de NSCL-PDX se describieron anteriormente (Yang M, y *otros* Overcoming drug resistance with tailored treatment regimen in patient derived xenografts from naïve Asian NSCLC patients resistant to EGFR inhibitors. 2012; *presentado*). Para otros análisis de mutación de oncogenes, los iniciadores de PCR fueron: KRAS-Exón 2, F:5'-TTATGTGTGACAT GTTCTAAT -3' (sec. con núm. de ident.: 1); R:5'-AGAATGGTCCTGCACCAGTAA-3' (sec. con núm. de ident.: 2). KRAS-Exón 3, F:5'-TCAAGTCCTTTGCCCATTTT-3' (sec. con núm. de ident.: 3); R:5'-TGCATGGCATTAGCAAAGAC-3' (sec. con núm. de ident.: 4). KRAS-Exón 4, F:5'-TTGTGGACAGGTTTGAAGA-3' (sec. con núm. de ident.: 5); R:5'-AGAAGCAA TGCCCTCTCAAG-3' (sec. con núm. de ident.: 6). EGFR-Exón 18, F:5'-CATGGTGAGGGCTGAGGTGA-3' (sec. con núm. de ident.: 7); R:5'-CCCCACCAGACCATGAGAGG-3' (sec. con núm. de ident.: 8). EGFR-Exón 19, F:5'-GTGCATCGCTGGTAACATCCA-3' (sec. con núm. de ident.: 9); R:5'-GGAGATGAGCAGGGTCTAGAGCA-3' (sec. con núm. de ident.: 10). EGFR-Exón 20, F:5'-CGCATTCATGCGTCTTCACC-3' (sec. con núm. de ident.: 11); R:5'-CTATCCCAGGAGCGCAGACC-3' (sec. con núm. de ident.: 12). EGFR-Exón 21, F:5'-TGGCATGAACATGACCCTGAA-3' (sec. con núm. de ident.: 13); R:5'-CAGCCTGGTCCCTGGTGTC-3' (sec. con núm. de ident.: 14). PI3K-Exón 1, F:5'-CTCCACGACCATCATCAGG-3' (sec. con núm. de ident.: 15); R:5'-GATTACGAAGGTATTGGTTTAGACAG-3' (sec. con núm. de ident.: 16). PI3K-Exón 9, F:5'-GATTGGTTCTTTCCTGTCTCTG-3' (sec. con núm. de ident.: 17); R:5'-CCACAAATATCAATTTACAACCATTG-3' (sec. con núm. de ident.: 18). PI3K-Exón 20, F:5'-TGGGGTAAAGGGAATCAAAG-3' (sec. con núm. de ident.: 19); R:5'-CCTATGCAATCGGTCTTTGC-3' (sec. con núm. de ident.: 20). AKT-Exón 3, F:5'-ACATCTGTCCTGGCACAC-3' (sec. con núm. de ident.: 21); R:5'-GCCAGTGCTTGCTTGCTG-3' (sec. con núm. de ident.: 22). BRAF-Exón 15, F:5'-CTCTTCATAATGCTTGCTC-3' (sec. con núm. de ident.: 23); R:5'-GTGAATACTGGGAACATATG-3' (sec. con núm. de ident.: 24). ERK-Exón 2, F:5'-ACTTTACCAACT TGCTTCT-3' (sec. con núm. de ident.: 25); R:5'-TCACAACAACCATCCCT-3' (sec. con núm. de ident.: 26). ERK-Exón 8, F:Inverso: 5'-TGCCTTACCCATAAC-3' (sec. con núm. de ident.: 27); R:5'-GGACCTTGAGGAACATAAT-3' (sec. con núm. de ident.: 28). Los métodos de PCR para estos oncogenes son los mismos que para el análisis de mutación de EGFR que se describió anteriormente (Yang M, y *otros*. Overcoming drug resistance with tailored treatment regimen in patient derived xenografts from naïve Asian NSCLC patients resistant to EGFR inhibitors. 2012; *presentado*).

Análisis de la expresión y copia de los genes del EGFR y c-Met de los modelos NSCLC-HuPrime®. Los métodos para determinar la expresión y los números de copias de los genes de EGFR y c-Met incluyen la inmunohistoquímica estándar (IHC), Affy-U219, qRT-PCR, qPCR, análisis de SNP6, que se describieron previamente (Yang M, y *otros*. Overcoming drug resistance with tailored treatment regimen in patient derived xenografts from naïve Asian NSCLC patients resistant to EGFR inhibitors. *presentada*; 2012).

55 Resultados

SCC tuvo la tasa de injerto significativamente mayor que ADC. Se estableció un panel grande de modelos de NSCLC PDX mediante el trasplante de tejidos tumorales extirpados quirúrgicamente de pacientes asiáticos sin tratamiento previo por injerto subcutáneo en ratones Balb/c desnudos (Yang M, y *otros*. Overcoming drug resistance with tailored treatment regimen in patient derived xenografts from naïve Asian NSCLC patients resistant to EGFR inhibitors. *presentada*; 2012). Los tejidos tumorales de los hospitales y los usados para el injerto son de todos los tipos de histopatología de NSCLC sin criterios de inclusión previa o exclusión, que consisten en ~47 % de adenocarcinoma (ADC), ~33 % de carcinoma de células escamosas (SCC), 3 % de carcinoma adenoescamoso (carcinoma pleomorfo o PLC), 2 % de carcinoma de células grandes (LCC) y 15 % de otros. La relación de distribución entre ADC y SCC es aproximadamente similar a la población de pacientes (ver anteriormente). En general, la tasa de aceptación general del

