

**CUANTIFICACIÓN DE LA CAPTACIÓN GAMMAGRÁFICA DE  
 $^{99m}\text{Tc}$ -TETROFOSMINA EN PACIENTES CON NEOPLASIA  
PULMONAR DE CÉLULA NO PEQUEÑA: RELACIÓN CON LOS  
NIVELES TUMORALES DE GLICOPROTEÍNA-P Y LA  
RESPUESTA A LA QUIMIOTERAPIA**

**TESIS DOCTORAL**

**DAVID FUSTER PELFORT**

**CUANTIFICACIÓN DE LA CAPTACIÓN GAMMAGRÁFICA DE  
<sup>99m</sup>Tc-TETROFOSMINA EN PACIENTES CON NEOPLASIA  
PULMONAR DE CÉLULA NO PEQUEÑA: RELACIÓN CON LOS  
NIVELES TUMORALES DE GLICOPROTEÍNA-P Y LA  
RESPUESTA A LA QUIMIOTERAPIA**

**Memoria de Tesis Doctoral para aspirar al grado de Doctor en Medicina y Cirugía**

**UNIVERSIDAD DE BARCELONA**

**Facultad de Medicina**

Departamento de Obstetricia y Ginecología, Pediatría, Radiología y Medicina Física

**DIRECTOR:** Prof. Francesca Pons Pons

**AUTOR:** David Fuster Pelfort



UNIVERSITAT DE BARCELONA



**Departament d'Obstetrícia i Ginecologia  
Pediatria, Radiologia i Medicina Física**

Facultat de Medicina

Casanova, 143

08036 Barcelona

Tel/Fax: 93-403 93 71

E-mail: dep-opr@ub.edu

**FRANCESCA PONS PONS**, Professora titular de Radiología i Medicina Física de la Universitat de Barcelona,

### **CERTIFICA**

Que **David Fuster Pelfort**, llicenciat en Medicina i Cirurgia, ha realitzat sota la meva direcció la present tesi doctoral, titulada: "*Cuantificación de la captación gammagràfica de <sup>99m</sup>Tc-Tetrosfosmina en pacientes con neoplasia pulmonar de célula no pequeña: relación con los niveles tumorales de glicoproteína-P y la respuesta a la quimioterapia*", i aquesta reuneix les condicions necessàries per a la seva lectura i defensa pública.

Barcelona, 23 d'octubre de 2006

**Als meus pares...**

## **AGRADECIMIENTOS**

En primer lugar deseo expresar mi agradecimiento a la Dra. Pons, directora de esta tesis, que sin su paciencia y su insistencia no creo que hubiera sido capaz de llevar este proyecto de tesis doctoral a buen puerto. A Xavi Setoain que con la insuperable calidad de su tesis doctoral ha motivado un mayor celo en la meticulosidad para la realización de este trabajo. Al Dr. Pachi Martín que, en mi ausencia, realizó con cariño las pruebas necesarias a los pacientes permitiendo que fueran incluidos en este estudio. A Ilde, que con su alegría y optimismo incansable me ha dado fuerza vital para seguir adelante en los momentos bajos.

Finalmente quiero expresar sinceramente mi profundo agradecimiento a todo el equipo de Medicina Nuclear del Hospital Clínic, que sin su ayuda y apoyo desinteresado este proyecto no sería hoy una realidad.

**ÍNDICE**

	<b>Página</b>
<b>Índice general</b> . . . . .	<b>II</b>
<b>Índice de tablas</b> . . . . .	<b>VI</b>
<b>Índice de figuras</b> . . . . .	<b>VII</b>
<b>Abreviaturas</b> . . . . .	<b>IX</b>

---

**ÍNDICE GENERAL**

	<b>Página</b>
• <b>INTRODUCCIÓN</b> . . . . .	<b>1</b>
<b>1. Cáncer de pulmón</b> . . . . .	<b>1</b>
1.1 Epidemiología . . . . .	<b>1</b>
1.2 Etiopatogenia . . . . .	<b>2</b>
1.3 Clasificación . . . . .	<b>3</b>
1.4 Diagnóstico . . . . .	<b>4</b>
1.5 Estadificación . . . . .	<b>5</b>
1.5.1 Técnicas no invasivas . . . . .	<b>7</b>
1.5.2 Técnicas invasivas . . . . .	<b>15</b>
1.6 Tratamiento . . . . .	<b>17</b>
<b>2. Multiresistencia (Papel de la glicoproteína-P)</b> . . . . .	<b>23</b>
2.1 Factores implicados en la resistencia a la quimioterapia . . . . .	<b>23</b>
2.2 Papel de la glicoproteína-P . . . . .	<b>26</b>
2.3 Determinación de la glicoproteína-P . . . . .	<b>29</b>
<b>3. Análisis de la respuesta a la quimioterapia</b> . . . . .	<b>34</b>
<b>4. Gammagrafía con tetrofosmina</b> . . . . .	<b>42</b>
4.1 <sup>99m</sup> Tc-tetrofosmina en oncología . . . . .	<b>43</b>
4.2 <sup>99m</sup> Tc-tetrofosmina en el cáncer de pulmón . . . . .	<b>45</b>
<b>5. Justificación del estudio</b> . . . . .	<b>46</b>

	Página
• <b>HIPÓTESIS Y OBJETIVOS</b> . . . . .	47
<b>1. Hipótesis</b> . . . . .	47
<b>2. Objetivos</b> . . . . .	48
2.1 Objetivo general . . . . .	48
2.2 Objetivos secundarios . . . . .	48
• <b>MATERIAL Y MÉTODO</b> . . . . .	50
<b>1. Población a estudio</b> . . . . .	50
<b>2. Protocolo de estudio</b> . . . . .	53
2.1. Consentimiento informado . . . . .	53
2.2 Algoritmo diagnóstico . . . . .	53
<b>3. Metodología de investigación</b> . . . . .	55
3.1 Gammagrafía con <sup>99m</sup> Tc-tetrofosmina . . . . .	55
3.2 Cuantificación de la captación gammagráfica . . . . .	60
3.3 Determinación de la glicoproteína-P . . . . .	63
3.4 Análisis de la respuesta a la quimioterapia . . . . .	66
3.4.1 Esquema de tratamiento . . . . .	66
3.4.2 Valoración de la respuesta . . . . .	68
3.5 Interpretación de los resultados . . . . .	70
<b>4. Análisis estadístico</b> . . . . .	72

	Página
• <b>RESULTADOS</b>	<b>74</b>
<b>1. Aspectos epidemiológicos del estudio</b>	<b>75</b>
1.1 Sexo	75
1.2 Edad	76
1.3 Factores etiológicos	77
1.3.1 Hábito tabáquico	77
1.3.2 Exposición a contaminantes	78
1.4 Sintomatología clínica	78
1.5 Localización de la lesión primaria	79
1.6 Estadificación de la enfermedad	80
<b>2. Exploraciones gammagráficas</b>	<b>85</b>
2.1 Índice de lavado planar	85
2.2 Índice de captación mediante SPECT	85
<b>3. Determinación de la glicoproteína-P</b>	<b>90</b>
3.1 Índice de lavado planar	92
3.2 Índice de captación mediante SPECT	93
<b>4. Análisis de la respuesta a la quimioterapia</b>	<b>95</b>
4.1 Predicción de la respuesta	97
4.1.1 Índice de lavado planar	97
4.1.2 Índice de captación mediante SPECT	98
4.2 Monitorización de la respuesta	100
<b>5. Análisis de la supervivencia</b>	<b>105</b>

	<b>Página</b>
• <b>DISCUSIÓN . . . . .</b>	<b>110</b>
<b>1. Aspectos epidemiológicos de la población a estudio . . . . .</b>	<b>111</b>
<b>2. Exploraciones gammagráficas . . . . .</b>	<b>114</b>
<b>3. Relevancia de la determinación de la glicoproteína-P. . . . .</b>	<b>123</b>
<b>4. Evaluación de la respuesta a la quimioterapia . . . . .</b>	<b>128</b>
4.1 Predicción de la respuesta . . . . .	<b>128</b>
4.2 Monitorización de la respuesta . . . . .	<b>132</b>
<b>5. Valoración del pronóstico y de la supervivencia . . . . .</b>	<b>135</b>
• <b>CONCLUSIONES . . . . .</b>	<b>139</b>
• <b>BIBLIOGRAFÍA . . . . .</b>	<b>141</b>

---

**ÍNDICE DE TABLAS**

	<b>Página</b>
<b>Tabla I:</b> Tipos histológicos del cáncer de pulmón de célula no pequeña .	<b>4</b>
<b>Tabla II:</b> Estadificación del cáncer de pulmón de célula no pequeña .	<b>6</b>
<b>Tabla III:</b> Agentes relacionados con la multiresistencia . . .	<b>27</b>
<b>Tabla IV:</b> Sintomatología . . . . .	<b>79</b>
<b>Tabla V:</b> Características clínicas del paciente candidato a cirugía . .	<b>83</b>
<b>Tabla VI:</b> Características clínicas del paciente candidato a quimioterapia .	<b>84</b>
<b>Tabla VII:</b> Determinación de la glicoproteína-P . . .	<b>91</b>
<b>Tabla VIII:</b> Resultados globales del grupo de quimioterapia . .	<b>95</b>
<b>Tabla IX:</b> Tipos de respuesta a la quimioterapia . . .	<b>97</b>
<b>Tabla X:</b> Tipos de respuesta e índice de lavado planar . .	<b>97</b>
<b>Tabla XI:</b> Glicoproteína-P e índice de captación mediante SPECT .	<b>106</b>
<b>Tabla XII:</b> Respuesta e índice de captación mediante SPECT . .	<b>108</b>

