



Facultad de Medicina



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MEXICO

FACULTAD DE MEDICINA
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN

TESIS PARA TITULACIÓN DE POSGRADO EN LA ESPECIALIDAD DE
MEDICINA NUCLEAR E IMAGENOLOGÍA MOLECULAR

**Metástasis óseas de adenocarcinoma pulmonar en
gammagrafía ósea SPECT/CT mutaciones EGFR, un
análisis retrospectivo.**

PRESENTA:

PAOLA IVONNE FERNÁNDEZ ZEPEDA

RESIDENTE DE 3ER AÑO DE MEDICINA NUCLEAR E IMAGENOLOGÍA
MOLECULAR

INSTITUTO NACIONAL DE ENFERMEDADES RESPIRATORIAS
"ISMAEL COSÍO VILLEGAS"

TUTOR DE TESIS:

DR. RENÉ GARIBAY VIRÚES

MÉDICO ADSCRITO AL SERVICIO DE MEDICINA NUCLEAR E IMAGENOLOGÍA
MOLECULAR INER



CIUDAD DE MÉXICO, AGOSTO 2019



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

INDICE

I.	Agradecimientos	1
II.	Marco Teórico	2
III.	Planteamiento del problema	9
IV.	Justificación	10
V.	Objetivos	10
VI.	Hipótesis	10
VII.	Materiales y métodos	11
VIII.	Resultados	13
IX.	Discusión	22
X.	Conclusión	23
XI.	Bibliografía	24

GLOSARIO

SPECT- Single Photon Emission Computed Tomography

CT- Computed Tomography

EGFR- receptor del factor de crecimiento epidérmico

NSCLC- Non-small cell lung cancer

SNC- Sistema Nervioso Central

SRE- Skeletal related events

MARCO TEÓRICO

CANCER DE PULMON

El cáncer de pulmón es la principal causa de muerte por cáncer en Estados Unidos y el segundo en incidencia, solo detrás del melanoma.¹ Se estima que en 2019 se diagnosticarán 228,150 nuevos pacientes (116,440 hombres y 111,710 mujeres) y 142,670 personas fallecerán por esta causa. Solo 18% de los pacientes con cáncer de pulmón tienen una supervivencia de cinco o más años.¹

En México, los tumores malignos de los órganos respiratorios e intratorácicos son responsables de cinco fallecimientos por cada 100 000 hombres de 30 a 59 años según estadísticas hasta 2016, representando la segunda causa de muerte por cáncer para esta población y la tercera en mayores de 60 años.²

Los síntomas más comunes del cáncer de pulmón incluyen tos, disnea, pérdida de peso y dolor torácico.

El cáncer de pulmón de células no pequeñas (Non small cell lung cancer- NSCLC) constituye más del 80% de todos los casos de cáncer de pulmón, e incluye 2 tipos principales:

- 1) carcinoma no escamoso (incluye adenocarcinoma, carcinoma de células grandes y otros subtipos)
- 2) carcinoma de células escamosas (epidermoides).

ADENOCARCINOMA

El adenocarcinoma es el subtipo más común de cáncer de pulmón en los Estados Unidos y es la histología más frecuente en no fumadores.

En 2011, su clasificación fue revisada por un panel internacional y adoptado por la OMS, sus categorías incluyen:

- 1) AIS- lesión preinvasiva, generalmente solitaria y no mucinosa.
- 2) MIA- lesión solitaria no mucinosa con un área máxima de invasión de menos de 0.5 cm.
- 3) adenocarcinoma invasivo.

Tanto AIS como MIA se asocian con una excelente supervivencia si son resecaados. La categoría BAC o adenocarcinoma mixto ya no se utiliza.

La evaluación patológica del cáncer de pulmón permite determinar el grado de invasión, si se trata de un primario pulmonar o un cáncer metastásico, establecer el estado de los márgenes quirúrgicos (positivos o negativos), y hacer estudios de diagnóstico molecular para determinar si existen ciertas alteraciones genéticas.

Existen diversos biomarcadores predictivos y pronósticos para NSCLC. Un biomarcador predictivo es indicativo de la eficacia terapéutica, pues existe una interacción entre el biomarcador y la terapia que se refleja en el resultado del paciente. Un biomarcador pronóstico es indicativo de la supervivencia del paciente independientemente del tratamiento recibido pues indica el comportamiento innato del tumor.

Los biomarcadores predictivos incluyen el oncogén de fusión ALK, reordenamientos del gen ROS1, mutaciones sensibilizadoras del gen del receptor del factor de crecimiento epidérmico(EGFR), mutaciones puntuales en BRAF, V600E y expresión PD-L1.

Las deleciones del exón 19 de EGFR o mutaciones del exón 21 L858R predicen beneficio del tratamiento con inhibidor de la tirosina quinasa de EGFR (EGFR-TKI) (por ejemplo, erlotinib); por lo tanto, estas mutaciones se denominan mutaciones de EGFR sensibilizadoras y no parecen ser pronósticas de supervivencia independientemente de terapia.

Los oncogenes de fusión ALK (es decir, reordenamientos del gen ALK) y los reordenamientos ROS1 son biomarcadores predictivos de beneficio de la terapia dirigida, como crizotinib o ceritinib.

Las alteraciones genéticas de EGFR, KRAS, ROS1 y ALK generalmente no se sobreponen; por lo tanto, las pruebas para KRAS pueden identificar pacientes que no se beneficiarán de pruebas adicionales.

KRAS es un biomarcador pronóstico indicador de mala supervivencia y se relaciona con mala respuesta a la terapia con TKI. La terapia EGFR TKI no es efectiva en pacientes con mutaciones KRAS, BRAF V600E, ALK , o reordenamientos ROS1.

MUTACIONES EGFR

En pacientes con NSCLC, las mutaciones del gen EGFR más frecuentes son las deleciones en el exón 19 (45% de los pacientes con mutaciones del EGFR) y una mutación puntual en el exón 21 (L858R en el 40%). Ambas mutaciones activan el dominio tirosin quinasa, y se asocian con sensibilidad a la molécula pequeña EGFR TKIs, como erlotinib, gefitinib, afatinib, osimertinib y dacomitinib. Otras mutaciones menos comunes (10%) que también son sensibles a TKI incluyen las inserciones del exón 19 (p.L861Q, p.G719X y p.S768I). Las mutaciones de EGFR se encuentran en aproximadamente 10% de los pacientes caucásicos con NSCLC y hasta el 50% de los pacientes asiáticos. Estudios sugieren que los pacientes sin mutaciones de EGFR no deben tratarse con EGFR TKI en ninguna línea de terapia.

Aunque la mayoría de los pacientes con mutaciones de EGFR sensibilizantes son no fumadores o son ex fumadores ligeros, los protocolos internacionales indican que no debe seleccionarse a los pacientes para su búsqueda en base a ello. Sólo no se recomienda su realización en

pacientes con carcinoma de células escamosas puras, a menos que nunca hayan fumado, si solo se usó una pequeña muestra de biopsia para evaluar la histología, o si la histología es mixta.

Los pacientes con inserción del exón 20 de EGFR suelen ser resistentes a los TKI.