25 % para el NSCLC es consistente con los informados por otros (Fichtner I, y otros. Clin Cancer Res. 2008;14:6456-68). Curiosamente, la tasa de aceptación para SCC de ~31 % es significativamente mayor que la de ADC (~17 %). La tasa de aceptación para PLC (carcinoma adenoescamoso) es ~35 %, y LCC ~50 % en este experimento, pero los tamaños de muestra para estos dos son demasiado pequeños para ser significativos. La tasa de aceptación alta estadísticamente significativa de SCC (valor de p de 0,002) sobre ADC nunca se ha reportado (Fichtner I, y otros. Clin Cancer Res. 2008;14:6456-68) y podría implicar diferencias subyacentes en la biología del tumor entre estos dos tipos principales de histología, que incluyen fenotipos de crecimiento más agresivos y potenciales metastásicos para SCC que para ADC en los modelos y quizás en los pacientes (ver anteriormente). Se reportó que PDX se parece más a los tumores metastásicos que a los tumores primarios (Ding L, y otros Nature. 2010;464:999-1005), lo que podría explicar además, la tasa de aceptación alta de SCC que ADC.

Para asegurar la histología de los modelos, los tejidos tumorales del modelo se reexaminaron cuidadosamente por otro patólogo de forma independiente y a ciegas. La tinción de IHC se realizó además para los marcadores de diferenciación para confirmar además la histología de los modelos, que se resumen en la Tabla 1 con imágenes representativas que se muestran en la Figura 5.

Tabla 1: Información del paciente.

ID	Género	Edad	Etapas	Grado	Histopatología
9	M	47	T2N1M0 IIb	II	SCC de moderadamente a pobremente diferenciado
299	M	52	T1N0M0 Ia	NA	SCC pobremente diferenciado
350	M	75	T1N0M0 Ia	NA	Carcinoma de células escamosas bien diferenciado
377	F	45	T1N0M0 I	III	ADC pobremente diferenciado
387	F	64	T3N2M0IIa	NA	Adenocarcinoma pobremente diferenciado
395	M	58	T1N2M0IIa	NA	SCC pobremente diferenciado
697	M	53	NA	NA	Carcinoma de células escamosas pobremente diferenciado
743	M	48	NA	NA	Carcinoma de células escamosas pobremente diferenciado
858	M	55	NA	NA	Carcinoma de células escamosas pobremente diferenciado
1143	M	85	NA	NA	Carcinoma de células escamosas pobremente diferenciado
1155	M	77	NA	NA	Carcinoma de células escamosas de moderadamente a pobremente diferenciado
1160	M	70	NA	NA	Carcinoma de células escamosas pobremente diferenciado
1215	M	58	NA	NA	Carcinoma de células escamosas, variante basaloide
1225	M	53	NA	NA	Adenocarcinoma pobremente diferenciado
1245	F	57	NA	NA	ADC moderadamente diferenciado
1302	M	62	NA	NA	Carcinoma de células escamosas pobremente diferenciado
1429	M	63	NA	NA	SCC moderadamente pobremente diferenciado
1513	M	65	NA	NA	SCC pobremente diferenciado
1656	F	38	NA	NA	SCC moderadamente diferenciado
1901	F	65	NA	NA	QC_diagnóstico (P1, P2):Carcinoma de células grandes indiferenciado

5	2503	F	78	NA	NA	QC_diagnóstico (P4):ADC pobremente diferenciado
	2505	M	69	NA	NA	Adenocarcinoma pobremente diferenciado
	2511	M	49	NA	NA	Carcinoma de células grandes indiferenciado
	2512	M	58	NA	NA	ADC de pobremente a moderadamente diferenciado
10	330	F	72	NA	II	Carcinoma de células escamosas de moderadamente a pobremente diferenciado
	357	F	60	T1N0M0 la	NA	Carcinoma de células escamosas moderadamente diferenciado
15	1235	F	56	NA	NA	Carcinoma adenoescamoso con parte del carcinoma bronquioloalveolar
	1868	M	NA	NA	NA	SCC pobremente moderado diferenciado
20	1204	M	69	NA	NA	QC_diagnóstico (P2):Carcinoma de células escamosas pobremente diferenciado
	38	M	45	T2N1M0 IIB	I-II	Carcinoma de células escamosas pobremente diferenciado
	1219	M	70	NA	NA	Carcinoma de células escamosas pobremente diferenciado
25	741	M	53	NA	NA	Carcinoma de células escamosas pobremente diferenciado

Un subconjunto del cohorte NSCLC-HuPrime® analizado respondió al cetuximab y se encontró que fueron exclusivamente SCC o PLC. Treinta y dos modelos de NSCLC PDX se usaron en el presente estudio de tratamiento con el cetuximab sin intención de preselección por subtipos de histopatología. Fueron cuatro subtipos: SCC (22/32 o 66 %), ADC (7/32 o 22 %), PLC (1/32 o 3 %) y LCC (3/32 o 9 %) por exámenes histopatológicos del paciente y las muestras del modelo correspondiente (Tabla 2). El porcentaje significativamente mayor de SCC probablemente se debió a más SCC en la colección (ver anteriormente).