## ÍNDICE DE FIGURAS

	<b>Página</b>
<b>Figura 1:</b> Apariencia de la glicoproteína-P . . . . .	26
<b>Figura 2:</b> Algoritmo diagnóstico . . . . .	54
<b>Figura 3:</b> Gammagrafía planar . . . . .	56
<b>Figura 4:</b> Gammagrafía mediante SPECT . . . . .	57
<b>Figura 5:</b> Imágenes de SPECT y Tomografía Computerizada . . . . .	58
<b>Figura 6:</b> Cortes de SPECT . . . . .	59
<b>Figura 7:</b> Cuantificación planar . . . . .	61
<b>Figura 8:</b> Cuantificación de la SPECT . . . . .	62
<b>Figura 9:</b> Citometría de flujo . . . . .	65
<b>Figura 10:</b> Gráfico en función del sexo . . . . .	75
<b>Figura 11:</b> Gráfico en función de la edad . . . . .	76
<b>Figura 12:</b> Gráfico sobre el hábito tabáquico . . . . .	77
<b>Figura 13:</b> Gráfico sobre la localización del tumor . . . . .	80
<b>Figura 14:</b> Imágenes de un paciente con afectación ganglionar . . . . .	81
<b>Figura 15:</b> Gammagrafía planar negativa por interposición cardiaca . . . . .	87
<b>Figura 16:</b> Gammagrafía planar negativa por el tamaño del tumor . . . . .	88
<b>Figura 17:</b> Efecto de la necrosis en la gammagrafía . . . . .	89
<b>Figura 18:</b> Índice de lavado planar y glicoproteína-P tumoral . . . . .	92
<b>Figura 19:</b> Índice de lavado planar y glicoproteína-P en tejido sano . . . . .	93
<b>Figura 20:</b> Índice de captación y glicoproteína-P tumoral . . . . .	94

---

<b>Figura 21:</b> Índice de captación y glicoproteína-P en tejido sano . . .	<b>94</b>
<b>Figura 22:</b> Índice de captación y respuesta a la quimioterapia . . .	<b>99</b>
<b>Figura 23:</b> Curvas ROC del índice de captación . . . .	<b>100</b>
<b>Figura 24:</b> Índice de captación pre- y post-quimioterapia . . . .	<b>101</b>
<b>Figura 25:</b> Lavado pre- y post-quimioterapia . . . .	<b>102</b>
<b>Figura 26:</b> Paciente con respuesta parcial a la quimioterapia . . .	<b>103</b>
<b>Figura 27:</b> Paciente con progresión de la enfermedad tras la quimioterapia	<b>104</b>
<b>Figura 28:</b> Supervivencia a los 5 años en el grupo quirúrgico . . .	<b>107</b>
<b>Figura 29:</b> Supervivencia a los 5 años en el grupo quimioterápico. . .	<b>108</b>
<b>Figura 30:</b> Distribución de los compuestos tecnecios . . . .	<b>116</b>
<b>Figura 31:</b> Gammagrafía cerebral con $^{99m}\text{Tc}$ -Tetrofosmina . . .	<b>118</b>
<b>Figura 32:</b> Captación intestinal en la gammagrafía con $^{99m}\text{Tc}$ -Tetrofosmina	<b>120</b>

**ABREVIATURAS**

<b>CPCP</b>	Cáncer de pulmón de célula pequeña
<b>CPCNP</b>	Cáncer de pulmón de célula no pequeña
<b>FDG</b>	Fluorodesoxiglucosa
<b><sup>67</sup>Ga</b>	<sup>67</sup> Galio
<b>MIBI</b>	2-hexakis-metoxi-butil-isonitrilo
<b>PET</b>	Tomografía por Emisión de Positrones
<b>PAAF</b>	Punción por aspiración con aguja fina
<b>Pgp</b>	Glicoproteína-P
<b>RM</b>	Resonancia magnética
<b>ROI</b>	Área de interés
<b>SPECT</b>	Tomografía Computerizada por Emisión de Fotón Único
<b>TC</b>	Tomografía computarizada
<b><sup>99m</sup>Tc</b>	<sup>99m</sup> Tecnecio
<b><sup>201</sup>Tl</b>	<sup>201</sup> Talio
<b>TTF</b>	Tetrofosmina

## **INTRODUCCIÓN**

### **1 CÁNCER DE PULMÓN**

#### **1.1 Epidemiología**

La incidencia actual de cáncer en la Unión Europea, excluyendo los cánceres cutáneos no melanoma, es alrededor de 2286000 con una mortalidad en torno a 1711000 casos [1]. El cáncer de pulmón en el ámbito de la Unión Europea es el tipo de neoplasia más frecuente, con un 13.3% de la incidencia global, siendo también la primera causa de muerte por cáncer con una mortalidad de 3418000 casos en el año 2004. El cáncer de pulmón es el segundo tipo de cáncer más frecuente en España después del cáncer colorrectal, con una incidencia de 18000 nuevos casos por año [2].

A pesar de las mejoras en el diagnóstico y del enfoque más racional de los métodos terapéuticos, las tasas de mortalidad global no han mejorado en los últimos años y la supervivencia a los 5 años en estos enfermos en España sigue siendo pobre, situándose por debajo del 15% [3].

## **1.2 Etiopatogenia**

El incremento de la incidencia y mortalidad entre los varones se debe especialmente al tabaco y al alcohol, con independencia de exposiciones a carcinógenos en medios laborales [4]. En los últimos años, se ha observado una tendencia al incremento del consumo de tabaco y alcohol en las mujeres, lo que ha motivado un aumento en la incidencia del cáncer de pulmón en el sexo femenino, siendo hoy en día, en muchos países, una enfermedad que aparece prácticamente de forma similar en ambos sexos. Estudios realizados en Estados Unidos confirman que la incidencia de adenocarcinoma de pulmón en mujeres ha aumentado unas 17 veces desde 1951 a 1991. El adenocarcinoma suele ser un tumor periférico, y el cambio de composición de los cigarrillos y los filtros permiten una inhalación más profunda del humo y el incremento en la producción de N-nitrosaminas en el humo del tabaco, que se consideran factores determinantes del aumento en la actual epidemia del cáncer de pulmón [5].

Recientemente, se han postulado secuencias moleculares y cambios celulares que pueden inducir la transformación maligna y favorecer la acción de factores oncogénicos relacionados con el cáncer de pulmón como el humo del tabaco [6].

### **1.3 Clasificación**

Existen dos tipos principales de cáncer de pulmón: el cáncer de células pequeñas (CPCP) y el cáncer de células no pequeñas (CPCNP). También existe otro tipo que tiene características de los dos, y que se denomina carcinoma mixto de células grandes y pequeñas. El CPCNP es más común que el CPCP y, en general, crece y se disemina con más lentitud. Hay tres tipos principales de CPCNP y toman el nombre del tipo de células en donde se desarrolla el cáncer: carcinoma de células escamosas (también llamado carcinoma epidermoide), adenocarcinoma y carcinoma de células grandes. El CPCP no se ha incluido como objetivo de este proyecto de tesis doctoral ni en su vertiente pura ni en su forma mixta (células grandes y células pequeñas).

Los distintos tipos celulares de cáncer (Tabla I) requieren estrategias terapéuticas diferentes, por lo que realizar un correcto diagnóstico histopatológico es el primer paso para instaurar el tratamiento más eficaz de forma individualizada.

**Tabla I:** Relación tipo histológico-frecuencia de presentación del CPCNP

TIPO HISTOLÓGICO	FRECUENCIA
Adenocarcinoma	31%
Carcinoma epidermoide	28%
Carcinoma de células pequeñas	18%
Carcinoma de células grandes	9%
Carcinoma bronquioalveolar	3%
Carcinoide	1%
Carcinoma mucoepidermoide	0.1%
Cistoadenocarcinoma	<0.1%
Sarcoma y otros tumores de partes blandas	0.1%
Otros	10%

*\*Adaptado de la referencia Minna JD et al [7]*

#### 1.4 Diagnóstico

El diagnóstico de cáncer de pulmón comienza por una identificación minuciosa de los síntomas, los antecedentes personales (fumar, exposición a sustancias del ambiente o del oficio y antecedentes familiares de cáncer), así como un detallado examen físico. Si se sospecha cáncer de pulmón, la radiografía de tórax y la citología de esputo son las pruebas de cribaje habitualmente empleadas para la detección de esta enfermedad. Para confirmar la presencia del cáncer de pulmón suele ser necesaria una biopsia que demuestre la presencia de la enfermedad. Existen varios procedimientos para obtener una biopsia de este tejido. La selección de la técnica más adecuada dependerá de las condiciones generales del paciente así como de las características de la lesión.

En términos generales, los pacientes con lesiones centrales suelen beneficiarse del cultivo de esputo y de la broncoscopia, mientras que en las lesiones periféricas la

punción aspiración con aguja fina (PAAF) mediante tomografía computerizada (TC) suele tener una alta rentabilidad diagnóstica. En caso de que no se llegue a un diagnóstico histológico que excluya o confirme el cáncer de pulmón, deberán utilizarse procedimientos más agresivos como la mediastinoscopia, la toracocentesis o incluso la toracotomía exploradora.

### **1.5 Estadificación**

La estadificación se lleva a cabo para determinar si el cáncer se ha extendido a los ganglios hiliares o mediastínicos o si se ha diseminado a distancia, lo que suele hacer con frecuencia especialmente al hígado, glándulas suprarrenales, médula ósea y cerebro. Una estadificación de la enfermedad lo más precisa posible es fundamental para planear el tratamiento más adecuado para cada paciente. En la siguiente tabla (Tabla II) podemos ver la clasificación TNM y los estadios del CPCNP en el momento del diagnóstico según la Asociación Americana contra el Cáncer (AJCC), una vez realizado el estudio de extensión de la enfermedad y que determinará el tratamiento más adecuado para cada paciente.