La mayoría de los pacientes con mutaciones de EGFR sensibilizantes se vuelven resistentes a erlotinib, gefitinib o afatinib; la supervivencia libre de progresión (SLP) es de aproximadamente 9.7 a 13 meses. EGFR p.Thr790Met (T790M) está asociada con resistencia al tratamiento con EGFR TKI y se ha demostrado en aproximadamente el 60% de los pacientes con progresión de la enfermedad después de respuesta inicial a erlotinib, gefitinib o afatinib. La resistencia adquirida también puede asociarse con la transformación histológica de NSCLC a SCLC y con la transición epitelial a mesenquimática o puede estar mediada por otros eventos moleculares, como la adquisición de reordenación ALK, MET o amplificación ERBB2.

La terapia con EGFR TKI se debe usar como primera línea en pacientes con CPNM avanzado y con mutaciones de sensibilización de EGFR documentadas. La SLP mejora con el uso de EGFR TKI en comparación con la terapia sistémica citotóxica, aunque la supervivencia general no es estadísticamente diferente. Los pacientes que reciben erlotinib tienen menos efectos secundarios graves y muertes relacionadas a comparación los que reciben quimioterapia.

HUESO Y METASTASIS

El hueso está compuesto de cristales de hidroxiapatita (HA) asociados con fibras de colágeno, dichos cristales se producen y reabsorben continuamente durante la remodelación ósea.²

El hueso compacto está compuesto por 9% agua, 11% matriz orgánica y 69% sales inorgánicas. La matriz orgánica es una sustancia no colágena o molida (10%) y fibras de colágeno (90%) mientras la matriz no colágena está formada por múltiples sustancias, incluyendo mucopolisacáridos, glicoproteínas, fosfoproteínas y fosfolípidos. Sirve como agente de nucleación e inhibidor de la mineralización y como un "pegamento" que ocupa el espacio entre las fibras de colágeno. Las fibras de colágeno dan al hueso su resistencia a la tracción y proporcionan centros de nucleación para la deposición de sales inorgánicas que le dan al hueso su resistencia a la compresión. Las principales sales inorgánicas en el hueso son el fosfato de calcio amorfo (ACP) y HA. Se cree que la ACP es precursor de la HA, la forma cristalina predominante encontrada en el hueso maduro.²

El hueso es la metástasis a distancia más frecuente del NSCLC, desarrollándose en 30 a 40% de los casos.^{2,3,4} Sin embargo, se considera que el entorno óseo está pobremente diferenciado, lo que podría sugerir resistencia al asentamiento de células extrañas.

Los sitios más comunes de metástasis incluyen la columna vertebral, pelvis, costillas, fémur e ilion. Es probable que la vascularización extensa de estos huesos este relacionada pues los expone a un mayor contacto con las células cancerosas que viajan por la luz vascular. Se ha observado un pronóstico significativamente peor en pacientes con metástasis óseas en esqueleto apendicular en comparación con los pacientes con metástasis axiales.^{2,3}

METÁSTASIS Y EGFR

Estudios han resumido que las metástasis óseas y los eventos relacionados con el esqueleto (Skeletal related events- SRE) se observan predominantemente en hombres, grandes fumadores, pacientes con histologías distintas de adenocarcinoma y sin tratamiento con inhibidores de EGFR TKI.

La presencia de metástasis óseas al momento del diagnóstico sugiere progresión más rápida de la enfermedad y peor supervivencia^{2,3}. Bittner et al investigaron la correlación entre la prevalencia de metástasis óseas y el estado de mutación del EGFR, así como tiempo de supervivencia de los pacientes tratados con quimioterapia citotóxica y EGFR TKI con metástasis óseas. Sus datos confirmaron que el tratamiento con inhibidores de EGFR TKI proporciona un beneficio en supervivencia aún en caso de metástasis óseas en pacientes con mutaciones EGFR o KRAS de tipo salvaje.²

Los inhibidores de EGFR TK pueden convertir las metástasis osteolíticas en osteoblásticas, lo cual disminuye el riesgo de SRE y aumenta la calidad de vida. En ausencia de mutaciones de EGFR y tratamiento sin inhibidores de EGFR TKI, la prevalencia de SRE es significativamente mayor, por lo que la presencia de metástasis óseas constituye un factor predictivo.

Nagata observó que en pacientes con mutación EGFR positiva la incidencia de lesiones osteoblásticas es mucho mayor que la de osteolíticas.

Krawczyk et al. analizaron tejido tumoral de 431 muestras de adenocarcinoma primario, 61 de metástasis del sistema nervioso central (SNC) y 8 de metástasis óseas, la incidencia de mutaciones de EGFR fue de 75% en las metástasis óseas, 12.8% en el primario, y 14.75% en las metástasis de SNC.⁸

Su elevado índice de mutaciones en EGFR en las metástasis óseas podría deberse a la selección de pacientes candidatos a terapia con TKIs y su pequeña muestra o podría ser indicativo de que la presencia de mutaciones en EGFR favorece la aparición de metástasis a distancia en hueso y otros sitios, como cerebro.

MEDICINA NUCLEAR EN LA ESTADIFICACIÓN: GAMMAGRAFIA OSEA

La gammagrafía ósea es una técnica sensible que puede detectar cambios metabólicos significativos tempranamente, a menudo semanas o incluso meses antes de que se hagan evidentes en las imágenes radiológicas convencionales. Además, la técnica proporciona una visión general de todo el esqueleto a coste de una exposición a radiación modesta.⁴

Las indicaciones para la gammagrafía ósea son numerosas y generalmente se pueden clasificar en tres escenarios clínicos:

1. Presencia o sospecha de una enfermedad ósea específica.
2. Explorar síntomas inexplicables.
3. Evaluación metabólica previa al inicio de terapia.

Si bien la sensibilidad diagnóstica de la gammagrafía ósea es muy alta, su baja especificidad implica que a menudo requiera investigación adicional con otras modalidades de imagen (radiografía simple, tomografía computarizada o resonancia magnética) o estudios de medicina nuclear (PET/CT con FDG). Por este motivo, la imagen anatómica y la gammagrafía ósea deben considerarse métodos complementarios, sin que ninguno pueda ser reemplazado por el otro.⁴

Antecedentes

El uso de la pintura de radio auto luminiscente en las carátulas de los relojes comenzó en 1908, después de descubrir que las partículas alfa al golpear sulfuro de zinc producen luminiscencia. El primer indicio de que el material radioactivo se localizaba en el hueso ocurrió en 1924, cuando un pintor de radio presentó grave osteonecrosis de la mandíbula y maxilar. Le siguieron múltiples informes de "mandíbula de radio", causada por acumulación del isótopo en hueso después de inhalación crónica de gas radón, (producto del decaimiento del radio), y la ingestión de pintura de radio por lamedura de la punta del pincel.