Tabla 2. Resumen de los modelos NSCLC HuPrime®

Modelo	Patología	EGFR mut	KRAS mut	EGFR _{expr} (11725102_at)	MET CN (PennCNV)	Cetuximab $\Delta T/\Delta C$
1235	PLC	deleción	% en peso	+++	3	-0,12
1868	SCC	T790M/L858R	% en peso	++	2	-0,06
1204	SCC	% en peso	% en peso	++	2	0,03
357	SCC	% en peso	% en peso	+++	2	0,04
387	SCC	% en peso	% en peso	+++	2	0,08
330	SCC	% en peso	% en peso	++	2	0,11
1219	SCC	% en peso	% en peso	++	2	0,17
741	SCC	% en peso	% en peso	+++	2	0,22
1160	SCC	% en peso	% en peso	++	2	0,22
395	SCC	% en peso	% en peso	++	2	0,23
9	SCC	% en peso	% en peso		1	0,35
1656	SCC	% en peso	% en peso	+++	2	0,37
1143	SCC	% en peso	% en peso	+	2	0,37
1302	SCC	% en peso	% en peso			0,43

5	350	SCC	% en peso	% en peso	+++	2	0,49
	299	SCC	% en peso	% en peso	+	2	0,53
	2505	ADC	% en peso	% en peso	+	2	0,57
	2511	LCC	% en peso	% en peso			0,59
	1901	LCC	% en peso	% en peso	++	4(amplificado)	0,77
10	1215	SCC^ Basal	% en peso	% en peso		2	0,80
15	1245	ADC	% en peso	35G>A, G12D	++	2	0,82
	1155	SCC	% en peso	% en peso	+	2	0,88
	743	SCC	% en peso	% en peso	++	2	0,92
20	1225	ADC	% en peso	% en peso			0,94
	2503	ADC	% en peso	% en peso	++	4(amplificado)	0,94
	858	ADC	L858R	% en peso	++	4(amplificado)	0,97
25	377	ADC	% en peso	% en peso	++	1	1,00
	387	ADC	inserción	% en peso	+++	3	1,00
	2512	SCC	% en peso	Gly12Cys			1,00
	1429	SCC					1,00
30	697	SCC	% en peso	% en peso	++	2	1,04
	1513	SCC	% en peso	% en peso	+	2	1,20

Estas muestras de los 32 modelos además se confirmaron como EGFR positivas por análisis de inmunoquímica (IHC) (Tabla 2 y Figura 1), aunque no se usó como criterio de inclusión para estos estudios. Para evaluar los modelos de respuestas al cetuximab, este cohorte se trató con un nivel de dosis de 1 mg/ratón una vez por semana durante dos semanas. Las respuestas tumorales se midieron por el volumen del tumor y se cuantificaron por $\%^{\Delta T}/\Delta C$ como se describió previamente (Yang M, y otros. Overcoming drug resistance with tailored treatment regimen in patient derived xenografts from naive Asian NSCLC patients resistant to EGFR inhibitors. *Presentada*; 2012). Los resultados demostraron que un subconjunto de este cohorte respondió al cetuximab, del mismo modo a lo visto en la clínica (Khambata-Ford S, y otros J Clin Oncol. 2010;28:918-27). 15/32 resultaron ser sensibles (como se definió por $\%^{\Delta T}/\Delta C < 50$ %), o una tasa de respuesta (RR) del 47 % (Tabla 2). Los ejemplos de curvas de inhibición del crecimiento del tumor de los respondedores y no respondedores se muestran en la Figura 2.

A continuación, se comparó la tasa de respuesta (RR) de diferentes subtipos de histopatología. Sorprendentemente, todos los respondedores fueron SCC (14/15) o PLC (1/15) (100 %). La RR de SCC/PLC fue 65 % (15/23). Entre los 17 no respondedores, 7 fueron SCC (7/17, o 47 %), 7 fueron ADC (7/17, o 41 %), y 2 fueron LCC (12 %). La RR para ADC fue sorprendentemente bajo (0/7). Esta observación en base al número limitado de muestras sugirió que el SCC tiene RR mayor significativamente que la de ADC (valor de p de 0,001 mediante prueba t independiente de 2 colas). Los modelos de NSCLC PDX tratados con el cetuximab se han descrito anteriormente por otros (Fichtner I, y otros. Clin Cancer Res. 2008;14:6456-68 y Krumbach R, y otros Eur J Cancer. 2011;47:1231-43). Sin embargo, la diferencia en las respuestas entre los subtipos de histología nunca se ha reportado o comentado. Esta observación es única para la colección de modelos o un fenómeno general. Vale la pena señalar que los modelos carecen de tratamiento previo, son totalmente de orígenes de pacientes asiáticos, con tasa de aceptación sesgada entre los subtipos de histología, que pueden o no contribuir a las diferencias potenciales en las observaciones.

La pregunta a continuación fue si existen datos clínicos que respalden esta observación. Han existido dos estudios clínicos de fase III donde se probaron combinaciones del cetuximab con quimioterapias. En el estudio FLEX, de hecho se observó un beneficio clínico (OS) algo mejor para el SCC en comparación con el de AC con relaciones de riesgo de 0,8 y 0,94, respectivamente, aunque no se describió explícitamente en el reporte (Pirker R, y otros. Lancet. 2009;373:1525-31). En este estudio, los tratamientos de combinación se compararon con la quimioterapia sola.

Muchos factores pueden contribuir a la discrepancia potencial entre los ensayos en pacientes y modelos de PDX, que incluyen 1) diferentes tipos de criterios de valoración - PFS (supervivencia libre de progresión) vs. RR, 2) diferentes regímenes de tratamiento- combinación vs. agente único, 3) diferencias étnicas en la población: en su mayoría caucásicos vs asiáticos orientales. Nuestras observaciones proporcionan importantes implicaciones médicas.