Tabla II: Categorías TNM y estadios del CPCNP [8]

<b>Tumor primario (T)</b>	<b>Descripción</b>
<b>T1</b>	Tumor cuyo diámetro mayor es <3 cm; rodeado de pulmón o pleura visceral, sin extensión al bronquio principal
<b>T2</b>	Tumor de >3 cm que puede invadir la pleura visceral y el bronquio principal a >2 cm de la carina principal; puede causar atelectasia segmentaria o lobar
<b>T3</b>	Tumor de cualquier tamaño que afecta la pared torácica, diafragma, pleura mediastínica, pleura parietal, pericardio, bronquio principal, a menos de 2 cm de la carina sin afectación de ésta; puede existir atelectasia de todo el pulmón
<b>T4</b>	Tumor de cualquier tamaño con invasión del mediastino, corazón, grandes vasos, tráquea, esófago, cuerpo vertebral, carina principal; derrame maligno pericárdico o pleural; presencia de nódulos satélite dentro del lóbulo donde se halla el tumor primario
<b>Ganglios linfáticos regionales (N)</b>	<b>Descripción</b>
<b>N1</b>	Presencia de ganglios metastásicos intrapulmonares, peribronquiales ipsilaterales y/o hiliares (estaciones ganglionares 10 a 14)
<b>N2</b>	Presencia de ganglios en el mediastino ipsilateral o subcarinal (estaciones ganglionares 1 a 9)
<b>N3</b>	Presencia de ganglios en el mediastino o en el hilio contralateral, ganglios escalenos o supraclaviculares
<b>Metástasis (M)</b>	<b>Descripción</b>
<b>M0</b>	Enfermedad local o regional sin metástasis a distancia
<b>M1</b>	Enfermedad diseminada, con metástasis a distancia
<b>Estadio</b>	<b>Descripción</b>
<b>IA</b>	T1N0M0
<b>IB</b>	T2N0M0
<b>IIA</b>	T1N1M0
<b>IIB</b>	T2N1M0, T3N0M0
<b>IIIA</b>	T3N1M0, T(1-3)N2M0
<b>IIIB</b>	T4N(0-3)M0, T(1-4)N3M0
<b>IV</b>	T(cualquier)N(cualquier)M1

Las pruebas que se usan para determinar si el cáncer se ha diseminado pueden clasificarse como invasivas o no invasivas.

### **1.5.1 Técnicas no invasivas**

#### ***a) Radiografía simple de tórax***

La mayoría de pacientes se diagnostican inicialmente de cáncer de pulmón con esta técnica, muchas veces como un hallazgo casual al ser estudiados por otras causas o al realizar esta prueba rutinariamente previamente a una intervención quirúrgica. En ocasiones puede detectar enfermedad mediastínica, poner de manifiesto la presencia de derrame pleural o la presencia de nódulos satélite. Sin embargo, la baja sensibilidad de la radiografía de tórax en la evaluación del mediastino obliga a la práctica de otros procedimientos que proporcionen una mayor exactitud diagnóstica [9].

#### ***b) Tomografía computerizada***

Es la técnica de imagen estándar para el estudio de extensión local (tumoral y ganglionar) del cáncer de pulmón. La exactitud de la TC en la estadificación mediastínica ha aumentado con la utilización de contraste, que permite una mejor diferenciación entre estructuras vasculares y ganglios linfáticos. El criterio más

utilizado para definir un ganglio como patológico es el diámetro corto del ganglio mayor o igual a 1 centímetro en los cortes axiales [10].

Este procedimiento es actualmente el método de referencia para la estadificación mediastínica. Sin embargo, se ha descrito una elevada incidencia de ganglios linfáticos infiltrados de tamaño menor a 1 cm., por lo que a menudo pasan desapercibidas adenopatías patológicas que deberían ser tenidas en cuenta. Silvestri y cols [9] y Toloza y cols [11] encontraron una sensibilidad media para la estadificación mediastínica del carcinoma broncogénico de 60% (51%-68%) y una especificidad de 81% (74%-86%). Otros trabajos destacan que se pueden encontrar hasta un 15% de casos con afectación mediastínica en la estadificación post-quirúrgica que muestran una TC torácica donde no hay evidencia de ganglios mediastínicos patológicos [12].

### ***c) Resonancia magnética***

La resonancia magnética (RM) se trata de una técnica de imagen estructural que ofrece una alta definición anatómica. Esta técnica de imagen posee limitaciones parecidas a la TC en la detección de adenopatías patológicas sin cambios evidentes de tamaño y también muestra, en ocasiones, adenopatías de tamaño patológico secundario a otros procesos no oncológicos. La RM es de comprobada utilidad en situaciones específicas como en el estudio de tumores del surco superior, sobretudo

en el caso de que afecten al plexo braquial o a los cuerpos vertebrales y en caso de duda de que exista compromiso cardiovascular asociado en los tumores que se extienden al mediastino [13]. En el estudio de extensión con sospecha de metástasis a nivel cerebral, la RM es claramente el mejor método no invasivo para el estudio de este órgano [14].

#### *d) Estudios gammagráficos*

La utilidad de las técnicas de medicina nuclear en oncología se ha investigado desde hace años. Entre los trazadores oncotrópicos que se han empleado en el diagnóstico y estudio de extensión del cáncer de pulmón destacan el  $^{201}\text{Tl}$  ( $^{201}\text{Tl}$ ), los compuestos organotecnecios, el  $^{67}\text{Ga}$  ( $^{67}\text{Ga}$ ), los receptores, los anticuerpos monoclonales o los compuestos fosfonados marcados con  $^{99\text{m}}\text{Tc}$  ( $^{99\text{m}}\text{Tc}$ ) para el estudio de la presencia de metástasis óseas. Actualmente ninguno de ellos se utiliza de forma habitual en el manejo de pacientes afectos de CPCNP, exceptuando quizás la gammagrafía ósea que sigue siendo de utilidad para el despistaje de metástasis óseas.

El  $^{201}\text{Tl}$  es un catión monovalente que se ha usado ampliamente para el estudio de la perfusión miocárdica, siendo incidental descubrir que podía fijarse en el cáncer de pulmón [15]. Un estudio de Tonami y cols [16] con una serie larga de 170 pacientes con sospecha de cáncer de pulmón mostró unas correctas cifras de sensibilidad y

especificidad del  $^{201}\text{Tl}$  en la detección de afectación mediastínica de hasta el 76% y 88%, respectivamente. Los mejores resultados se obtuvieron teniendo en cuenta las imágenes mediante tomografía computerizada con emisión de fotón único (SPECT), mientras que una mayor retención de trazador entre la imagen planar precoz y tardía permitía diferenciar malignidad de procesos benignos.

Los compuestos organotecnecniados más representativos en el estudio de neoplasias son el  $^{99\text{m}}\text{Tc}$  2-hexakis-metoxi-butil-isonitrilo ( $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -MIBI) [17-19] y el  $^{99\text{m}}\text{Tc}$  tetrafosmina ( $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -TTF) [20], aunque éste último será discutido ampliamente más adelante. El  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -MIBI se trata de un catión lipofílico que también se ha usado y se sigue usando en los estudios de perfusión miocárdica. Hay varios estudios desde 1987 que describen la utilidad de este radiofármaco para el diagnóstico diferencial entre procesos benignos y tumores malignos, siguiendo una historia muy similar al  $^{201}\text{Tl}$  [21]. En los estudios en pacientes con cáncer de pulmón se descubrió que la quimioterapia o radioterapia previa, la presencia de necrosis tumoral o el uso concomitante de corticoides daba lugar a una ausencia de fijación de  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -MIBI en el tumor [22]. Estas peculiaridades originaron nuevos estudios para valorar la posible utilidad del  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -MIBI en la monitorización del tratamiento con quimioterapia y en sus posibles implicaciones en el campo de la multiresistencia a drogas.

La presencia de una sobre-expresión de la somatostatina en distintos tipos de neoplasias, ha sido documentada ampliamente “*in vitro*” y, aunque en el CPCNP no

se ha demostrado, los primeros estudios gammagráficos realizados utilizando análogos de la somatostatina como la gammagrafía con depreotide marcado con  $^{99m}\text{Tc}$  son muy alentadores [23-25]. Hay autores que han encontrado una alta sensibilidad de la gammagrafía con  $^{99m}\text{Tc}$ -depreotide en el diagnóstico diferencial del nódulo pulmonar solitario, incluso ligeramente más elevada que la Tomografía por Emisión de Positrones (PET) con 18F-fluorodesoxiglucosa (FDG), aunque también tiene un porcentaje no despreciable de resultados falsos positivos [26-27].

Los recientes avances en las técnicas de radiomarcaje han permitido una mayor eficacia en las imágenes con anticuerpos monoclonales. Habitualmente se marcan con  $^{99m}\text{Tc}$ , destacando el  $^{99m}\text{Tc}$ -nofetumomab merpentan, un fragmento (Fab) de anticuerpo de origen murino que se ha utilizado con éxito en la estadificación del CPCNP [28-29]. Existen varios anticuerpos que se han utilizado para realizar el estudio de extensión del CPCNP mediante inmunogammagrafía, aunque los resultados no han sido relevantes y hasta el momento no han aportado información adicional que justifique su práctica en el manejo de estos pacientes [28, 30-32].

El  $^{67}\text{Ga}$ , se ha usado en el estudio de masas pulmonares, aunque su afinidad tanto para la inflamación como para los tumores ha limitado su aplicación en el cáncer de pulmón [33]. Hoy en día sigue teniendo un papel importante en el seguimiento de pacientes con linfoma y especialmente en la detección de viabilidad tumoral tras tratamiento con quimioterapia en aquellos casos dudosos mediante TC [34-37].

Los estudios gammagráficos óseos con los compuestos difosfonados marcados  $^{99m}\text{Tc}$ -metilendifosfonato o  $^{99m}\text{Tc}$ -hidroximetilendifosfonato han demostrado ser útiles para detectar presencia de enfermedad ósea y, debido a su alto valor predictivo negativo, pueden detectar metástasis óseas asintomáticas hasta en un 20% de pacientes con CPCNP de diferentes estirpes histológicas [38].

*e) Tomografía por emisión de positrones*

La FDG-PET se ha propuesto en varias indicaciones oncológicas con un progresivo aumento tanto en el tipo de tumor como en las indicaciones específicas que han ido apareciendo en los últimos años. Destacan los resultados en cáncer de cabeza y cuello, cáncer de mama, cáncer de pulmón, cáncer colorectal, melanoma y linfomas. Dentro del cáncer de pulmón existen dos aplicaciones principales en que la FDG-PET ha mostrado un interés creciente:

- **Estadificación del CPCNP**

Los estudios actuales sobre costo-efectividad de la PET-FDG en esta área consideran que esta técnica resulta costo-efectiva en la estadificación del CPCNP, para permitir confirmar resecabilidad a partir de un mediastino negativo con TC. Sin embargo, no es costo-efectiva cuando se usa en fases más iniciales del diagnóstico. La TC es el

método diagnóstico de imagen preferido y se utiliza en distintos momentos de la enfermedad. El estadio de la afectación mediastínica se realiza según el tamaño de los nódulos linfáticos (los mayores de 1 cm. suelen ser malignos), pero este criterio no siempre se cumple y se requiere una confirmación histológica para decidir el tratamiento más adecuado.

