

Sobre la utilidad de la técnica de PCR para la detección de mutaciones en el gen c-kit de mastocitomas

A raíz de algunas consultas recibidas en nuestra Unidad sobre la utilidad y recomendaciones de uso de la técnica de PCR para la detección de mutaciones en el gen c-kit en mastocitomas, nos ha parecido oportuno redactar un texto que sirva de guía o ayuda en la toma de decisiones desde el punto de vista clínico.

En breve saldrá publicado un documento de consenso al respecto a cargo del denominado **Oncology-Pathology Working Group (OPWG)**¹ que puede ser de utilidad como referencia genérica. Dicho texto, aunque no representa la postura oficial del Colegio Americano de Patólogos Veterinarios ni de la Sociedad Veterinaria de Cáncer, de las cuáles deriva el grupo de especialistas OPWG, sí se puede considerar una referencia sólida. Sus conclusiones se basan en una revisión crítica de la bibliografía publicada al respecto y un posterior trabajo de consenso.

Los antecedentes

El descubrimiento de la existencia de mutaciones en el gen c-kit de algunos mastocitomas caninos data de finales de la década de los 90. Hoy sabemos que entre un **10 y un 15%** de tumores son portadores de dicha mutación, porcentaje que se incrementa hasta un **35%** si consideramos únicamente mastocitomas de alto grado histológico¹.

El **gen c-kit** codifica la proteína/receptor de membrana **KIT** que, cuando es estimulado por su sustrato correspondiente (SCF, "*stem cell factor*") se fosforila. Dicha fosforilación inicia una cadena de reacciones que, dicho de forma muy simplificada, estimulan el crecimiento y la división de las células². En el caso de las células tumorales, por tanto, favorece su desarrollo.

Los receptores "tirosina kinasa" son un amplio conjunto de proteínas (unas 58 en total), entre las cuáles se incluye KIT, que tienen en común el empleo de dicha enzima para fosforilarse y activarse.

Mientras que la forma salvaje de KIT requiere el estímulo de SCF para activarse, la forma mutada se autofosforila, de manera que permanece activada de forma **constitutiva e independiente de estímulo**. Todas las mutaciones, tanto duplicaciones como deleciones, que se han hallado hasta la fecha en los diferentes exones del gen (principalmente en el exón 11, pero también en exones 7, 8 y 9) implican la fosforilación constitutiva de la proteína. Es decir, el receptor está continuamente activado.

La llegada de los ITKs

A finales de los 2000 (2008 y 2009) entran en la escena veterinaria los fármacos inhibidores de la tirosina kinasa (**ITKs**), de los cuales se aprueban dos en Europa: masitinib (Masivet®, Urano Vet) y fosfato de toceranib (Palladia®, Zoetis).

¹ Thamm DH, Avery AC, Berlato D, Bulman-Fleming J, Clifford CA, Hershey AE, Intile JL, Jones PD, Kamstock DA, Liptak JM, Pavuk A, Peauroi J, Powell R, Risetto K, Valli VEO, Webster JD. Prognostic and predictive significance of KIT protein expression and c-kit gene mutation in canine cutaneous mast cell tumours: A consensus of the Oncology-Pathology Working Group. Vet Comp Oncol. 2019 Jul 2. doi: 10.1111/vco.12518. [Próxima publicación]

² Paul MK, Mukhopadhyay AK. Tyrosine kinase – role and significance in cancer. Int J Med Sci 2004;1: 101–115. Ponen en evidencia, también, el efecto anti-apoptótico y la capacidad angiogénica de la cascada TK. El efecto anti-apoptótico se ha propuesto como posible responsable de la inhibición de respuesta a Vinblastina por parte de algunos tumores.

En los trabajos de aprobación llevados a cabo³, **Masitinib** muestra resultados clínicos en pacientes portadores de la mutación, con tiempos libres de enfermedad más prolongados en animales tratados que en animales no tratados (230 días vs. 83) y tasas de respuesta superiores (20% vs 10% a los 6 meses).

Por su parte, **Toceranib** demostró mayor tasa de respuesta objetiva en pacientes portadores de la mutación respecto a pacientes sin mutación (60% vs. 30%). Ahora bien, en ninguno de los trabajos iniciales se evaluó el tiempo libre de enfermedad (TLE) ni el tiempo de supervivencia (TS).

La controversia

En algunos trabajos recientes no se ha podido hallar correlación estadística entre el estatus mutacional y la respuesta a los ITKs (atendiendo a parámetros como el tiempo libre de enfermedad o la supervivencia). Es más, en dos trabajos hallan una **peor progresión** en pacientes portadores de mutación cuando son tratados con Toceranib respecto a pacientes sin mutación⁴.

Por ello, de un tiempo a esta parte existe cierta confusión y ambigüedad respecto a la recomendación o a la utilidad de la valoración del estado mutacional en pacientes que padecen mastocitoma. En algunos foros se descarta, sin más, la utilidad de este parámetro.