Las mutaciones del EGFR activadoras en SCC no tienen ningún efecto negativo en la respuesta al cetuximab. A continuación, se examinó el estado del gen EGFR de los respondedores en comparación con sus respuestas al cetuximab. Entre los 4 respondedores principales ($\% \Delta T / \Delta C < 8 \%$) (Tabla 2), tres tienen mutaciones del EGFR activadoras clásicas que se reportaron frecuentemente en la clínica (Gazdar AF. *Oncogene*. 2009;28 Suppl 1:S24-31). Específicamente, son HuPrime-®R-LU1868 que contienen mutaciones dobles L858R/T790M, LU1235 que contiene la mutación por delección (exón 19: 2236-2350), y LU1868/1235 se describieron en reportes anteriores (Yang M, y otros. *Overcoming drug resistance with tailored treatment regimen in patient derived xenografts from naïve Asian NSCLC patients resistant to EGFR inhibitors*. *Presentada*; 2012). Estos resultados confirmaron además que las mutaciones del EGFR activadoras no tienen influencia negativa en la respuesta al cetuximab, y que estas mutaciones, junto con la alta expresión del EGFR, fueron de hecho factores positivos que contribuyen a la respuesta del cetuximab (Krumbach R, y otros *Eur J Cancer*. 2011;47:1231-43 y Tsuchihashi Z, y otros *N Engl J Med*. 2005;353:208-9).

Además es interesante, que los modelos descritos anteriormente con mutaciones del EGFR son SCC (Tabla 1 y Tabla 2), más de los que se encontraron en ADC. Esto contradice los reportes previos de que las mutaciones del EGFR, aunque se encuentran con frecuencia en ADC, raramente se encuentran en SCC. Esto podría representar una gran diferencia entre los pacientes con NSCLC asiáticos y caucásicos. Para confirmar esta observación, varios patólogos confirmaron a ciegas e independientemente la histología de todos estos modelos. Las diapositivas de H&E se muestran en la Figura 5. De hecho, han existido reportes que describen recientemente las mutaciones puntuales del EGFR en no ADC (SCC, carcinoma adenoescamoso y de células grandes), que se producen en pacientes chinos (Jia XL, y otros *Lung Cancer*. 2011;74:396-400) y japoneses (Shukuya T, y otros. *Cancer Sci*. 2011;102:1032-7).

Aún no se han identificado otras mutaciones oncogénicas en los respondedores SCC, excepto que LU1565 contiene fusión ALK-EML4 y tiene un valor $\Delta T / \Delta C$ de 37 %, o una respuesta parcial. En contraste, se encontraron otras mutaciones oncogénicas que son factores negativos para la respuesta del cetuximab en SCC no respondedores, que incluye SCC-LU2512 (KRAS-G12C) (Tabla 2). En los modelos no SCC, además se encontró que muchos de ellos tenían factores negativos: ADC-LU858, ADC-LU2503 y LCC-LU1901 con amplificación de c-Met; ADC-LU1245 con KRAS-G12C; ADC-LU387 con amplificación del gen Her2.

El presente estudio que usa PDX demostró claramente que un alto porcentaje de NSCLC SCC de pacientes asiáticos responde al cetuximab (Tabla 2).

Discusión:

Las únicas tres terapias objetivas aprobadas son los TKI contra EGFR (erlotinib, gefitinib) y ALK-EML4 (crizotinib). Tienen aplicaciones limitadas ya que solo un pequeño porcentaje de pacientes con NSCLC: 10 % de los NSCLC para los EGFR-TKI (Lynch TJ, y otros *N Engl J Med*. 2004;350:2129-39 y Paez JG, y otros *Science*. 2004;304:1497-500), principalmente en el subtipo de ADC, y 3-5 % para crizotinib (Rodig SJ, y otros *Curr Opin Investig Drugs*. 2010;11:1477-90). Esto presenta una urgencia extrema de opciones de tratamiento adicionales para pacientes con NSCLC, particularmente aquellos fármacos comercializados pero que aún no se han aprobado para esta indicación. Entre ellos se encuentran los anticuerpos monoclonales contra el EGFR, el mismo objetivo de los dos fármacos NSCLC aprobados (EGFR-TKI), que incluyen el cetuximab y panitumumab (además, el Matuzumab no aprobado) que son opciones potenciales de ese tipo.

Sin embargo, los ensayos clínicos hasta ahora sobre el cetuximab, conducidos en gran parte en el Occidente, no resultaron ser muy prometedores. El principal obstáculo sigue siendo identificar los biomarcadores predictivos y así la población de pacientes que serían sensibles al cetuximab en ensayo clínico (Pirker R, y otros *Lancet*. 2009;373:1525-31; Khambata-Ford S, y otros *J Clin Oncol*. 2010;28:918-27; y O'Byrne KJ, y otros *Lancet Oncol*. 2011;12:795-805). Nuestro presente estudio que usa PDX demostró claramente que un alto porcentaje del NSCLC SCC de pacientes asiáticos responden al cetuximab (Tabla 1) y cumple con este obstáculo. Nuestro estudio puede ayudar en gran medida al diseño de estudios clínicos, particularmente los estudios que se llevarán a cabo en el Asia oriental.

Se ha prestado especial atención al hallazgo de que el NSCLC asiático puede ser diferente del de los caucásicos. Se han visto diferencias en: 1) la respuesta a TKI (RR significativamente mayor para el NSCLC asiático (particularmente las mujeres) que en el Occidente; 2) frecuencia de mutaciones de EGFR en diferentes subtipos de histología según lo reportado por otros y aquí; 3) RR significativa alta en SCC asiático como se describe aquí. Este nuevo conocimiento en la diferencia entre la demografía de los pacientes ayuda a diseñar terapias más efectivas.