La FDG-PET se ha propuesto para la búsqueda de neoplasia de origen desconocido, para el diagnóstico locoregional de metástasis hiliares y mediastínicas, así como para la detección de metástasis a distancia. Para mejorar el diagnóstico de adenopatías locoregionales, muchos investigadores sugieren tratar de aumentar la baja sensibilidad de la TC dado el alto valor predictivo negativo de la FDG-PET. Éstos consideran que una FDG-PET negativa tras una TC positiva o indeterminada podría excluir la existencia de metástasis mediastínicas con un elevado grado de certeza y obviaría la utilización de técnicas más agresivas como la mediastinoscopia [11]. Por otro lado, las masas suprarrenales son frecuentes en pacientes con CPCNP, pero suelen ser benignas en ausencia de otras metástasis extratorácicas. El diagnóstico de estas masas suele permanecer indeterminado tras la utilización de los métodos de diagnóstico por imagen convencional (TC, RM) y es necesario biopsiar para planificar el tratamiento. La FDG-PET parece que podría evitar la necesidad de biopsia, ya que los hallazgos de trabajos preliminares sugieren que puede diferenciar entre lesiones benignas y metástasis de las glándulas suprarrenales en pacientes con cáncer de pulmón en casos dudosos por TC o RM [39].

Un trabajo de Bury y cols [40] aporta la mayor evidencia hasta la fecha sobre exactitud diagnóstica en detección de adenopatías (TC y FDG-PET son comparables), y metástasis a distancia. Sus resultados sugieren un modesto incremento en sensibilidad y valor predictivo negativo sobre los métodos de imagen convencionales en el caso específico de diagnóstico de metástasis a distancia. Los autores refieren que la FDG-PET cambió correctamente el estadio M (presencia o no de metástasis a distancia) en el 14% de los casos y modificó el tratamiento en el 20% de los pacientes.

- **Diagnóstico de nódulo pulmonar solitario**

El diagnóstico diferencial del nódulo pulmonar solitario incluye varios procesos benignos y malignos. La forma maligna más frecuente es el carcinoma broncogénico. La prevalencia de nódulo pulmonar solitario maligno publicada varía entre un 5 y un 70% según las características del estudio. Un nódulo pulmonar solitario maligno representa un estadio clínico I, potencialmente curable con resección. Los granulomas infecciosos suponen la mayoría de los procesos benignos y la causa suele ser coccidiomicosis, histoplasmosis o tuberculosis. Tras el examen clínico y la RX de tórax, el método radiológico de elección es la TC. Para aumentar la capacidad de diagnóstico diferencial pueden usarse contrastes yodados y la TC de densitometría de alta resolución. Muchos casos de nódulo pulmonar solitario se clasifican como

indeterminados tras la TC y requieren biopsia. La FDG-PET se propone como una solución para mejorar el diagnóstico no invasivo y reducir así el número de biopsias. Varios estudios de caracterización del nódulo pulmonar solitario que resultan indeterminados refieren falsos negativos que comprenden una variedad de CPCNP con diámetros entre 1 y 2,5 cm. (el límite de resolución de la PET está en torno a 1 cm.).

### **1.5.2 Técnicas invasivas**

#### ***a) Mediastinoscopia/Mediastinotomía***

Una mediastinoscopia puede ayudar a mostrar si el cáncer se ha diseminado a los ganglios linfáticos del tórax. Usando un instrumento óptico luminoso llamado endoscopio, se examina el mediastino y los ganglios linfáticos cercanos. En la mediastinoscopia, el endoscopio es insertado a través de una pequeña incisión en el cuello a nivel supraesternal; en la mediastinotomía, la incisión se hace en el tórax y suele preferirse ante la sospecha de afectación ganglionar de la ventana aortopulmonar, que no es accesible mediante la mediastinoscopia. En cualquiera de los dos procedimientos, el endoscopio se usa tanto para realizar un diagnóstico “de visu” del estado del ganglio, como para la toma de una muestra de biopsia tejido. El paciente recibe anestesia general. Estas técnicas están indicadas como procedimiento diagnóstico de confirmación en pacientes con afectación mediastínica conocida

mediante otras técnicas como la TC, que tiene una alta tasa de resultados falsos positivos [41].

***b) Toracosopia y toracotomía***

La toracosopia se utiliza fundamentalmente para el estudio de ganglios torácicos que no son accesibles por mediastinoscopia. La toracotomía se realiza para el diagnóstico y estadificación del cáncer de pulmón, en aquellas situaciones en que no se ha podido llegar a una conclusión que indique o excluya la cirugía curativa mediante otros métodos menos invasivos. De todas formas, en la actualidad la necesidad de la realización de este procedimiento se limita a menos del 5% de pacientes [41].

***c) Punción aspiración con aguja fina***

Este procedimiento tiene la ventaja de que es poco cruento comparado con la mediastinoscopia o la toracotomía y que posee una elevada rentabilidad diagnóstica [11, 42]. Existen varias técnicas para tratar de obtener material que permita el diagnóstico histológico de cáncer de pulmón a través de aspiración con aguja fina, cuya elección dependerá sobretodo del grupo ganglionar mediastínico sospechoso de hallarse comprometido. De entre ellas, las más empleadas son la aspiración transbronquial, la aspiración transtorácica y la ultrasonografía endoscópica.

## **1.6 Tratamiento**

El tratamiento depende de una serie de factores, incluyendo el tipo de cáncer de pulmón (CPCP, CPCNP, mixto), del tamaño, sitio y extensión del tumor, y del estado general del paciente. Se pueden usar muchos tratamientos diferentes y combinaciones de tratamientos para controlar el cáncer de pulmón o para mejorar la calidad de vida al reducir los síntomas. En el cáncer de pulmón, como ya hemos comentado, debe procurarse siempre realizar cirugía curativa (estadios I, II), ya que es el único modo de conseguir una supervivencia larga en estos pacientes. Se ha ensayado la práctica de quimioterapia adyuvante administrada postoperatoriamente, aunque no se han encontrado beneficios en cuanto a incremento del tiempo libre de enfermedad ni en cuanto a supervivencia [43]. Los pacientes en estadios III y IV son los candidatos a tratamiento con quimioterapia, ya sea de forma neoadyuvante para tratar de reducir el riesgo de una cirugía incompleta reduciendo el tamaño tumoral (IIIA), o con intención paliativa (IIIB, IV).

*a)* La *cirugía* curativa es el tratamiento de elección siempre que sea posible por la estadificación de la enfermedad y por las condiciones físicas del paciente. El tipo de cirugía que se realiza depende de la localización del tumor en el pulmón e incluye desde una segmentectomía atípica hasta una neumonectomía con o sin linfadenectomía hiliar y/o mediastínica.

*b)* La *quimioterapia* se puede administrar de forma neoadyuvante previamente al tratamiento quirúrgico para facilitar la resección completa del tumor o de forma paliativa para aliviar los síntomas. Como ocurre con la mayoría de neoplasias, en el CPCNP la enfermedad recurrente o metastásica es incurable y el uso de la quimioterapia confiere una reducción de los síntomas, una mejoría de la calidad de vida y prolonga la supervivencia. En la mayoría de estas situaciones, la quimioterapia ha demostrado que aumenta de forma significativa la supervivencia cuando se compara a un agente placebo o tratamiento de soporte [44].

El CPCNP con frecuencia es una enfermedad localmente avanzada en el momento del diagnóstico y aunque la resección sea técnicamente factible, los resultados son muy pobres con un elevado índice de recidiva en forma de metástasis a distancia. Debido a esto, no es extraño que la quimioterapia neoadyuvante se aplique a pacientes con afectación de ganglios linfáticos regionales y especialmente a pacientes en estadio IIIA [45]. La estrategia de tratamiento multimodal con quimioterapia neoadyuvante ha demostrado una mejoría de la supervivencia en un subgrupo de pacientes con adenocarcinoma pulmonar [46]. En la enfermedad avanzada o metastásica, la quimioterapia se puede ver afectada por la quimioresistencia o el fallo a la inducción de la muerte celular programada.

Entre los nuevos agentes citotóxicos (denominados de tercera generación) desarrollados en el decenio anterior y utilizados para el tratamiento del CPCNP, los

taxanos (docetaxel y paclitaxel), nuevos alcaloides de la vinca (vinorelbina) o antimetabolitos (gemcitabina) destacan al ser utilizados como monoquimioterapia, no sólo por la actividad demostrada contra este tumor, sino por la mejoría conseguida tanto en la calidad de vida como en la supervivencia de los pacientes con respecto al mejor cuidado de apoyo [47-49].

Por otra parte, gemcitabina, vinorelbina y docetaxel han demostrado su ventaja al asociarse con cisplatino y ser comparados con el mismo fármaco utilizado como agente único, con mínima toxicidad [50-51]. Existen trabajos que comparan combinaciones de cisplatino con cada uno de esos agentes con respecto a esquemas de cisplatino asociado a vindesina o etopósido (VP-16) o mitomicina, que hasta entonces eran considerados estándar (esquemas de segunda generación) [52-53]. Los estudios coincidieron en una mejoría significativa a favor de las combinaciones con cisplatino de tercera generación, no sólo en variables como el porcentaje de respuesta, tiempo a la progresión y supervivencia [52-53], sino también en parámetros de beneficio clínico, con lo que se establecen nuevos estándares para el tratamiento para los pacientes con CPCNP avanzado.