Se han usado múltiples radionúclidos para estudiar el hueso, pero pocos de tenían propiedades físicas deseables para la obtención de imágenes. El uso más temprano de radionúclidos en hueso inició para tratamiento de enfermedades óseas y lesiones metastásicas con ^{32}P , ^{45}Ca , ^{47}Ca , ^{89}Sr y ^{72}Ga . En 1949, ^{72}Ga fue uno de los primeros radionúclidos utilizados para detectar metástasis óseas, pero resultó inaceptable debido a su alta energía gamma de 2.5 MeV. Las investigaciones cambiaron a ^{68}Ga y luego a ^{67}Ga a principios de 1950, pero el hallazgo fortuito de Edwards y Hayes en 1969 sobre la acumulación del Galio libre en tumores de tejidos blandos terminó su potencial como agente de imagen ósea.⁴

El verdadero comienzo de la gammagrafía ósea ocurrió en 1961 en el Centro Médico Einstein en Filadelfia comenzaron a hacer exploraciones con ^{85}Sr para localizar metástasis óseas previas a radioterapia. Se seleccionó estroncio debido a que su metabolismo simula el del calcio, y su emisión gamma se puede medir por detección externa. Además, las metástasis óseas eran evidentes con el radiotrazador antes que en el examen de rayos X. Según un estudio en 1961 los cambios radiográficos se demostraron en solo el 56% de pacientes con cáncer de mama que habían mostrado una captación vertebral anormal con ^{85}Sr , en ese informe se referenció un estudio francés de 1948 el cual reportó que una lesión ósea debe descalcificarse entre un 30% y un 50% para ser visible en rayos X.

La vida media física del ^{85}Sr limitó la dosis para adultos a 100 μCi (3.7 MBq), lo que resultaba en tiempos de exploración prolongados y conteos deficientes. Aunque la tasa de captación ósea es rápida (90% en 1 hora) su excreción lenta requería al menos una demora de 2 días antes del estudio para mejorar la relación hueso-fondo. En 1964, MeckelInburg introdujo el citrato de estroncio $^{87\text{m}}\text{Sr}$ con vida media física de 2.8 horas y decaimiento por transición isomérica que disminuyeron significativamente las dosis de radiación; favoreciendo su uso en niños. Pese a esto, su corta vida media requería exploraciones óseas antes de una excreción adecuada, lo que aumentaba el riesgo de falsos positivos y falsos negativos.²

En 1962, Blau et al. introdujeron el ^{18}F con fluoruro de sodio para la exploración ósea. Su principal ventaja fue la alta relación hueso-fondo un rápido aclaramiento sanguíneo. Sin embargo, la vida media física de 1.8 horas del ^{18}F requiere que el paciente esté cerca de su sitio de producción.

Basándose en el hallazgo de que el polifosfato con ^{32}P se localiza en la fase mineral del hueso, Subramanian y McAfee prepararon un $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -tri polifosfato de cloruro estañoso ($^{99\text{m}}\text{Tc}$ -STPP) que se localiza en hueso. Esta contribución clave permitía el uso de las propiedades deseables del $^{99\text{m}}\text{Tc}$ para estudiar el esqueleto.²

Las moléculas más comúnmente utilizadas para realizar la gammagrafía ósea son los bifosfonatos: metilen difosfonato (MDP), difosfonato de hidroximetileno (HMDP) o difosfonato de hidroxietileno (HDP), y 2,3-dicarboxipropano-1,1-difosfonato (DPD).

Los bifosfonatos radiomarcados inyectados se adsorben a la superficie de los cristales de hidroxiapatita de forma proporcional a la vascularización ósea local y actividad osteoblástica. La acumulación máxima de hueso se alcanza 1 h después de la inyección del marcador y permanece prácticamente constante hasta por 72 h.

Después de la administración intravenosa, el aclaramiento plasmático es biexponencial y es una función de la captación esquelética y la eliminación urinaria. Cuatro horas después de la inyección, aproximadamente 50-60% de la cantidad inyectada se encuentra fija en el esqueleto mientras la fracción no unida (34%) se excreta en la orina, la eliminación a través del tracto gastrointestinal es insignificante y solo 6% permanece en la circulación.

A menos que se contraindique por otras morbilidades, los pacientes deben estar bien hidratados y se les debe indicar que beban al menos un litro de agua entre la inyección y la toma de imágenes y que deberán beber gran cantidad de líquidos durante las siguientes 24 horas. Se debe pedir a todos los pacientes que orinen con frecuencia en este periodo, así como inmediatamente antes de la adquisición de las imágenes. En pacientes en terapia de reemplazo renal, se realiza hemodiálisis de 15 minutos a 5 horas después de la inyección del radiofármaco para disminuir la acumulación en sangre y tejidos blandos a niveles casi normales.

Para la gammagrafía ósea en adultos, la actividad promedio administrada por una sola inyección intravenosa debe ser de 500 MBq, siendo aceptables entre 300 - 740 MBq (8 - 20 mCi). Esto significa entre 8 y 10 MBq / kg de peso, pero la actividad administrada puede incrementarse en pacientes obesos hasta 11 - 13 MBq / kg.

INTERPRETACIÓN

El sistema renal y el tracto urinario se visualizan normalmente, así como algo de captación difusa o focal del trazador en los tejidos blandos. Un aumento difuso en tejidos blandos puede ser causado por interacciones farmacológicas, marcaje deficiente de ^{99m}Tc , osteoporosis grave, insuficiencia renal, deshidratación o un intervalo demasiado corto entre la inyección del radiotrazador y la adquisición de la imagen. Por el contrario, una captación baja o ausente en los tejidos blandos puede ser causada por una avidéz excesiva de los osteoblastos lo que da lugar al llamado "superscan" o deberse a un intervalo excesivamente largo entre la inyección del trazador y la imagen.

La captación esquelética aumentada puede evaluarse objetivamente en comparación con el hueso contralateral o tejidos blandos e indica un aumento de la actividad osteoblástica. Algunas lesiones osteolíticas aparecen como una región de hipocaptación de trazador ya sea rodeada por un borde de mayor intensidad del trazador o a la inversa, con una apariencia en sacabocado. Algunas lesiones óseas puras o predominantemente líticas son apenas visibles en la gammagrafía ósea plana cuando son pequeñas ($<2\text{ cm}$)⁶ lo que confiere a la gammagrafía ósea baja sensibilidad para lesiones puramente líticas.

El diagnóstico diferencial se basa en la configuración, ubicación y número de anomalías, aunque la mayoría de los patrones no son específicos. Las metástasis óseas se visualizan como múltiples lesiones distribuidas aleatoriamente, de las cuales aproximadamente 80% ocurren en esqueleto axial ya que usualmente siguen la distribución de la médula ósea roja (activa). Cualquier enfermedad con diseminación hematógena puede potencialmente presentarse con esta distribución pero las metástasis constituyen la causa más frecuente, en especial si la neoplasia primaria es próstata o mama.⁵

Mientras que las radiografías pueden detectar lesiones esqueléticas cuando el recambio óseo llega a 50% los gammagramas detectan cambios desde 5%, dando al estudio una sensibilidad de 80-100% dependiendo del sitio de la lesión y primario involucrado.⁶ Una vez visualizadas en la gammagrafía ósea, puede tomar varios meses que las lesiones se normalicen, reflejando el curso prolongado de la curación ósea. Por lo tanto, rara vez es útil repetir un examen en 4 o 6 meses. En oncología, la disminución de la intensidad de la captación del radiofármaco y del número de anomalías suele indicar mejoría o puede ser secundaria a terapia focal (por ejemplo, radioterapia) mientras aumento en la intensidad o el número de focos de mayor captación en estudios con menos de 6 meses de diferencia puede representar la progresión de la enfermedad, pero también puede estar asociado con un fenómeno de llamarada.⁴