Lista de secuencias

<110> Crown BioScience, Inc. Li, Henry Qixiang Yang, Mengmeng

5 <120> MARCADORES HISTOLÓGICOS PARA LA IDENTIFICACIÓN DE PACIENTES CON CARCINOMA PULMONAR NO CELULAR PARA EL TRATAMIENTO CON ANTICUERPOS ANTI-EGFR

<130> CRBI-001/01WO

10 <150>PCT/CN2012/079399
<151> 2012-07-31

<160> 28

15 <170> PatentIn versión 3.5

<210> 1
<211> 21
<212> ADN

20 <213> Secuencia Artificial

<220>
<223> KRAS-Exón 2, F

25 <400> 1
ttatgtgtgacatgttctaa t 21

<210> 2
<211> 21
<212> ADNA

30 <213> Secuencia Artificial

<220>
<223> KRAS-Exón 2, R

35 <400> 2
agaatggctctgcaccagta a 21

<210> 3
<211> 20
<212> AN

40 <213> Secuencia Artificial

<220>
<223> KRAS-Exón 3, F

45 <400> 3
tcaagtccttgcccattt 20

50 <210> 4
<211> 20
<212> ADN

<213> Secuencia Artificial

55 <220>
<223> KRAS-Exón 3, R

<400> 4
tgcattgacattagcaaagac 20

60 <210> 5
<211> 21
<212> ADN

65 <213> Secuencia Artificial

	<220>		
	<223> KRAS-Exón 4, F		
5	<400> 5 ttgtggacaggttttgaag a	21	
	<210> 6		
	<211> 20		
10	<212> ADN		
	<213> Secuencia Artificial		
	<220>		
	<223> KRAS-Exón 4, R		
15	<400> 6 agaagcaatgccctctcaag	20	
	<210> 7		
	<211> 20		
20	<212> ADN		
	<213> Secuencia Artificial		
	<220>		
	<223> EGFR-Exón 18, F		
25	<400> 7 catggtgagggctgaggtga	20	
	<210> 8		
	<211> 20		
30	<212> ADN		
	<213> Secuencia Artificial		
	<220>		
	<223> EGFR-Exón 18, R		
	<400> 8 ccccaccagaccatgagagg	20	
40	<210> 9		
	<211> 21		
	<212> ADN		
	<213> Secuencia Artificial		
45	<220>		
	<223> EGFR-Exón 19, F		
	<400> 9 gtgcatcgctggtaacatcc a	21	
50	<210> 10		
	<211> 23		
	<212> ADN		
	<213> Secuencia Artificial		
55	<220>		
	<223> EGFR-Exón 19, R		
	<400> 10 ggagatgagcagggctagagca	23	
60	<210> 11		
	<211> 20		
	<212> ADN		
65	<213> Secuencia Artificial		

<220>
 <223> EGFR-Exón 20, F
 5 <400> 11
 cgcatcattcatgcgtcttcacc 20
 <210> 12
 <211> 20
 10 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> EGFR-Exón 20, R
 15 <400> 12
 ctatcccaggagcgcagacc 20
 <210> 13
 <211> 21
 20 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> EGFR-Exón 21, F
 25 <400> 13
 tggcatgaacatgaccctga a 21
 <210> 14
 <211> 19
 30 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> EGFR-Exón 21, R
 35 <400> 14
 cagcctggtccctggtgctc 19
 <210> 15
 <211> 19
 40 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> PI3K-Exón 1, F
 45 <400> 15
 ctccacgaccatcatcagg 19
 <210> 16
 <211> 26
 50 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> PI3K-Exón 1, R
 60 <400> 16
 gattacgaaggtattggttagacag 26
 <210> 17
 <211> 22
 65 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> PI3K-Exón 9, F
 5 <400> 17
 gattggtcttctgtctctg 22
 <210> 18
 <211> 26
 10 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> PI3K-Exón 9, R
 15 <400> 18
 ccacaaatatcaattacaaccattg 26
 <210> 19
 <211> 21
 20 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> PI3K-Exón 20: F
 25 <400> 19
 tggggtaaagggaatcaaaa g 21
 <210> 20
 <211> 20
 30 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> PI3K-Exón 20: R
 35 <400> 20
 cctatgcaatcggtctttgc 20
 40 <210> 21
 <211> 18
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial
 45 <220>
 <223> AKT-Exón 3, F
 <400> 21
 50 acatctgtcttggcacac 18
 <210> 22
 <211> 18
 <212> ADN
 55 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> AKT-Exón 3, R
 60 <400> 22
 gccagtgtgttgcttg 18
 <210> 23
 <211> 19
 65 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> BRAF-Exón 15, F
 5 <400> 23
 ctcttcataatgcttgctc 19

 <210> 24
 <211> 19
 10 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> BRAF-Exón 15, R
 15
 <400> 24
 gtgaataactgggaactatg 19

 <210> 25
 <211> 20
 20 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> ERK-Exón 2, F
 25
 <400> 25
 actttaccaactgccttct 20

 <210> 26
 <211> 18
 30 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> ERK-Exón 2, R
 35
 <400> 26
 tcacaacaaccatccct 18
 40
 <210> 27
 <211> 15
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial
 45
 <220>
 <223> ERK-Exón 8, F

 <400> 27
 50 tgccttaccataac 15

 <210> 28
 <211> 19
 <212> ADN
 55 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> ERK-Exón 8, R