Durante los últimos años del decenio pasado y principios del actual, la investigación clínica ha comparado las distintas asociaciones de platino de tercera generación mediante amplios estudios cooperativos internacionales [54-58]. Las combinaciones de dos fármacos como cisplatino/gemcitabina, cisplatino/vinorelbina,

cisplatino/docetaxel, cisplatino/paclitaxel o carboplatino/paclitaxel se han convertido en una opción terapéutica adecuada, ya que todas son capaces de inducir hasta un 30-40% de respuestas objetivas, alcanzar una mediana de tiempo a la progresión de entre cuatro a cinco meses y supervivencia de 8 a 11 meses, así como un porcentaje de pacientes vivos al año del 30-40%. No se han observado diferencias significativas entre las diferentes alternativas, a excepción de las que se atribuyen a las características distintas de los pacientes incluidos en cada uno de los estudios, tales como el estado general o estadio de la enfermedad. Sin embargo, algunos trabajos pudieron confirmar ventajas significativas en la valoración de parámetros de calidad de vida y beneficio clínico a favor tanto de la combinación de cisplatino/docetaxel con respecto a cisplatino/vinorelbina [57] como de carboplatino/paclitaxel con respecto a cisplatino/vinorelbina [56]. Finalmente, destaca otro estudio comparativo al utilizar encuestas de calidad de vida tipo FACT-L, en que no se reflejaron diferencias entre ambos esquemas [58].

La nueva diversidad de fármacos así como la gran cantidad de conocimientos sobre la posible influencia de las alteraciones genóticas del tumor abocan en un futuro al diseño de estudios donde se valore la secuencia de administración de fármacos para evitar posibles antagonismos a la par que se pueda predecir la respuesta bioquímica del tumor con anterioridad a la respuesta radiográfica. Según la secuencia de administración, por ejemplo, de etopósido y paclitaxel se observó entre el 0% o 41% de respuestas en el CPCNP [59]. Asimismo, determinados citostáticos presentan

mecanismos singulares de quimioresistencia en tumores experimentales. Así, se ha observado resistencia al metrotexate por amplificación de la enzima diana DHFR y disminución en la formación de poliglutamatos, pero no a la resistencia pleiotrópica por la molécula GP170, el producto del gen *mdr*. Por otra parte, mutaciones del gen *p53* pueden influir el grado de quimiosensibilidad al cisplatino, pero no confieren resistencia al paclitaxel [60]. Finalmente, diversos inhibidores de la apoptosis pueden influir en la resistencia a diversos citostáticos como son la sobre-expresión de Bcl-2, la presencia de Fas soluble o la expresión de nuevos genes [61-62]. La quimioresistencia asociada a estos factores supone el objetivo principal de esta tesis doctoral y se desarrolla más ampliamente el en siguiente apartado.

*c)* La *radioterapia* se puede usar también de forma neoadyuvante para reducir el tamaño de un tumor, después de la cirugía para destruir cualquier posible célula cancerosa que haya quedado en el área tratada o de forma paliativa. Se ha usado la radioterapia habitualmente combinada con quimioterapia, como tratamiento primario en vez de cirugía.

*d)* La *terapia fotodinámica*, un tipo de terapia con rayos láser, consiste en el uso de un compuesto químico especial que se inyecta en la sangre y que es absorbido por las células en todo el cuerpo. El compuesto químico sale rápidamente de las células normales pero permanece por más tiempo en las células cancerosas. Una luz láser dirigida al cáncer hace reaccionar el compuesto químico, el cual destruye las células

cancerosas que lo han absorbido. La terapia fotodinámica puede ser usada para reducir los síntomas del cáncer de pulmón—por ejemplo, para controlar el sangrado o para aliviar los problemas de respiración debidos a que las vías de respiración están bloqueadas cuando el cáncer no se puede extirpar por medio de cirugía. La terapia fotodinámica puede también usarse para tratar tumores muy pequeños en pacientes para quienes los tratamientos habituales para cáncer de pulmón no son adecuados.

## **2 MULTIRESISTENCIA (Papel de la Glicoproteína-P)**

Los protocolos quimioterápicos actuales consiguen alcanzar una tasa de remisión importante tanto en hemopatías como en tumores sólidos. Sin embargo, con frecuencia se observan recidivas de la enfermedad a lo largo de la evolución. Estas recaídas se han relacionado de forma directa con la presencia de células neoplásicas residuales resistentes a la quimioterapia [63].

### **2.1 Factores implicados en la resistencia a la quimioterapia**

En la actualidad se conoce que los mecanismos implicados en la resistencia a la quimioterapia en la mayoría de los tumores dependen fundamentalmente de factores celulares. Aunque desde el punto de vista fisiopatológico estemos ante procesos clonales, las células neoplásicas muestran una importante heterogeneidad debido a la existencia de más de una subclona neoplásica y a que las células tumorales mantienen, de forma alterada, la capacidad de diferenciarse. Esto conlleva la aparición de modificaciones morfológicas inmunofenotípicas y/o genéticas. Cabe la posibilidad de que, por estas causas, los mecanismos celulares de resistencia a fármacos varíen también entre las células neoplásicas de un mismo paciente [64].

Gracias a los estudios de investigación realizados en este campo, se sabe que este fenómeno de resistencia a fármacos es multifactorial, identificándose diferentes

mecanismos que de forma aislada o asociados confieren a una determinada célula resistencia a los fármacos que se han empleado en eliminarla [65]. En la práctica clínica, cuando se habla de resistencia a fármacos, significa que las células tumorales presentan un mecanismo capaz de disminuir la concentración intracelular del fármaco por tres vías posibles: disminuir la entrada, aumentar la salida una vez que el fármaco ha penetrado en la célula o aumentar la detoxificación del mismo antes de que éste alcance su diana. Existen otros mecanismos de resistencia celular relacionados con la fase del ciclo celular y el estado de proliferación, la replicación del ADN, los mecanismos de reparación y la apoptosis [66-68].

Los mecanismos relacionados con la presencia de resistencias a la quimioterapia en las enfermedades oncológicas tienen una naturaleza multifactorial. Por lo tanto, la identificación de marcadores específicos antes del uso de tratamientos con quimioterapia permitiría predecir la respuesta al tratamiento y, como consecuencia, escoger la terapia farmacológica más adecuada para cada paciente. El mecanismo de resistencia que mejor se ha caracterizado es la multiresistencia a diferentes fármacos [69-73].

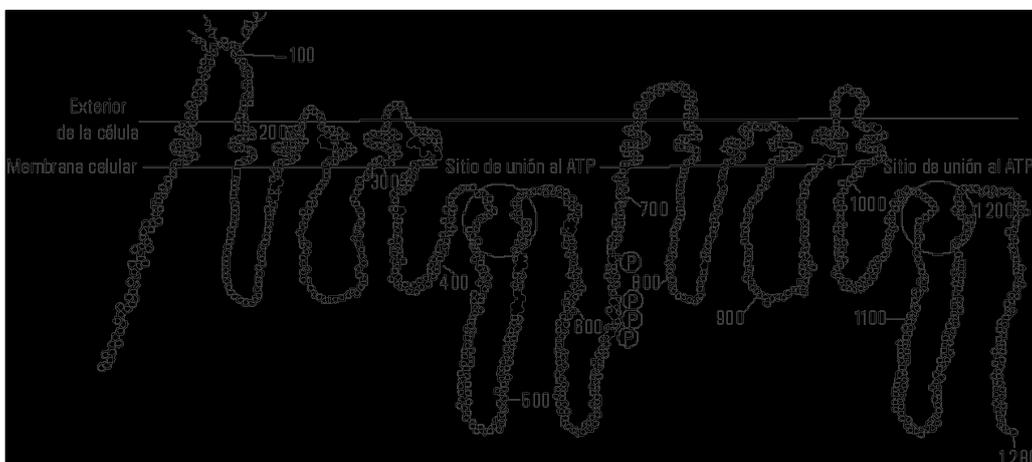
En años recientes se ha definido un importante mecanismo genético de la célula maligna, responsable de la resistencia múltiple a las drogas quimioterapéuticas. Un gen, el MDR-1 (gen de la resistencia múltiple a las drogas), expresa la proteína p-170, que actúa como una bomba a nivel de la membrana de la célula, expulsando del

interior de ésta sustancias que le son tóxicas como los agentes citotóxicos. La resistencia genética celular puede ser inherente a la célula maligna, como se observa en los tumores sólidos quimioresistentes (colon, riñón, pulmón, gastrointestinal) o adquirida como sucede en las leucemias y los linfomas. Se han descubierto compuestos, como el verapamilo, un bloqueador del canal del calcio, que de una manera selectiva inhiben o bloquean la glicoproteína p-170, ayudan así a retener los agentes quimioterapéuticos y favorecen su acción citotóxica al vencer el mecanismo de la multiresistencia.

Existen tres proteínas de transporte principales que se han implicado en el sistema de multiresistencia a drogas, la familia de las proteínas que unen ATP ("ATP binding cassette"). Están involucradas en el transporte intracelular de una variedad de moléculas tales como fármacos, hormonas o carcinógenos. Se cree que estas proteínas favorecen el fenotipo refractario mediante la expulsión de la droga o del conjugado droga-glutation de la célula [74]. Las proteínas relacionadas con el sistema de multiresistencia a drogas incluyen la glicoproteína-P (Pgp), la proteína asociada a la resistencia múltiple a drogas y la proteína relacionada con la resistencia pulmonar. De las tres proteínas, la Pgp ha sido la más estudiada.

## 2.2 Papel de la glicoproteína-P

La Pgp fue descrita por Juliano y Ling en 1976 en células mutantes de carcinoma de ovario del hamster chino resistentes a la colchicina [75]. Posteriormente se comprobó la existencia de la Pgp en otras líneas celulares resistentes a múltiples fármacos: adriamicina, daunorrubicina, vinblastina, vincristina [76]. La Pgp se caracteriza por expulsar de la célula a estos quimioterápicos actuando como una bomba ATP dependiente [77-78] (Figura 1). Esta propiedad incluye resistencia a muchos productos naturales aislados a partir de plantas y microorganismos, pero no a agentes sintetizados en el laboratorio, como cis-platino, arabinósido de citosina, ciclofosfamida y methotrexate.