La dosis efectiva para un adulto es de 3 a 4 mSv y en niños de 2,5 mSv sin tomar en cuenta la dosis adicional de la tomografía computarizada. La dosis efectiva de la CT depende en gran medida de la máquina utilizada: para una exploración diagnóstica de las caderas y la columna vertebral, la dosis efectiva puede oscilar entre 4 y 10 mSv. Los valores de miliamperios-segundo mucho más bajos utilizados para la TC de corrección de atenuación dan como resultado dosis máximas efectivas de 3 mSv. Las dosis efectivas para ambos tipos de tomografías computarizadas en las extremidades son todas menores de 0.1 mSv.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El cáncer de pulmón es la principal causa de muerte por cáncer en Estados Unidos y el segundo en incidencia, solo detrás del melanoma.¹ Se estima que en 2019 se diagnosticarán 228,150 nuevos pacientes (116,440 hombres y 111,710 mujeres) y 142,670 personas fallecerán por esta causa. Solo 18% de los pacientes con cáncer de pulmón tienen una supervivencia de cinco o más años.¹

En México, los tumores malignos de los órganos respiratorios e intratorácicos son responsables de cinco fallecimientos por cada 100 000 hombres de 30 a 59 años según estadísticas hasta 2016, representando la segunda causa de muerte por cáncer para esta población y la tercera en mayores de 60 años.²

La presencia de metástasis óseas al momento del diagnóstico significa una progresión más rápida de la enfermedad, y su presencia se relaciona con menor sobrevida.^{1,3}

Diversos estudios demuestran que los pacientes con NSCLC y mutaciones de EGFR sensibles tienen una respuesta significativamente mejor a erlotinib, gefitinib, afatinib, osimertinib o dacomitinib. La falta de respuesta a la terapia con EGFR TKI, en cambio, se asocia con mutaciones KRAS y BRAF y reordenamientos genéticos ALK o ROS1.

En pacientes con mutaciones de EGFR sensibilizantes la supervivencia libre de progresión (SLP) es de aproximadamente 9.7 a 13 meses y es mejor que la SLP con terapia sistémica citotóxica, aunque la supervivencia general no es estadísticamente diferente, además los pacientes que reciben erlotinib tienen menos efectos secundarios graves y muertes a comparación los que reciben quimioterapia.

Las radiografías pueden detectar lesiones esqueléticas cuando el recambio óseo llega a 50%, mientras los gammagramas detectan cambios desde 5%, dando al estudio una sensibilidad de 80-100% dependiendo del sitio de la lesión y primario involucrado.⁶

JUSTIFICACIÓN

El cáncer de pulmón es la principal causa de muerte por cáncer en el mundo, siendo el adenocarcinoma la histología más frecuente y la presencia de metástasis óseas es indicador de mal pronóstico.

Los protocolos internacionales actuales recomiendan la realización de estudios de diagnóstico molecular a todos los pacientes con adenocarcinoma pulmonar confirmado con la finalidad de determinar si existen alteraciones genéticas como mutaciones en el receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR) que permitan el uso de terapias dirigidas. El tratamiento con inhibidores de la tirosin quinasa de EGFR (EGFR-TKI) ha demostrado mejoría en la supervivencia global comparada con pacientes quienes reciben quimioterapia.

Búsquedas en bases de datos revelaron pocos estudios que demuestren si la presencia de mutaciones EGFR representa un factor protector o de riesgo para la presencia de metástasis óseas y ninguno de éstos se realizó en población mexicana.

PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Existe asociación entre la presencia y/o ausencia de metástasis óseas por gammagrafía ósea SPECT/CT y el estatus de mutación de EGFR en pacientes con adenocarcinoma pulmonar?

OBJETIVO GENERAL

Determinar si existe una relación significativa entre la presencia de metástasis óseas por gammagrafía ósea SPECT/CT y el estado de mutaciones en EGFR sensibilizantes en pacientes con diagnóstico reciente de adenocarcinoma pulmonar.

OBJETIVOS PARTICULARES

Determinar la frecuencia y localización de metástasis óseas (esqueleto axial, apendicular o ambos) en la población de estudio.

Determinar la frecuencia y tipo de mutaciones de EGFR en la población estudiada.

HIPÓTESIS

El estado de mutaciones EGFR sensibilizadoras (presencia o ausencia) no tendrán correlación con la incidencia de metástasis óseas al momento del diagnóstico.

MATERIALES Y MÉTODOS

DISEÑO

Estudio retrospectivo

TAMAÑO DE LA MUESTRA

A conveniencia

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se analizaron todos los expedientes físicos del servicio de Medicina Nuclear e Imagen Molecular de los años 2017 y 2018 en búsqueda de gammagramas óseos SPECT/CT realizados por primera vez a pacientes con diagnóstico de adenocarcinoma pulmonar reciente entre el 1° de enero de 2017 y el 1° de enero de 2019.

Posteriormente se buscaron los reportes de las biopsias y estudios de mutaciones en EGFR de estos pacientes en el servicio de Patología Clínica.

Se capturaron los datos obtenidos en el programa SPSS (versión 20.0) para su análisis dividiendo a los pacientes en 4 grupos: pacientes con metástasis óseas al diagnóstico, pacientes sin metástasis óseas al diagnóstico, pacientes con mutaciones en EGFR, pacientes sin mutaciones en EGFR para la búsqueda de relaciones estadísticamente significativas entre éstos grupos.

La investigación, al ser retrospectiva y no implicar ningún nuevo estudio ni procedimiento no conlleva ningún riesgo adicional a los pacientes. Adicionalmente, no se incluyeron nombres, fechas de nacimiento ni números de expediente en los resultados para conservar la anonimidad de los participantes.

RECURSOS

Todos los gammagramas óseos se realizaron en un equipo SIEMENS Symbia T2 híbrido de dos detectores y CT de dos cortes del servicio de Medicina Nuclear e Imagen Molecular del Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias "Ismael Cosío Villegas".

La búsqueda de mutaciones se realizó en el equipo IDYLLA en el servicio de Patología Clínica del mismo centro.

UNIVERSO

CRITERIOS DE INCLUSIÓN

- Gammagramas óseos SPECT/CT realizados por primera vez entre 2017 y 2018 en nuestro servicio.
- Pacientes enviados con diagnóstico de adenocarcinoma pulmonar confirmado dentro de los 6 meses previos a la gammagrafía ósea o tumoración pulmonar en estudio.

CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

- Menores de 18 años
- Gammagramas óseos de repetición.
- Diagnóstico de adenocarcinoma pulmonar mayor a 6 meses.
- Histología distinta a adenocarcinoma primario pulmonar.
- Gammagramas óseos no SPECT/CT (rastros de cuerpo entero o SPECT sin corrección de atenuación por tomografía computada).

CRITERIOS DE ELIMINACIÓN

- Pacientes sin registro en base de datos de biopsias del servicio de Patología clínica.
- Pacientes sin búsqueda de mutaciones en EGFR.

RESULTADOS

En el periodo comprendido entre el 1° de enero del 2017 y el 1° de enero del 2019 se realizaron 555 gammagramas óseos en el servicio de Medicina Nuclear por adenocarcinoma pulmonar o tumoración pulmonar en estudio. 95 fueron excluidos por tratarse de gammagrafías de seguimiento o de diagnósticos no recientes (más de 6 meses) y 15 por contar con gammagrafía planar en lugar de SPECT/CT.