 <400> 28
 60 ggaccttgagggaacataat 19

Reivindicaciones

1. Una composición que comprende una cantidad efectiva de un fármaco contra el receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR) para usar en el tratamiento del carcinoma de células escamosas (SCC) o carcinoma pleomorfo (PLC), en donde, el uso comprende (i) determinar la histología del cáncer de pulmón en una muestra biológica de un paciente con cáncer de pulmón de células no pequeñas (NSCLC), en donde, una determinación que dicho NSCLC es SCC o PLC es indicativo de un respondedor a un fármaco contra el EGFR y una determinación de que el NSCLC es adenocarcinoma (ADC) o carcinoma de células grandes (LCC) es indicativo de un no respondedor a un fármaco contra el EGFR, y (ii) administrar la composición a un paciente diagnosticado con SCC o PLC cuando la determinación en el etapa (i) indica que el paciente tiene SCC o PLC.
2. La composición para usar de la reivindicación 1, en donde el uso comprende determinar un régimen de tratamiento para tratar el cáncer de pulmón en un paciente que comprende determinar la histología del cáncer de pulmón en una muestra biológica de un paciente con cáncer de pulmón, en donde, se determina que el cáncer de pulmón es cáncer de pulmón de células no pequeñas (NSCLC), y el NSCLC es SCC o PLC es indicativo de un respondedor a un fármaco contra el EGFR y una determinación de que el NSCLC es ADC o LCC es indicativo de un no respondedor a un fármaco contra el EGFR, y tratar a dicho paciente con un tratamiento contra el EGFR cuando el cáncer de pulmón es NSCLC, y el NSCLC es SCC o PLC.
3. La composición para usar de la reivindicación 1, en donde, el uso comprende evaluar el régimen de tratamiento del cáncer de pulmón por un fármaco contra el EGFR que comprende determinar la histología del cáncer de pulmón en una muestra biológica de un paciente con cáncer de pulmón que recibe el fármaco y alterar el régimen de tratamiento en base a la histología del cáncer de pulmón, en donde, el régimen de tratamiento se continúa cuando dicho cáncer de pulmón es NSCLC, y el NSCLC es SCC o PLC; o dicho régimen de tratamiento se interrumpe cuando dicho NSCLC es ADC o LCC.
4. La composición para usar de la reivindicación 1, en donde, el uso comprende seleccionar un paciente con cáncer de pulmón para el tratamiento con un fármaco contra el EGFR, que comprende determinar la histología del cáncer de pulmón en una muestra biológica de un paciente, en donde, la determinación de que el cáncer de pulmón es cáncer de pulmón de células no pequeñas (NSCLC) y el NSCLC es SCC o PLC es indicativo de un respondedor al fármaco y una determinación de que el NSCLC es ADC o LCC es indicativo de un no respondedor al fármaco, y seleccionar para el tratamiento con un tratamiento con un anticuerpo anti EGFR aquellos pacientes que se determina que tienen SCC o PLC.
5. La composición para usar de cualquiera de las reivindicaciones 1-4, en donde, el cáncer de pulmón es cáncer de pulmón de células no pequeñas (NSCLC).
6. La composición para usar de la reivindicación 5, en donde, el NSCLC es SCC o PLC.
7. La composición para usar de cualquiera de las reivindicaciones 1-6, en donde, el fármaco es un anticuerpo anti EGFR.
8. La composición para usar de cualquiera de las reivindicaciones 1-7, en donde, el paciente es de procedencia asiática.
9. La composición para usar de cualquiera de las reivindicaciones 1-8, en donde, el fármaco se coadministra con uno o más quimioterapéuticos, radioterapéuticos, terapéuticos para quimiorradiación o terapéuticos dirigidos.
10. La composición para usar de la reivindicación 9, en donde, dicho agente quimioterapéutico se selecciona de vinblastina, vincristina, dactinomicina, daunorrubicina, doxorubicina, etopósido, mitramicina, paclitaxel, docetaxel, cisplatino, carboplatino, fluorouracilo, ácido folínico e irinotecan.
11. La composición para usar de la reivindicación 9, en donde, el fármaco dirigido se selecciona de bevacizumab, trastuzumab, erlotinib, panitumumab, sorafenib, infliximab, adalimumab, basiliximab, daclizumab y omalizumab.
12. La composición para usar de cualquiera de las reivindicaciones 7-11, en donde, el anticuerpo anti EGFR es el cetuximab o variantes funcionales de este.
13. Un método para predecir la eficacia del tratamiento del cáncer de pulmón con un fármaco contra el EGFR que comprende determinar la histología del cáncer de pulmón en una muestra biológica de un paciente con cáncer de pulmón de células no pequeñas (NSCLC) y proporcionar la determinación de la histología a una entidad que predice la eficacia en base a la histología del cáncer de pulmón, en donde, una determinación que dicho NSCLC es SCC o PLC es indicativo de un respondedor a un fármaco contra el EGFR, y una determinación de que el NSCLC es ADC o LCC es indicativo de un no respondedor a un fármaco contra el EGFR.

14. La composición para usar de la reivindicación 1, en donde, la composición consiste en una cantidad efectiva de un fármaco contra el receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR).