**Figura 1:** Estructura básica de la glicoproteína-P mostrando su zona de unión con el ATP

La Pgp es un ejemplo de una proteína de transporte que ha sido conservada durante la evolución desde las bacterias hasta el hombre. Su peso molecular es de 170 Kdaltons y está formada por una parte proteica y una cadena exterior de

carbohidratos. Una vez que los fármacos penetran en la célula por difusión pasiva, son expulsados activamente a través de un poro o canal mediante la energía derivada del ATP [79]. Los estudios de biología molecular han demostrado que los genes que codifican la Pgp (genes relacionados con la multiresistencia a drogas), en humanos *mdr1* y *mdr2*, se localizan en la banda q31-1 del cromosoma 7 [80-81].

Entre los agentes que pueden ocasionar una multiresistencia no existe similitud estructural, y únicamente comparten la propiedad de ser moderadamente solubles tanto en agua como en grasas (Tabla III). Esta resistencia simultánea a múltiples fármacos no relacionados estructuralmente es lo que se ha denominado resistencia múltiple a fármacos [82]. Asimismo, sus mecanismos de acción son completamente distintos, dado que algunos afectan a los microtúbulos y otros inhiben la síntesis de ADN, ARN o proteínas [83-85].

**Tabla III:** Descripción de agentes relacionados con la multiresistencia a drogas

<b>Agentes QT del grupo MDR</b>	<b>Agentes no QT del grupo MDR</b>
Alcaloides de la Vinca	Drogas cardiovasculares, Hormonas
Vinblastina	Diltiazem, Verapamil, Amiodarona, Nifedipina
Vincristina	Fenotiazinas, Trifluoperazina, Flufenazina
Etopósido	Quinidina
Tenipósido	Nicardipina
Antraciclinas	Reserpina
Doxorrubicina, Daunorrubicina	Tetraciclina
Taxoles, Paclitaxel, Taxotere	Cloroquina
Podofilotoxinas	Tamoxifen, Progesterona
Mitoxantrone	Ciclosporina
Dactinomicina	Dipiridamol

*QT: Quimioterápicos; MDR: Multiresistencia a drogas*

El mecanismo de multiresistencia está ampliamente distribuido en todo el organismo como una defensa natural frente a ciertas sustancias tóxicas. El análisis de la distribución del *mdr1* muestra la existencia de concentraciones elevadas de la Pgp en los tejidos que en condiciones normales están en contacto con sustancias tóxicas (epitelio tubular del riñón) o en células que por su importancia para el organismo necesitan preservar su integridad (células CD34+). Así, la Pgp se encuentra principalmente en las células epiteliales especializadas con función secretora o excretora: superficie biliar de los hepatocitos, canalículos biliares, células epiteliales del páncreas, células del borde en cepillo del túbulo proximal renal. Otros lugares de expresión habitual son el epitelio del tracto gastrointestinal, epitelio bronquial, glándulas mamarias, salivares, sudoríparas y adrenales, testículos y próstata, células endoteliales del sistema nervioso central, formando parte activa de la barrera hematoencefálica, y en la placenta [86-88].

En cuanto a su presencia en tumores, es muy heterogénea y depende del grado de diferenciación y de la presencia o no de Pgp en el tejido normal. En uno de los estudios más extensos realizados hasta el momento, los tumores con altos niveles de mRNA del *mdr1* son los carcinomas de colon, renal, hepático, de corteza adrenal, de islotes pancreáticos, feocromocitoma, leucemia mieloide crónica en fase blástica y tumor carcinoide [89]. Otras neoplasias con niveles intermedios o bajos pero detectables son la leucemia linfocítica aguda y crónica, linfomas no Hodgkin, neuroblastoma, carcinomas de mama, pulmón y vejiga, leucemia mieloide crónica,

mieloma, cánceres de cabeza y cuello, de esófago y estómago, de ovario, próstata, tiroides, melanoma, mesotelioma, timoma y tumor de Wilms [86, 87-89].

### **2.3 Determinación de la glicoproteína-P**

El estudio de la Pgp puede ser abordado desde el punto de vista metodológico a varios niveles. La citometría de flujo representa un método automatizado y objetivo de medida. Puede ser estudiada la amplificación génica del *mdr1* y la expresión de su mRNA mediante rt-PCR; la expresión de la Pgp de la membrana plasmática mediante citometría de flujo o inmunohistoquímica; o bien desde el punto de vista funcional, valorando su capacidad como proteína transportadora y su acción detoxificante evaluada mediante ensayos funcionales de exclusión de colorantes o fármacos, usualmente con citometría de flujo. Las técnicas inmunohistoquímicas son el método actual de referencia para determinar la Pgp, pero con el doble inconveniente de tratarse de una medida manual y por tanto subjetiva, y de no permitir una cuantificación numérica fiable. Los resultados obtenidos únicamente permiten utilizar una escala semicuantitativa. Sin embargo, la citometría de flujo se ha beneficiado de los avances ocurridos en los últimos años en informática, electrónica, óptica y tecnología láser. Asimismo, la producción de nuevos anticuerpos monoclonales con diferentes fluorocromos y los nuevos procedimientos de tinción en citoquímica han permitido ampliar las áreas de estudio en diagnóstico clínico e investigación biomédica, entre ellos en su aplicación al cáncer de pulmón.

Los resultados obtenidos únicamente permiten utilizar una escala semicuantitativa. Las limitaciones y ventajas de estos métodos se exponen en las recomendaciones dadas por el grupo de consenso para la detección de la Pgp en pacientes oncológicos [90].

#### **a) Características de la citometría de flujo**

La citometría de flujo es una técnica sencilla que se aplica en la rutina diaria de muchos laboratorios clínicos y de investigación, capaz de proporcionar resultados de forma rápida que pueden ser aplicables al diagnóstico. Gracias a su gran especificidad es capaz de detectar una población celular en una muestra en la que predominan otras poblaciones celulares mayoritarias. La principal característica de la citometría de flujo es que puede ofrecer información simultánea de varios parámetros de cada una de las células analizadas y la relación entre los parámetros de una célula y los de otra célula también analizada. Permite el análisis de dos parámetros de dispersión, SSC/FSC y tres de fluorescencia (en equipos con un solo láser), FL1, FL2 y FL3, y de una cuarta fluorescencia en equipos con dos láseres.

## **b) Ventajas e inconvenientes de la citometría de flujo**

Debido a la necesidad de utilizar una suspensión de partículas (células, núcleos, cromosomas, etc.) para ser leídas de una en una, hace que se pierda información sobre la arquitectura de los tejidos que componen las células o de las propias células, así como la interacción entre éstas y el medio que las rodea (patrones nodulares o difusos de los linfomas). Frente a este inconveniente la citometría de flujo presenta múltiples ventajas frente al microscopio de fluorescencia y las técnicas citoquímicas, como:

- Posibilidad de empleo de múltiples frente a un solo marcaje de la citoquímica y la microscopia de fluorescencia.
- Posibilidad de analizar un elevado número de partículas en un corto período de tiempo (5000 partículas/segundo).
- Posibilidad de cuantificar por medio de los canales medios de fluorescencia.
- Mayor sensibilidad y objetividad que le permiten detectar enfermedad mínima residual y caracterizar poblaciones celulares poco abundantes en condiciones normales como los basófilos.
- Posibilidad de analizar poblaciones celulares y epítomos celulares.
- Permite almacenar digitalmente la información del análisis para poderla utilizar en cualquier momento y reanalizar análisis hechos con anterioridad.
- Posibilidad de cuantificar las moléculas antigénicas presentes en un grupo celular.

**c) Estructura básica de un citómetro de flujo**

Esta compuesto por tres partes:

1) SISTEMA FLUÍDRICO: Este sistema consta de dos fluidos, uno que contiene en suspensión a la muestra y otro que lo envuelve a fin de darle estabilidad (“*sheath fluid*”). Las células deben pasar una a una por delante del haz del láser. Ambos fluidos no se mezclan porque circulan a diferente presión.

2) SISTEMA ÓPTICO: Este sistema se compone de dos tipos de ópticas:

La óptica de excitación, compuesta por el láser y las lentes para enfocar y dirigir el haz de luz; y la óptica de lectura, compuesta por las lentes de recolección de luz emitida después de la interacción entre el haz del láser y las partículas y el sistema de espejos y filtros para dirigir longitudes de onda específicas hacia los detectores correspondientes.

3) SISTEMA ELÉCTRICO: El sistema electrónico convierte todo en señales digitales para almacenar en la computadora.

**d) Información obtenida por citometría de flujo**

Básicamente podemos obtener los siguientes datos:

- Tamaño de la célula
- Complejidad de la membrana celular
- Los citómetros de flujo permiten detectar señales de fluorescencia procedentes de complejos Antígeno/Anticuerpo marcados con un fluorocromo y situados en una célula, siendo la cantidad de señal de fluorescencia emitida igual a la proporción de componentes fluorescentes de la partícula.

De forma esquemática, las células teñidas entran en la cámara de flujo de una en una y, al pasar por delante de un haz de luz de láser, emiten una luz fluorescente y dispersada, que es separada de acuerdo a su longitud de onda por filtros y espejos apropiados. Estas señales luminosas son recogidas por detectores y la información se integra y analiza adecuadamente por un sistema informático.

### **3 ANÁLISIS DE LA RESPUESTA A LA QUIMIOTERAPIA**

La alteración observada con mayor frecuencia en las líneas celulares con multiresistencia a los quimioterápicos ha sido un incremento en la expresión de una glicoproteína de superficie de alto peso molecular, la Pgp [84, 91-93]. El grupo de sustancias reconocidas y transportadas por la Pgp comprende un amplio número de compuestos, cuya única similitud es ser compuestos hidrofóbicos que a pH fisiológico se comportan como cationes lipofílicos [94]. Los nuevos trazadores de perfusión miocárdica utilizados en Medicina Nuclear como el  $^{99m}\text{Tc}$ -TTF, el  $^{99m}\text{Tc}$ -MIBI o el  $^{99m}\text{Tc}$ -Furifosmín se comportan como tales y en los estudios realizados en cultivos celulares han confirmado ser sustrato de la Pgp [95-97]. Actualmente comienzan a aparecer en la literatura publicaciones en las que se propone el uso de estos trazadores como imagen funcional de la Pgp en distintos tumores [98-99].