De estos 445 gammagramas, 190 pacientes tuvieron histopatologías distintas a adenocarcinoma pulmonar y de los 255 restantes en 78 no se encontró el análisis de mutaciones en IDYLLA, dejando un tamaño de muestra de 177 pacientes.

Tabla 1. Características demográficas y clínicas	
Característica	N=177 (100%)
Género	
Hombre	71 (40%)
Mujer	106 (60%)
Edad (años)	64
Rango	23-90
≥60 años	110 (62%)
<60 años	67 (38%)
Año de realización del gammagrama óseo	
2017	89 (50.2%)
2018	88 (49.7%)

Tabla 2. Frecuencia de metástasis óseas 1		
	Frecuencia	Porcentaje
Si	83	46.9%
No	94	53.1%
Total	177	100.0%

Tabla 2. Frecuencia de metástasis óseas 2		
	Frequency	Percent
Metástasis en esqueleto axial	27	32.5%
Metástasis en esqueleto apendicular	4	4.8%
Metástasis en esqueleto axial y apendicular	52	62.6%
Total	83	100.0%

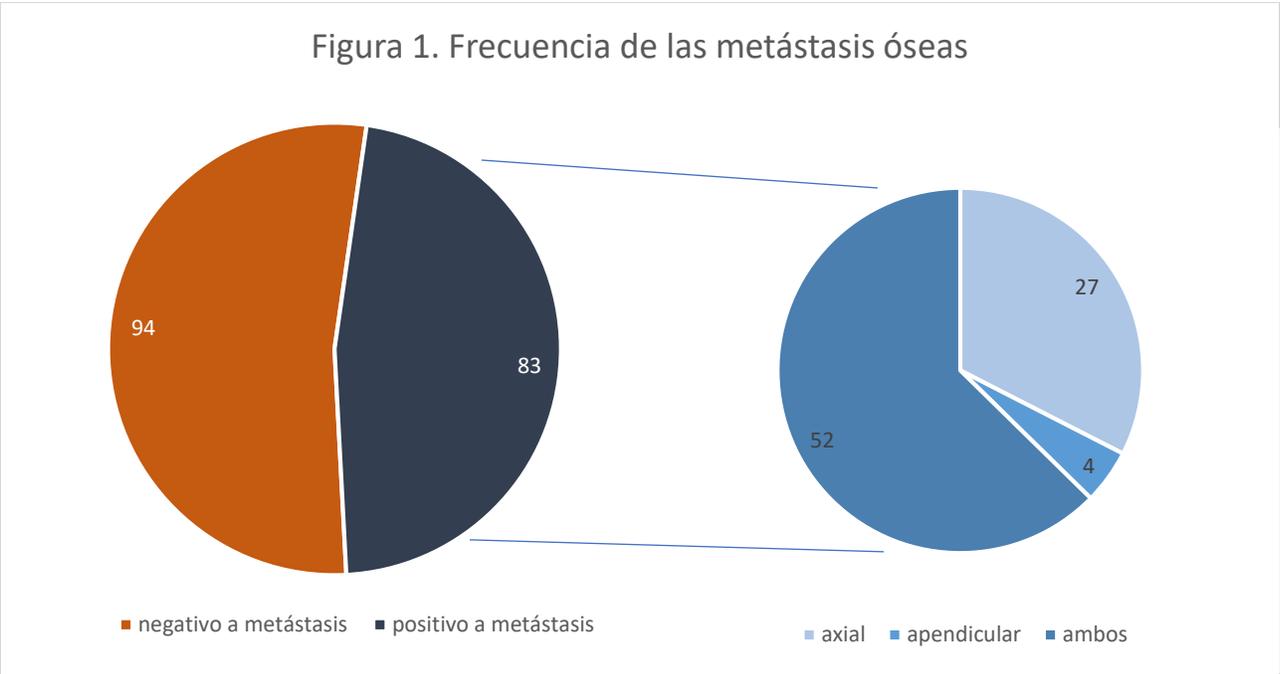


Tabla 4. Frecuencia de mutaciones en EGFR 1		
	Frecuencia	Porcentaje
Si	70	39.5%
No	107	60.5%
Total	177	100.0%

Tabla 5. Frecuencia de mutaciones en EGFR 2		
Mutación en EGFR	Frecuencia	Porcentaje
Delección del axon 19	37	52.8%
L858R	25	35.7%
G719A/C/S	3	4.2%
L861Q	3	4.2%
S768I	1	1.4%
861Q	1	1.4%
Total	70	100%