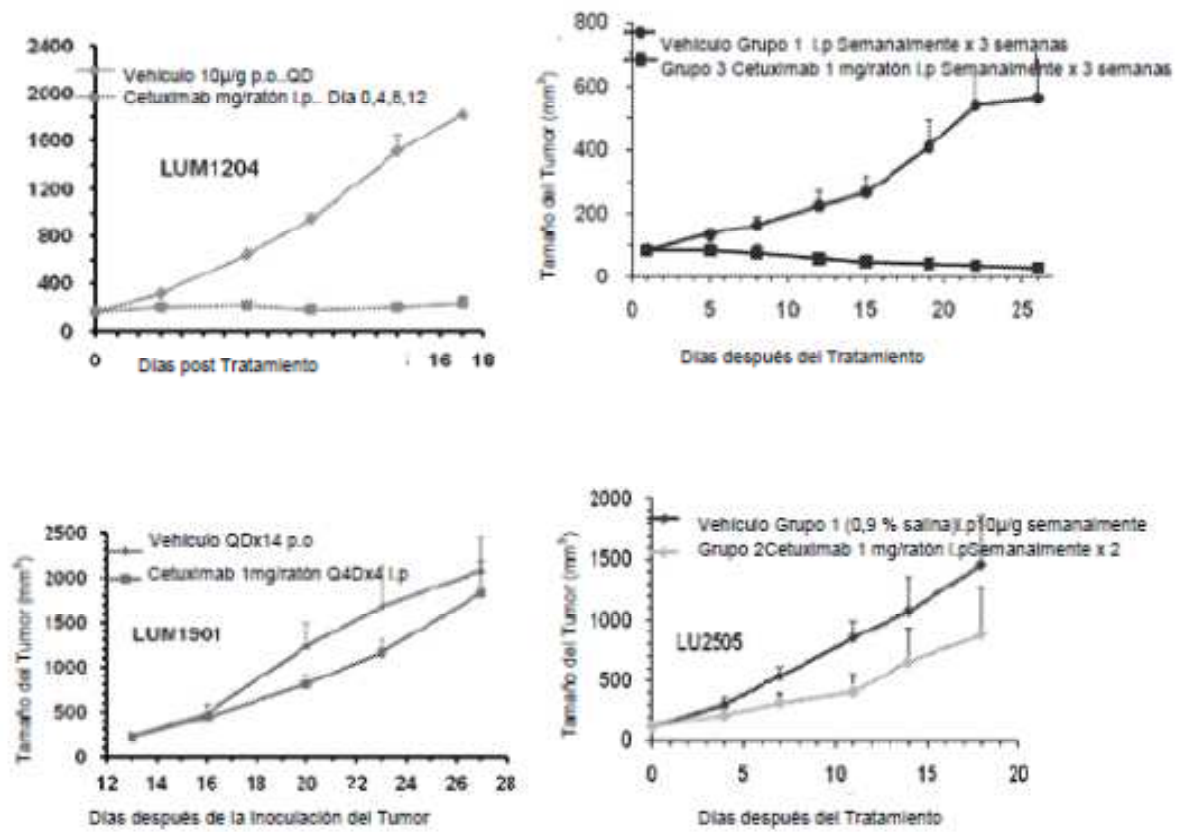


FIGURA 1

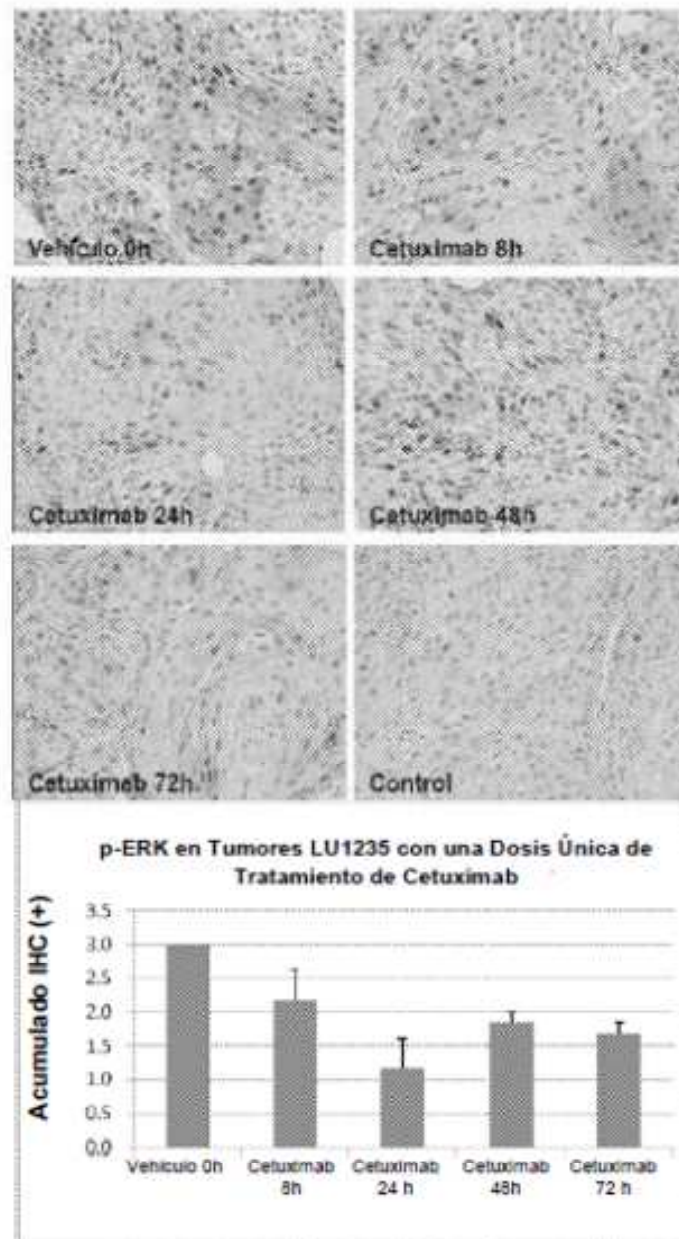


FIGURA 2

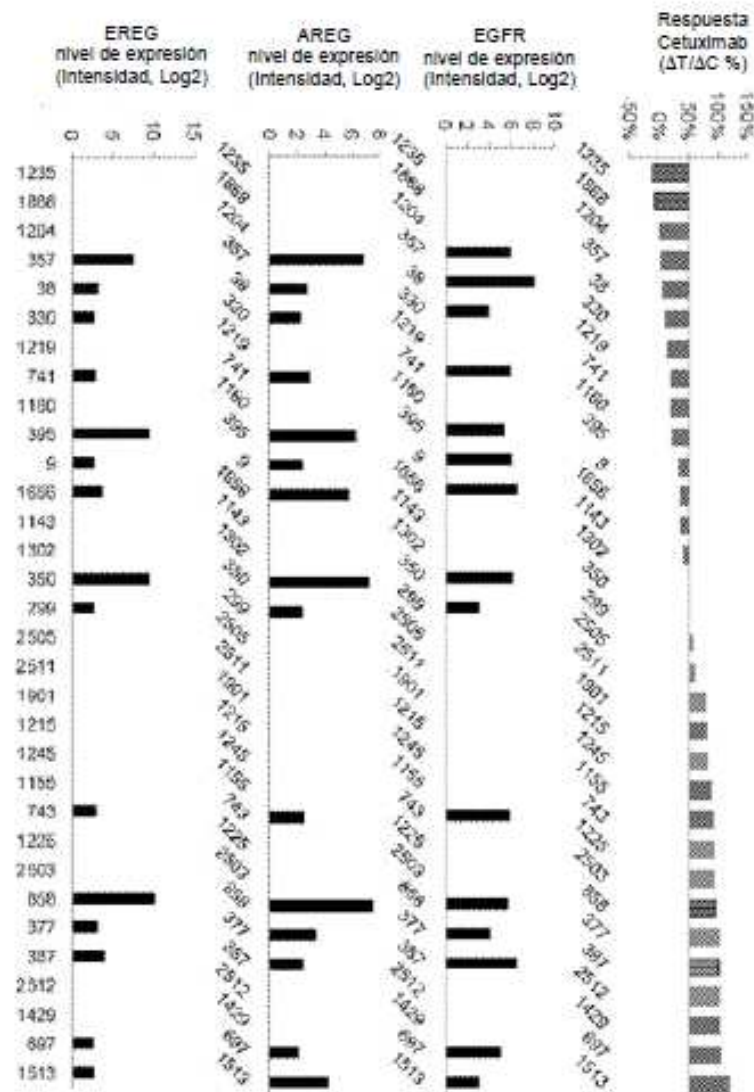