Es un hecho demostrado que hay muchos tumores que incorporan radiotrazador en el interior de sus células. La acumulación de uno u otro radiotrazador depende directamente del tipo de tumor. Desde las primeras investigaciones con  $^{201}\text{Tl}$ , se han estudiado progresivamente nuevos radiotrazadores, observándose una gran variabilidad de captación en función del tipo de tumor y de las características propias de cada radiotrazador. Recientemente han adquirido importancia los compuestos organotecnecios, tanto por su iniquidad como por la superior calidad de las

imágenes gammagráficas. Finalmente, cabe destacar la progresión de la PET en el campo de la oncología, especialmente utilizando como marcador la FDG.

Tanto el  $^{99m}\text{Tc}$ -MIBI como el  $^{99m}\text{Tc}$ -TTF son sustratos de la Pgp habiendo demostrado tener utilidad en la valoración de la quimioresistencia mediada por la Pgp [100]. Asumiendo que la Pgp actúa como un transportador de drogas mediada por bomba de flujo, cabría esperar una estrecha relación entre la expresión de Pgp y el rápido lavado del agente quimioterápico de la célula. En este sentido se ha observado que el índice de lavado de  $^{99m}\text{Tc}$ -MIBI o de  $^{99m}\text{Tc}$ -TTF puede usarse para la identificación *in vivo* de la multiresistencia a drogas. Estos agentes también se han asociado con la multiresistencia a proteínas tras el estudio de su cinética celular en ausencia o en presencia de varios inhibidores de la multiresistencia a proteínas [101]. La concentración total de  $^{99m}\text{Tc}$ -TTF en los tumores es función de muchas variables incluyendo factores que afectan al índice de captación y factores relacionados con el lavado o la excreción de la célula. Por último, recientes estudios en este campo en diferentes tumores, han demostrado la capacidad de la FDG-PET para valorar la efectividad de forma más precoz que otras técnicas estructurales usadas habitualmente en la monitorización de la respuesta al tratamiento con quimioterapia [102-103] El inconveniente de la FDG-PET radica en que deben realizarse estudios secuenciales durante las fases iniciales tras la administración de la quimioterapia para observar los cambios en el grado de captación del tumor, mientras que, si se

demuestra su eficacia, con los compuestos organotecnecniados podría establecerse la utilidad del tratamiento con un único estudio basal.

En definitiva, no existe ninguna técnica no invasiva en la actualidad que permita definir con seguridad si existe enfermedad residual tras el tratamiento sistémico con quimioterapia. De la misma manera, tampoco existe ningún criterio que ayude a predecir previamente o en fases iniciales del tratamiento si éste va a ser o no efectivo de una forma individualizada para cada paciente con CPCNP. En este apartado se comentan aquellas técnicas que se han estudiado para intentar ofrecer ayuda en la monitorización o predicción de la respuesta.

#### **a) Tomografía Computerizada**

La TC es la técnica de imagen de referencia en el diagnóstico inicial y en el estudio de extensión locorregional del CPCNP. Sin embargo, la información que puede ofrecer en la re-estadificación de la enfermedad tras la cirugía, o tras tratamiento con quimioterapia neoadyuvante o paliativa, es baja. Tal y como demuestran los estudios publicados al respecto, la TC no puede diferenciar con facilidad los cambios quirúrgicos que conlleva la cirugía de resección pulmonar que se realiza en estos pacientes de la posibilidad de que exista tumor residual [104]. Por otra parte, recientes estudios comparando la TC con la FDG-PET demuestran que no es una técnica adecuada para monitorizar la respuesta al tratamiento quimioterápico, ya que

tiende a infravalorar la respuesta, especialmente como consecuencia de los fenómenos de necrosis que se asocian a los casos con una respuesta favorable y que a menudo la TC es incapaz de diferenciar de la presencia de tumor residual [105-106].

**b)  $^{201}\text{Tl}$**

La gammagrafía con  $^{201}\text{Tl}$  mediante técnica de SPECT se ha utilizado en la valoración de la respuesta al tratamiento por irradiación tumoral del CPCNP comparándolo con las mediciones del volumen tumoral mediante TC antes y después del tratamiento, así como el tiempo medio de supervivencia de los pacientes. La captación inicial de  $^{201}\text{Tl}$  en los pacientes con respuesta completa fue más bajo que en los grupos que no presentaron respuesta o respuesta parcial [107]. Del mismo modo, se encontró que el grado de captación de  $^{201}\text{Tl}$  fue menor después del tratamiento comparado con la captación inicial en el grupo de pacientes con respuesta completa, mientras que en los pacientes con otros tipos de respuesta no mostraron diferencias en el grado de captación antes y después del tratamiento [107]. Estos estudios sugieren que el  $^{201}\text{Tl}$  podría ser útil tanto en la predicción de la respuesta a la radioterapia así como ser un factor pronóstico en estos pacientes.

**c) Compuestos organotecnecidos**

En este grupo destacan el  $^{99m}\text{Tc}$ -MIBI y el  $^{99m}\text{Tc}$ -TTF, siendo éste último el objetivo de estudio de este proyecto de tesis doctoral y que se discute exhaustivamente en el siguiente apartado. El  $^{99m}\text{Tc}$ -MIBI ha mostrado una buena correlación con la presencia de Pgp en la célula tumoral. Sin embargo, como ya se ha comentado anteriormente, existen muchos otros factores que influyen en la aparición de fenómenos de multiresistencia. Estudios iniciales sugieren que el  $^{99m}\text{Tc}$ -MIBI también puede utilizarse como factor de predicción de respuesta a la quimioterapia en varios tipos de cáncer incluyendo el cáncer de pulmón [108], destacando el cáncer de mama como el tumor más estudiado [109-112].

Un estudio realizado en 19 pacientes con CPCP sugiere que el  $^{99m}\text{Tc}$ -MIBI es más efectivo que el  $^{201}\text{Tl}$  para evaluar la respuesta a la quimioterapia [113]. El mismo grupo de trabajo obtuvo resultados similares en 38 pacientes con CPCNP coincidiendo en que el  $^{201}\text{Tl}$  era ineficaz como factor predictor de la respuesta, mientras que el grado de captación y la retención de  $^{99m}\text{Tc}$ -MIBI en el tumor podían determinar si el paciente era capaz de responder al tratamiento o por el contrario mostraba nula respuesta o progresión de la enfermedad [114].

**d)  $^{67}\text{Ga}$**

La gammagrafía con  $^{67}\text{Ga}$  se utiliza con éxito para evaluar la presencia de enfermedad residual en la enfermedad de Hodgkin, mostrando una capacidad similar y en algunos casos superior a la TC, para distinguir entre enfermedad activa (tumor viable) y buena respuesta a la quimioterapia (necrosis o cambios por fibrosis) [34-35, 115]. Sin embargo, los estudios publicados hasta el momento no han demostrado resultados positivos en el CPCNP que justifiquen su aplicabilidad en la práctica clínica [33].

**e) Tomografía por emisión de positrones**

La utilidad de la FDG-PET en la monitorización de la respuesta al tratamiento en pacientes sometidos a quimioterapia y/o radioterapia se ha incrementado progresivamente en los últimos años. Numerosos estudios han mostrado que la FDG-PET es un test una con elevada exactitud para diferenciar tumor viable de cambios por fibrosis secundarios al tratamiento. Además, la posibilidad de obtener métodos cuantitativos de la captación de FDG, puede permitir su aplicación en la predicción de la respuesta y en el pronóstico del paciente en etapas muy precoces durante el curso del tratamiento [116]. La FDG-PET se ha demostrado eficaz en la monitorización del tratamiento en gran variedad de tumores incluyendo el cáncer de

mama [117], esófago [118-119], pulmón [120-121], cabeza y cuello [1118-1119] y linfoma [122].

Los estudios realizados en cáncer de pulmón sugieren que la FDG-PET puede utilizarse de forma fiable para caracterizar lesiones tumorales, evaluar la extensión del proceso, estadificación, diferenciar entre recurrencia y efectos secundarios al tratamiento, así como monitorizar la eficacia de la terapia administrada [123-127].

Recientemente la FDG-PET ha empezado a utilizarse para planificar el campo a irradiar mediante radioterapia en el CPCNP, mostrando utilidad para definir el volumen tumoral activo y el área que debe ser incluida para realizar el tratamiento con radioterapia [128]. Estudios dirigidos al potencial de esta técnica en pacientes con CPCNP candidatos a quimioterapia, coinciden en otorgar a la FDG-PET unos valores de sensibilidad y especificidad superiores a los obtenidos mediante TC en la evaluación de enfermedad residual locoregional o a distancia y como factor pronóstico tras el tratamiento con quimioterapia, ya sea con fines terapéuticos o paliativos [120-121].

La FDG-PET se basa en el alto consumo metabólico de glucosa de las células tumorales comparado con las células sanas. Debido a que los cambios metabólicos que se producen en el tumor por efecto del tratamiento con quimioterapia son más rápidos que los cambios de tamaño del tumor, la FDG-PET permite diagnosticar de forma más precoz el tipo de respuesta terapéutica del paciente comparado con las

técnicas de imagen como la TC o la RM, que se basan fundamentalmente en los cambios anatómicos que se producen en el tumor. Higashi y cols han demostrado en pacientes con cáncer de pulmón que la captación tumoral de FDG es mayor en los casos con niveles bajos de Pgp y sugieren que esto se debe básicamente que la Pgp muestra una mayor expresión en los tumores bien diferenciados, mientras que la FDG tiene una mayor afinidad por los tumores indiferenciados [129]. Los resultados iniciales observados en este sentido en el CPCNP indican que unos niveles basales elevados de captación en la FDG-PET suponen un peor pronóstico, mientras que una reducción de la captación tras el tratamiento supone una mayor posibilidad de respuesta [130].