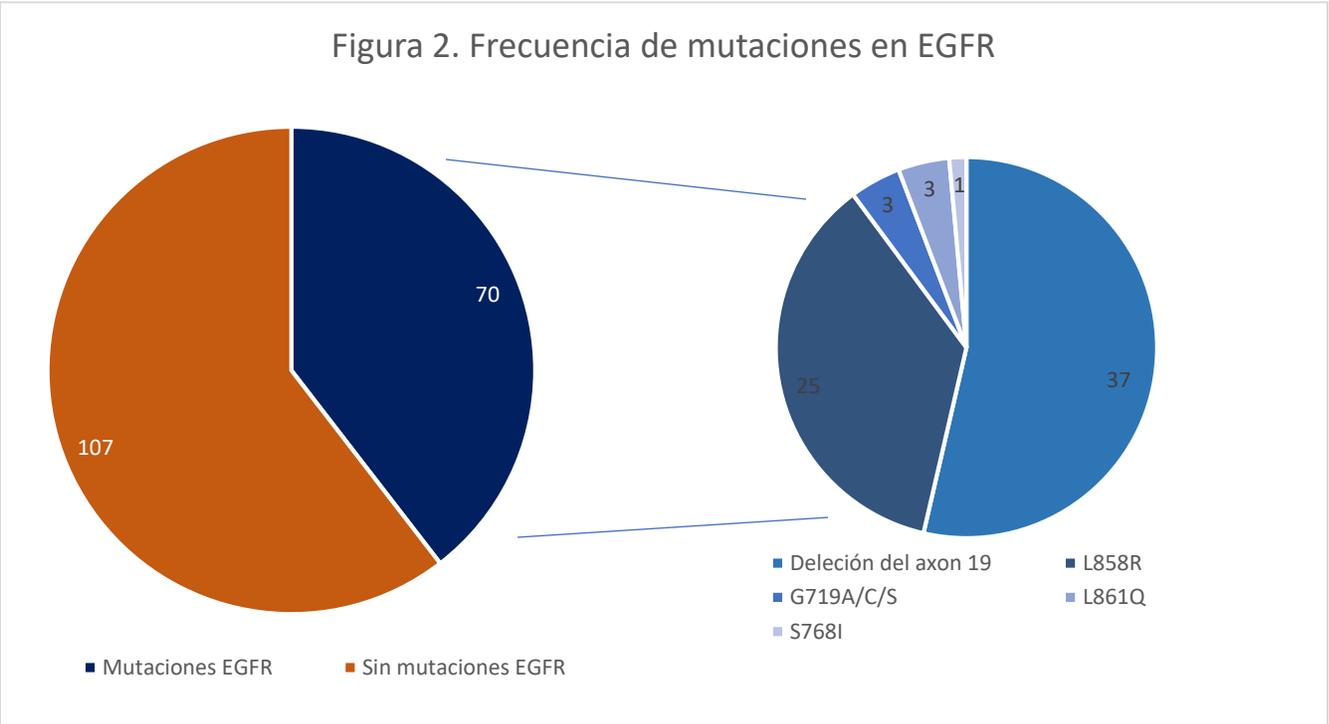


Tabla 6. Relación Metástasis – mutaciones EGFR 1				
		Metástasis_óseas		Total
		Si	No	
Mutaciones	S Cuenta	41	29	70
	% con Mutaciones EGFR	58.6%	41.4%	100.0%
	% Metastasis_óseas	49.4%	30.9%	39.5%
	% del Total	23.2%	16.4%	39.5%
	N Cuenta	42	65	107
	% sin Mutaciones EGFR	39.3%	60.7%	100.0%
	% Metástasis_óseas	50.6%	69.1%	60.5%
	% del Total	23.7%	36.7%	60.5%
Total	Count	83	94	177
	% con Mutaciones EGFR	46.9%	53.1%	100.0%
	% con Metástasis_óseas	100.0%	100.0%	100.0%
	% del Total	46.9%	53.1%	100.0%

Tabla 7. Estimación de riesgos			
	Valor	95% Intervalo confianza	
		Inferior	Superior
Odds Ratio para Mutaciones EGFR (Si / No)	2.188	1.184	4.042
Para cohorte Metástasis óseas = Si	1.492	1.097	2.029
Para cohorte Metastasis óseas = No	.682	.496	.937
N Casos válidos	177		

Tabla 8. Chi cuadrada de tabla 6					
	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	6.342	1	.012		
Continuity Correction	5.590	1	.018		
Likelihood Ratio	6.366	1	.012		
Fisher's Exact Test				.014	.009

Linear-by-Linear Association	6.306	1	.012		
N of Valid Cases	177				

Tabla 9. Relación Metástasis – mutaciones EGFR 2							
			EGFR				Total
			Sin mutación	Delección del exón 19	Mutación L858R	Otras mutaciones	
Oseo	Negativo	Count	65	16	10	3	94
		% within Oseo	69.1%	17.0%	10.6%	3.2%	100.0%
		% within EGFR	60.7%	43.2%	40.0%	37.5%	53.1%
		% of Total	36.7%	9.0%	5.6%	1.7%	53.1%
	Metástasis Axial	Count	13	7	4	3	27
		% within Oseo	48.1%	25.9%	14.8%	11.1%	100.0%
		% within EGFR	12.1%	18.9%	16.0%	37.5%	15.3%
		% of Total	7.3%	4.0%	2.3%	1.7%	15.3%
	Metástasis apendicular	Count	3	1	0	0	4
		% within Oseo	75.0%	25.0%	0.0%	0.0%	100.0%
		% within EGFR	2.8%	2.7%	0.0%	0.0%	2.3%
		% of Total	1.7%	.6%	0.0%	0.0%	2.3%
Ambos esqueletos	Count	26	13	11	2	52	
	% within Oseo	50.0%	25.0%	21.2%	3.8%	100.0%	
	% within EGFR	24.3%	35.1%	44.0%	25.0%	29.4%	
	% of Total	14.7%	7.3%	6.2%	1.1%	29.4%	
Total	Count	107	37	25	8	177	
	% within Oseo	60.5%	20.9%	14.1%	4.5%	100.0%	
	% within EGFR	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	
	% of Total	60.5%	20.9%	14.1%	4.5%	100.0%	

Tabla 10. Chi cuadrada de tabla 9			
	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)
Pearson Chi-Square	10.782	9	.291
Likelihood Ratio	10.692	9	.297

Linear-by-Linear Association	3.536	1	.060
N of Valid Cases	177		

Tabla 11. Relación Metástasis – mutaciones EGFR por género							
Género				Metástasis óseas		Total	
				Si	No		
Masculino	Mutaciones	Si	Count	16	5	21	
			% within Mutaciones	76.2%	23.8%	100.0%	
			% within Metastasis ósea	48.5%	13.2%	29.6%	
		% of Total	22.5%	7.0%	29.6%		
		No	Count	17	33	50	
			% within Mutaciones	34.0%	66.0%	100.0%	
	% within Metastasis_osea		51.5%	86.8%	70.4%		
	Total	Count	Count	33	38	71	
			% within Mutaciones	46.5%	53.5%	100.0%	
			% within Metastasis_osea	100.0%	100.0%	100.0%	
		% of Total		46.5%	53.5%	100.0%	
			Femenino	Mutaciones	Count	25	24
% within Mutaciones					51.0%	49.0%	100.0%
% within Metastasis_osea	50.0%	42.9%			46.2%		
% of Total	23.6%	22.6%		46.2%			
No	Count	25		32	57		
	% within Mutaciones	43.9%		56.1%	100.0%		
	% within Metastasis_osea	50.0%	57.1%	53.8%			
% of Total	23.6%	30.2%	53.8%				
Total	Count	Count	50	56	106		
		% within Mutaciones	47.2%	52.8%	100.0%		
		% within Metastasis_osea	100.0%	100.0%	100.0%		
	% of Total		47.2%	52.8%	100.0%		
		Total	Si	Count	41	29	70

		% within Mutaciones	58.6%	41.4%	100.0%
		% within Metastasis_osea	49.4%	30.9%	39.5%
		% of Total	23.2%	16.4%	39.5%
Mutaciones	No	Count	42	65	107
		% within Mutaciones	39.3%	60.7%	100.0%
		% within Metastasis_osea	50.6%	69.1%	60.5%
		% of Total	23.7%	36.7%	60.5%
Total		Count	83	94	177
		% within Mutaciones	46.9%	53.1%	100.0%
		% within Metastasis_osea	100.0%	100.0%	100.0%
		% of Total	46.9%	53.1%	100.0%

Tabla 12. Chi cuadrada de tabla 11

genero		Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Masculino	Pearson Chi-Square	10.582	1	.001		
	Continuity Correction	8.954	1	.003		
	Likelihood Ratio	10.918	1	.001		
	Fisher's Exact Test				.002	.001
	Linear-by-Linear Association	10.433	1	.001		
	N of Valid Cases	71				
Femenino	Pearson Chi-Square	.542	1	.462		
	Continuity Correction	.293	1	.588		
	Likelihood Ratio	.542	1	.461		
	Fisher's Exact Test				.559	.294
	Linear-by-Linear Association	.537	1	.464		
	N of Valid Cases	106				
Total	Pearson Chi-Square	6.342	1	.012		
	Continuity Correction	5.590	1	.018		
	Likelihood Ratio	6.366	1	.012		
	Fisher's Exact Test				.014	.009
	Linear-by-Linear Association	6.306	1	.012		
	N of Valid Cases	177				