FIGURA 3

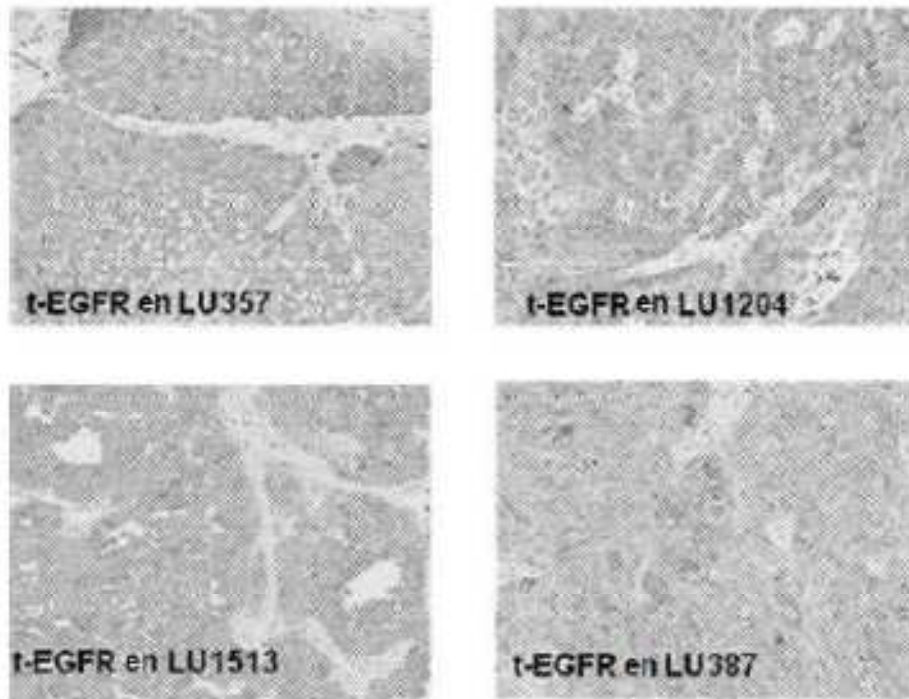


FIGURA 4

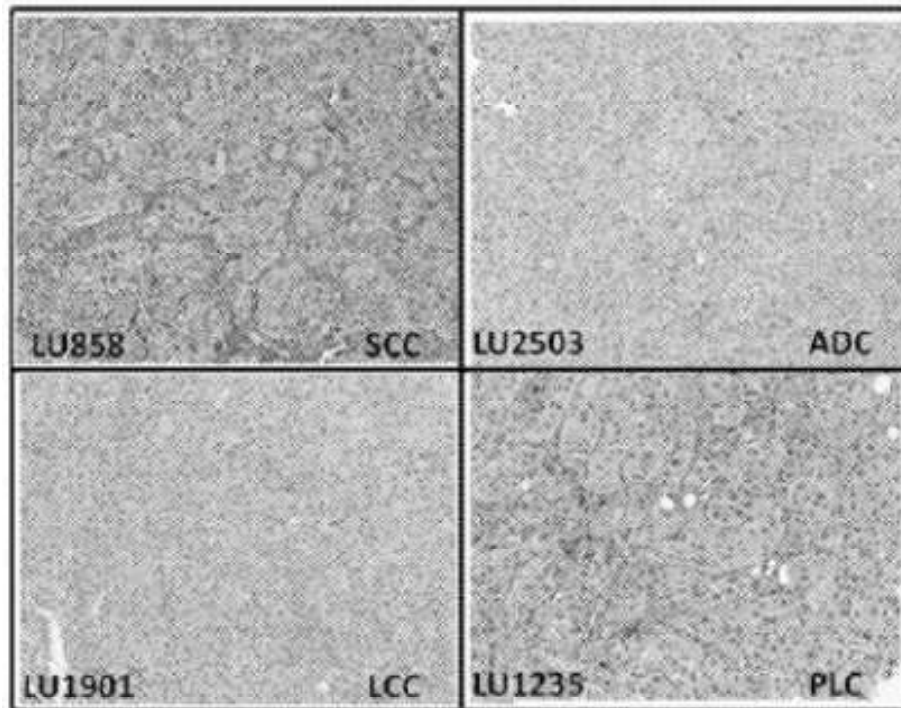


FIGURA 5