Las recomendaciones

Las conclusiones del Documento de Consenso del OPWG son las siguientes¹:

1. No existe ningún marcador pronóstico con 100% de efectividad en su valor predictivo.
2. La mejor valoración pronóstica, desde el punto de vista clínico, se obtiene evaluando múltiples parámetros.
3. El estatus mutacional de c-kit y la distribución de la proteína KIT pueden ser los parámetros más informativos en mastocitomas histológicamente ambiguos⁵.
4. El estatus mutacional de c-kit puede ser el parámetro más informativo en la identificación de aquellos mastocitomas de bajo grado histológico, pero de comportamiento biológico agresivo⁶.
5. Aunque reconocen que la literatura actual es mixta, la valoración del estatus mutacional de c-kit podría predecir una buena o mala respuesta inicial a ITKs, aunque eso no se traduciría en una mayor supervivencia.

³ London CA, Malpas PB, Wood-Follis SL, et al. Multi-center, placebo-controlled, doubleblind, randomized study of oral toceranib phosphate (SU11654), a receptor tyrosine kinase inhibitor, for the treatment of dogs with recurrent (either local or distant) mast cell tumor following surgical excision. Clin Cancer Res 2009; 15:3856–3865.

London CA, Hannah ALL, Zadovskaya R, et al. Phase I dose escalating study of SU11654, a small molecule receptor tyrosine kinase inhibitor, in dogs with spontaneous malignancies. Clin Cancer Res. 2003;9(7):2755-2768.

⁴ Weishaar KM, Ehrhart EJ, Avery AC, Charles JB, Elmslie RE, Vail DM, London CA, Clifford CA, Eickhoff JC, Thamm DH. c-Kit Mutation and Localization Status as Response Predictors in Mast Cell Tumors in Dogs Treated with Prednisone and Toceranib or Vinblastine. J Vet Intern Med. 2018; 32(1): 394-405. Este trabajo, con una n=88, concluye que la valoración del estatus mutacional no ayuda a elegir entre terapia con vinblastina o con toceranib. En sus resultados, el tiempo libre de enfermedad de los pacientes sin mutación resulta ser superior al de los pacientes con mutación. Sin embargo, el tiempo de supervivencia es el mismo en ambos grupos.

Carlsten KS, London CA, Haney S, et al. Multicenter prospective trial of hypofractionated radiation treatment, toceranib, and prednisone for measurable canine mast cell tumors. J Vet Intern Med 2012; 26:135–141. Siendo críticos, este trabajo tiene bastantes carencias. La principal es que utiliza una población estadística muy baja (n=14). Podríamos añadir que no utilizan grupo control. Concluyen que no hay diferencia estadística en el tiempo de supervivencia entre mutados y no mutados, pero, al cabo de un año, el 66.7% de mutados están vivos y el 100% de no mutados. Es decir, a un año, el 33% de mutados ha muerto y ninguno de los no mutados ha muerto. Esta conclusión, en sí misma contradictoria, podría atribuirse a la escasa muestra utilizada en el estudio.

⁵ Hablamos de mastocitomas histológicamente ambiguos en aquellos casos en que se combinan criterios de benignidad y de malignidad de forma no concluyente. Por ejemplo, una neoplasia que reúna, en general, criterios de benignidad, pero con una tasa mitótica justo en el punto de corte entre el bajo grado y el alto grado, o un poco por encima. Este tipo de escenarios no son infrecuentes, salen del esquema estricto de gradación y suponen un reto diagnóstico para el patólogo.

⁶ Este tipo de tumores no son predecibles hasta que muestran su comportamiento clínico. Su aspecto histológico no es diferente de cualquier otro mastocitoma de bajo grado y carecen de elementos que hagan previsible su agresividad. La evidencia de mutación en el gen c-kit o la detección de un patrón de tinción inmunohistoquímica c-kit anómalo pueden ser indicios, aunque no evidencias, de un posterior comportamiento maligno.

6. No se ha demostrado que la existencia de mutación en c-kit sea un criterio pronóstico independiente y que no vaya ligado, por ejemplo, al grado histológico o a la tasa mitótica, criterios, estos últimos, más fácilmente medibles y con menor coste. Reconocen, sin embargo, que la valoración de mutación es un criterio más objetivo que los otros dos.

El documento de consenso no hace ninguna mención especial o concreta al valor predictivo del estatus mutacional y la respuesta a masitinib. Los trabajos de Weishaar y de Carlsten hacen referencia exclusivamente a toceranib. Para masitinib, por tanto, prevalecen los resultados de los estudios publicados en los que se concluye que el fármaco mejora la supervivencia y el tiempo libre de enfermedad, con respuestas completa a los 24 meses del 15.8% en pacientes con mutación y del 5.2% en pacientes sin mutación.