Tabla 13. Relación Metástasis – mutaciones EGFR por edad

Tabla 13. Relación Metástasis – mutaciones EGFR por edad							
EDAD				Metastasis óseas		Total	
				Si	No		
≥ 60 años	Mutaciones	Si	Count	25	17	42	
			% within Mutaciones	59.5%	40.5%	100.0%	
			% within Metastasis_osea	49.0%	28.8%	38.2%	
			% of Total	22.7%	15.5%	38.2%	
		No	Count	26	42	68	
			% within Mutaciones	38.2%	61.8%	100.0%	
			% within Metastasis_osea	51.0%	71.2%	61.8%	
			% of Total	23.6%	38.2%	61.8%	
	Total	Count	51	59	110		
		% within Mutaciones	46.4%	53.6%	100.0%		
		% within Metastasis_osea	100.0%	100.0%	100.0%		
		% of Total	46.4%	53.6%	100.0%		
	< 60 años	Mutaciones	Si	Count	16	12	28
				% within Mutaciones	57.1%	42.9%	100.0%
% within Metastasis_osea				50.0%	34.3%	41.8%	
% of Total				23.9%	17.9%	41.8%	
No			Count	16	23	39	
			% within Mutaciones	41.0%	59.0%	100.0%	
			% within Metastasis_osea	50.0%	65.7%	58.2%	
			% of Total	23.9%	34.3%	58.2%	
Total		Count	32	35	67		
		% within Mutaciones	47.8%	52.2%	100.0%		
		% within Metastasis_osea	100.0%	100.0%	100.0%		
		% of Total	47.8%	52.2%	100.0%		
Total		Mutaciones	Si	Count	41	29	70
				% within Mutaciones	58.6%	41.4%	100.0%

		% within Metastasis_osea	49.4%	30.9%	39.5%
		% of Total	23.2%	16.4%	39.5%
	No	Count	42	65	107
		% within Mutaciones	39.3%	60.7%	100.0%
		% within Metastasis_osea	50.6%	69.1%	60.5%
		% of Total	23.7%	36.7%	60.5%
	Total	Count	83	94	177
		% within Mutaciones	46.9%	53.1%	100.0%
		% within Metastasis_osea	100.0%	100.0%	100.0%
		% of Total	46.9%	53.1%	100.0%

Tabla 12. Chi cuadrada de tabla 11

edad60		Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
60 o más	Pearson Chi-Square	4.732	1	.030		
	Continuity Correction	3.914	1	.048		
	Likelihood Ratio	4.751	1	.029		
	Fisher's Exact Test				.033	.024
	Linear-by-Linear Association	4.689	1	.030		
	N of Valid Cases	110				
Menor a 60	Pearson Chi-Square	1.697	1	.193		
	Continuity Correction	1.112	1	.292		
	Likelihood Ratio	1.702	1	.192		
	Fisher's Exact Test				.223	.146
	Linear-by-Linear Association	1.672	1	.196		
	N of Valid Cases	67				
Total	Pearson Chi-Square	6.342	1	.012		
	Continuity Correction	5.590	1	.018		
	Likelihood Ratio	6.366	1	.012		
	Fisher's Exact Test				.014	.009
	Linear-by-Linear Association	6.306	1	.012		
	N of Valid Cases	177				

DISCUSIÓN

Bittner et al. en Hungría realizaron un estudio retrospectivo con 224 pacientes buscando correlaciones entre el estado de EGFR, de mutaciones KRAS, la prevalencia de metástasis óseas y la supervivencia. De 78 pacientes con metástasis óseas detectables por imagen (sin especificar el método utilizado) solo 18 presentaron mutaciones en EGFR. En este estudio mientras las mutaciones de EGFR y KRAS son factores predictivos para la eficacia del tratamiento y progresión de la enfermedad no encontraron diferencias significativas entre el estado de mutación en pacientes metastásicos.⁶

Por otro lado, Y. Togashii et al. encontraron que la mitad de los pacientes con adenocarcinomas de pulmón y mutaciones del gen EGFR presentaban también metástasis a distancia (11 de 22 pacientes), mientras que aquellos con con el gen EGFR de tipo salvaje mostraron una frecuencia mucho menor (4 de 33 pacientes). Llama la atención que la mayoría de los pacientes con mutaciones del gen EGFR en las metástasis a distancia fueron fumadores. Esta investigación sugiere que la presencia de la mutación puede ser un factor propicio para la aparición de metástasis a distancia en pacientes con NSCLC.¹⁰

Krawczyk et al. Más recientemente analizaron tejido tumoral de 431 muestras de adenocarcinoma primario, 61 de metástasis del sistema nervioso central (SNC) y 8 de metástasis óseas, la incidencia de mutaciones de EGFR fue de 75% en las metástasis óseas, 12.8% en el primario, y 14.75% en las metástasis de SNC. Su elevado índice de mutaciones en EGFR en las metástasis óseas podría deberse a la pre-selección de pacientes candidatos a terapia con TKIs y su pequeña muestra o podría ser indicativo de que la presencia de mutaciones en EGFR favorece la aparición de metástasis a distancia en hueso y otros sitios, como cerebro.⁸

Los resultados obtenidos en este estudio favorecen ésta última teoría, pues se encontró una relación significativa ($p < 0.05$) entre la presencia de mutaciones de EGFR y la presencia de metástasis óseas en pacientes masculinos y mayores de 60 años con un Odds Ratio de 2.

Estudios han resumido que las metástasis óseas y los eventos relacionados con el esqueleto (Skeletal related events- SRE) se observan más comúnmente en hombres, grandes fumadores, pacientes con histologías distintas de adenocarcinoma y sin tratamiento con inhibidores de EGFR TK.

Nagata observó que en pacientes con mutaciones de EGFR ocurren muchas más lesiones osteoblásticas que osteolíticas,³ mientras el estudio de... encontró que el tratamiento con inhibidores de EGFR TK pueden convertir las metástasis osteolíticas en osteoblásticas, lo cual disminuye el riesgo de SRE y aumenta la calidad de vida. En ausencia de mutaciones de EGFR y la subsecuente ausencia de inhibidores de EGFR TK, la prevalencia de SRE es significativamente mayor, por lo que la presencia de metástasis óseas constituye un factor predictivo.

Bittner et al confirmaron que el tratamiento con inhibidores de EGFR TK proporciona un beneficio en supervivencia aún en caso de metástasis óseas en pacientes con mutaciones EGFR o KRAS de tipo salvaje.

LIMITACIONES

El estudio no cuenta con algunas variables como antecedente de tabaquismo y sobrevida de los pacientes los cuales podrían arrojar datos sobre la relación EGFR-metástasis óseas, tampoco se cuenta con confirmación histológica de las metástasis óseas encontradas o búsqueda mutaciones EGFR en las mismas. El PET/CT con 18F-NaF ofrece una mejor sensibilidad y especificidad que el SPECT/CT con bifosfonados, pero no se cuenta con el equipo.

CONCLUSION

Este estudio favorece la teoría de que existe una relación positiva entre la presencia de mutaciones EGFR sensibilizadoras en adenocarcinoma pulmonar y la frecuencia de metástasis óseas al momento del diagnóstico en pacientes de sexo masculino mayores de 60 años.

REFERENCIAS

1. NCCN Clinical practice guidelines in oncology Non-small cell lung cancer. Version 3.2019. – January 18, 2019.
2. INEGI. Estadísticas de Mortalidad. Cubos dinámicos; y CONAPO. Proyecciones de la Población 2010-2050
https://www.inegi.org.mx/contenidos/saladeprensa/aproposito/2018/cancer2018_nal.pdf
3. Tamura, T., Kurishima, K., Nakazawa, K., Kagohashi, K., Ishikawa, H., Satoh, H., & Hizawa, N. (2014). Specific organ metastases and survival in metastatic non-small-cell lung cancer. *Molecular And Clinical Oncology*, 3(1), 217-221. doi: 10.3892/mco.2014.410.
4. Bauml, J., Mick, R., Zhang, Y., Watt, C., Vachani, A., & Aggarwal, C. et al. (2013). Determinants of Survival in Advanced Non-Small-Cell Lung Cancer in the Era of Targeted Therapies. *Clinical Lung Cancer*, 14(5), 581-591. doi: 10.1016/j.clcc.2013.05.002.
5. Kowalsky, R., & Falen, S. (2004). *Radiopharmaceuticals in nuclear pharmacy and nuclear medicine* (2nd ed., pp. 671-690). Washington, D.C.: American Pharmaceutical Association.
6. Bittner, N., Balikó, Z., Sárosi, V., László, T., Tóth, E., Kásler, M., & Géczi, L. (2015). Bone Metastases and the EGFR and KRAS Mutation Status in Lung Adenocarcinoma - The Results of Three Year Retrospective Analysis. *Pathology & Oncology Research*, 21(4), 1217-1221. doi: 10.1007/s12253-015-9955-2
7. Van den Wyngaert, T., Strobel, K., Kampen, W., Kuwert, T., van der Bruggen, W., & Mohan, H. et al. (2016). The EANM practice guidelines for bone scintigraphy. *European Journal Of Nuclear Medicine And Molecular Imaging*, 43(9), 1723-1738. doi: 10.1007/s00259-016-3415-4
8. Krawczyk, P., Nicoś, M., Ramlau, R., Powrózek, T., Wojas-Krawczyk, K., & Sura, S. et al. (2013). The Incidence of EGFR-Activating Mutations in Bone Metastases of Lung Adenocarcinoma. *Pathology & Oncology Research*, 20(1), 107-112. doi: 10.1007/s12253-013-9667-4
9. Love, C., Din, A., Tomas, M., Kalappambath, T., & Palestro, C. (2003). Radionuclide Bone Imaging: An Illustrative Review. *Radiographics*, 23(2), 341-358. doi: 10.1148/rg.232025103
10. Togashi, Y., Masago, K., Kubo, T., Sakamori, Y., Kim, Y., & Hatachi, Y. et al. (2010). Association of diffuse, random pulmonary metastases, including miliary metastases, with epidermal growth factor receptor mutations in lung adenocarcinoma. *Cancer*, 117(4), 819-825. doi: 10.1002/cncr.25618
11. Furugaki, K., Moriya, Y., Iwai, T., Yorozu, K., Yanagisawa, M., & Kondoh, K. et al. (2011). Erlotinib inhibits osteolytic bone invasion of human non-small-cell lung cancer cell line NCI-H292. *Clinical & Experimental Metastasis*, 28(7), 649-659. doi: 10.1007/s10585-011-9398-4
12. Inamura, K., & Ishikawa, Y. (2010). Lung cancer progression and metastasis from the prognostic point of view. *Clinical & Experimental Metastasis*, 27(6), 389-397. doi: 10.1007/s10585-010-9313-4
13. Erturan, S., Yaman, M., Aydın, G., Uzel, I., Müsellim, B., & Kaynak, K. (2005). The Role of Whole-Body Bone Scanning and Clinical Factors in Detecting Bone Metastases in Patients With Non-small Cell Lung Cancer. *Chest*, 127(2), 449-454. doi: 10.1378/chest.127.2.449
14. Qu, X., Huang, X., Yan, W., Wu, L., & Dai, K. (2012). A meta-analysis of 18FDG-PET-CT, 18FDG-PET, MRI and bone scintigraphy for diagnosis of bone metastases in patients with lung cancer. *European Journal Of Radiology*, 81(5), 1007-1015. doi: 10.1016/j.ejrad.2011.01.126

15. O'Sullivan, G. (2015). Imaging of bone metastasis: An update. *World Journal Of Radiology*, 7(8), 202. doi: 10.4329/wjr.v7.i8.202
16. Roengvoraphoj, M., Tsongalis, G., Dragnev, K., & Rigas, J. (2013). Epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitors as initial therapy for non-small cell lung cancer: Focus on epidermal growth factor receptor mutation testing and mutation-positive patients. *Cancer Treatment Reviews*, 39(8), 839-850. doi: 10.1016/j.ctrv.2013.05.001
17. Bing, Z., Xiaoye, A., & Yasheng, A. (2017). Study of the Relationship between EGFR Mutation Status and Bone Metastasis in Advanced Lung Adenocarcinoma. *Journal Of Thoracic Oncology*, 12(11), S2201. doi: 10.1016/j.jtho.2017.09.1445
18. Zhang, G., Cheng, R., Zhang, Z., Jiang, T., Ren, S., & Ma, Z. et al. (2017). Bisphosphonates enhance antitumor effect of EGFR-TKIs in patients with advanced EGFR mutant NSCLC and bone metastases. *Scientific Reports*, 7(1). doi: 10.1038/srep42979
19. Confavreux, C., Girard, N., Pialat, J., Bringuier, P., Devouassoux-Shisheboran, M., & Rousseau, J. et al. (2014). Mutational profiling of bone metastases from lung adenocarcinoma: results of a prospective study (POUMOS-TEC). *Bonekey Reports*, 3. doi: 10.1038/bonekey.2014.75
20. Macedo, F., Ladeira, K., Pinho, F., Saraiva, N., Bonito, N., Pinto, L., & Gonçalves, F. (2017). Bone metastases: an overview. *Oncology Reviews*, 11(1). doi: 10.4081/oncol.2017.321
21. Zhang, L., & Gong, Z. (2017). Clinical Characteristics and Prognostic Factors in Bone Metastases from Lung Cancer. *Medical Science Monitor*, 23, 4087-4094. doi: 10.12659/msm.902971
22. Lynch, T., Bell, D., Sordella, R., Gurubhagavatula, S., Okimoto, R., & Brannigan, B. et al. (2004). Activating Mutations in the Epidermal Growth Factor Receptor Underlying Responsiveness of Non-Small-Cell Lung Cancer to Gefitinib. *New England Journal Of Medicine*, 350(21), 2129-2139. doi: 10.1056/nejmoa040938
23. Reck, M., & Rabe, K. (2017). Precision Diagnosis and Treatment for Advanced Non-Small-Cell Lung Cancer. *New England Journal Of Medicine*, 377(9), 849-861. doi: 10.1056/nejmra1703413
24. Erturan, S., Yaman, M., Aydın, G., Uzel, I., Müsellim, B., & Kaynak, K. (2005). The Role of Whole-Body Bone Scanning and Clinical Factors in Detecting Bone Metastases in Patients With Non-small Cell Lung Cancer. *Chest*, 127(2), 449-454. doi: 10.1378/chest.127.2.449
25. Takenaka, D., Ohno, Y., Matsumoto, K., Aoyama, N., Onishi, Y., & Koyama, H. et al. (2009). Detection of bone metastases in non-small cell lung cancer patients: Comparison of whole-body diffusion-weighted imaging (DWI), whole-body MR imaging without and with DWI, whole-body FDG-PET/CT, and bone scintigraphy. *Journal Of Magnetic Resonance Imaging*, 30(2), 298-308. doi: 10.1002/jmri.21858