#### **4 GAMMAGRAFÍA CON $^{99m}\text{Tc}$ -TETROFOSMINA**

El  $^{99m}\text{Tc}$ -TTF se utiliza de forma rutinaria en cualquier servicio de Medicina Nuclear para el estudio de la perfusión miocárdica en pacientes con cardiopatía isquémica. Por otra parte, se han realizado estudios que demuestran que el  $^{99m}\text{Tc}$ -TTF es un radiotrazador que se incorpora a diversos tumores, como el carcinoma hepatocelular [131-134] o de tiroides [1135-136], el adenoma de paratiroides [137], sarcoma [138-141], tumores mediastínicos [137], neoplasia de mama [142-145] y neoplasia pulmonar de célula no pequeña [146-149].

El  $^{99m}\text{Tc}$ -TTF es un complejo catiónico lipofílico que se comporta como un sustrato que se incorpora al interior de la célula tumoral a través de una bomba de flujo que depende directamente de la Pgp [150]. Todo y que no se duda de la importancia de la Pgp en el transporte de fármacos a través de la membrana citoplasmática, los mecanismos que se relacionan con este proceso no se conocen con detalle. Debido a la gran similitud que existe entre el  $^{99m}\text{Tc}$ -TTF y el  $^{99m}\text{Tc}$ -MIBI, el mecanismo de entrada del  $^{99m}\text{Tc}$ -TTF en la célula tumoral muy probablemente también dependerá de la presencia de Pgp en su membrana citoplasmática [151].

No hay actualmente técnicas de diagnóstico no invasivas disponibles para evaluar la respuesta a la quimioterapia en la mayoría de tumores malignos. Estudios iniciales indican que el  $^{99m}\text{Tc}$ -TTF tiene un rol potencial en el diagnóstico así como en el

seguimiento de varias neoplasias. Teniendo en cuenta la relación entre el  $^{99m}\text{Tc}$ -TTF y la multiresistencia a drogas, estudios recientes exploran la utilidad de la captación tumoral de  $^{99m}\text{Tc}$ -TTF y el lavado de este radiotrazador del tumor en la valoración de la respuesta al tratamiento con quimioterapia, mostrando resultados prometedores [152-153]. Sin embargo, las series estudiadas son demasiado cortas para establecer conclusiones definitivas.

#### **4.1 $^{99m}\text{Tc}$ -Tetrofosmina en oncología**

Esta sección muestra los datos más relevantes de las publicaciones relacionadas con el uso del  $^{99m}\text{Tc}$ -TTF en la valoración de la respuesta a la quimioterapia y en la monitorización del tratamiento de los tumores malignos.

##### ***a) Linfoma***

La afinidad del  $^{99m}\text{Tc}$ -TTF para tumores sólidos está bien documentada. Los trabajos de investigación iniciales sugieren que este radiotrazador es apropiado para la detección del linfoma maligno, especialmente para las lesiones supradiaphragmáticas [154]. El  $^{99m}\text{Tc}$ -TTF se ha mostrado útil para la monitorización del tratamiento con quimioterapia en el linfoma de Hodgkin [155], así como para la predicción de la respuesta a la quimioterapia tanto en el linfoma de Hodgkin como en los linfomas no Hodgkinianos. Sun y cols [152] estudiaron la repuesta a la quimioterapia en 25

pacientes con linfoma en diferentes estadios utilizando como referencia el seguimiento clínico y radiológico. Los resultados mostraron una captación de  $^{99m}\text{Tc-TTF}$  superior en aquellos pacientes con una buena respuesta ( $3.23 \pm 0.56$ ) comparado con aquellos en los que la respuesta fue pobre ( $1.18 \pm 0.11$ ).

***b) Cáncer de mama***

Se ha establecido una buena correlación entre la captación de  $^{99m}\text{Tc-MIBI}$  y los índices de lavado con la presencia de multiresistencia. Además, la captación de  $^{99m}\text{Tc-MIBI}$  en el cáncer de mama es también un buen predictor de la respuesta a la quimioterapia [112]. Sin embargo, el  $^{99m}\text{Tc-TTF}$  no ha sido investigado en este campo, aunque parece que existe una buena correlación con los niveles de expresión de la Pgp. Sun y cols [151] estudiaron 30 mujeres afectadas de un cáncer de mama ductal infiltrante obteniendo índices de captación más bajos en pacientes con sobre-expresión de Pgp determinada mediante técnicas de inmunohistoquímica.

***c) Melanoma***

Meghdadi y cols [156] compararon *in vitro* la captación de  $^{99m}\text{Tc-TTF}$  en líneas celulares de melanoma y de cáncer de mama. Los resultados mostraron una elevada captación en las líneas celulares de melanoma sugiriendo que el  $^{99m}\text{Tc-TTF}$  podía ser un agente prometedor para el diagnóstico por la imagen del melanoma. Se ha

publicado una nota clínica de un caso de melanoma indicando que el  $^{99m}\text{Tc}$ -TTF fue una herramienta útil en el seguimiento de la respuesta a la quimioterapia en un caso estudiado [157].

#### **4.2 $^{99m}\text{Tc}$ -tetrofosmina en el cáncer de pulmón**

El  $^{99m}\text{Tc}$ -TTF se ha demostrado útil en la monitorización de la respuesta a la quimioterapia en pacientes con CPCNP así como en pacientes con CPCP [149]. La captación de  $^{99m}\text{Tc}$ -TTF ha mostrado una correlación con los niveles de Pgp [146], tal y como ya se observó con la captación de  $^{99m}\text{Tc}$ -MIBI [158]. Estudios recientes muestran que el  $^{99m}\text{Tc}$ -TTF puede predecir con exactitud la respuesta a la quimioterapia antes de iniciarse el tratamiento en cáncer de pulmón, ya sea el CPCNP o el CPCP. Dos estudios con 30 y 20 pacientes con CPCP [159-160] y un estudio con pacientes con CPCNP con 20 pacientes [153] mostraron un valor medio de captación mayor en el grupo respondedor con respecto al grupo que no respondió a la quimioterapia con diferencias estadísticamente significativas.

En este campo, los índices de lavado tumoral del  $^{99m}\text{Tc}$ -TTF están siendo investigados como indicadores potenciales, pero los resultados hasta el momento son controvertidos. Hay trabajos que no han encontrado que el lavado de  $^{99m}\text{Tc}$ -TTF del tumor aporte información adicional sobre el comportamiento de la quimioterapia en pacientes con CPCNP [153]. Sin embargo, hay otros autores que mostraron índices de retención más altos en pacientes con una respuesta a la quimioterapia favorable [161].

## **5 JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO**

Actualmente no se dispone de una técnica no invasiva idónea para evaluar con exactitud la respuesta a la quimioterapia en la mayoría de los tumores malignos. El fenómeno de la multiresistencia a drogas que se considera el principal causante de este problema depende de diferentes factores, lo que dificulta aún más poder establecer una terapia adecuada para cada paciente de una forma individualizada. El hecho de que la respuesta a la quimioterapia sea o no favorable en los tumores malignos es un hecho crucial.

La posible utilidad de la gammagrafía con  $^{99m}\text{Tc}$ -TTF en este campo se ha estudiado en cáncer de mama, linfoma, melanoma y en cáncer de pulmón. En la mayoría de estudios publicados se ha encontrado una correlación inversa entre la expresión de la Pgp en el CPCNP (factor fundamental vinculado a la multiresistencia a drogas) y la captación tumoral de  $^{99m}\text{Tc}$ -TTF. Además, algunos autores han observado en estudios iniciales que el  $^{99m}\text{Tc}$ -TTF podría ser útil tanto en la monitorización como en la predicción de la respuesta a la quimioterapia en este tipo de tumor. Sin embargo, aunque los resultados sean muy prometedores, todavía hacen falta trabajos con series de pacientes más largas para determinar hasta que punto la gammagrafía con  $^{99m}\text{Tc}$ -TTF puede tener utilidad en el manejo clínico de estos pacientes.

## **HIPÓTESIS Y OBJETIVOS**

### **1 HIPÓTESIS**

La hipótesis de este trabajo de investigación es que la gammagrafía con  $^{99m}\text{Tc}$ -TTF puede ser un predictor válido de la respuesta al tratamiento con quimioterapia en pacientes no operables con CPCNP.

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo general**

El objetivo principal de esta tesis doctoral es analizar si la gammagrafía con  $^{99m}\text{Tc}$ -TTF puede predecir y monitorizar la respuesta al tratamiento con quimioterapia en pacientes con CPCNP.

### **2.2 Objetivos secundarios**

1. Valorar si existen diferencias en el índice de captación de  $^{99m}\text{Tc}$ -TTF mediante SPECT y el tipo histológico de cáncer de pulmón.
2. Evaluar si el índice de captación mediante SPECT y/o el índice de lavado planar de  $^{99m}\text{Tc}$ -TTF dependen de los niveles tumorales de Pgp.
3. Determinar si el índice de captación mediante SPECT y/o el índice de lavado planar de  $^{99m}\text{Tc}$ -TTF puede predecir la respuesta al tratamiento con quimioterapia.

4. Valorar si el índice de captación mediante SPECT y/o el índice de lavado planar de  $^{99m}\text{Tc}$ -TTF es útil para monitorizar la respuesta al tratamiento con quimioterapia.
  
5. Analizar si el índice de captación mediante SPECT y/o el índice de lavado planar de  $^{99m}\text{Tc}$ -TTF tiene relación con el pronóstico de los pacientes con CPCNP.

## **MATERIAL Y MÉTODO**

### **1 POBLACIÓN A ESTUDIO**

La población a estudio está constituida por dos grupos diferentes de pacientes en función de dos objetivos primordiales. Un primer grupo está formado por pacientes candidatos a cirugía electiva en el que se tratará de evaluar si la gammagrafía con  $^{99m}\text{Tc}$ -TTF es capaz de identificar la presencia de factores de resistencia tumoral a través de la determinación de la Pgp (Grupo quirúrgico). Un segundo grupo está formado por pacientes candidatos a quimioterapia electiva en que se analizará si la gammagrafía con  $^{99m}\text{Tc}$ -TTF puede predecir la respuesta al tratamiento con quimioterapia (Grupo quimioterápico).

- ***GRUPO QUIRÚRGICO***

#### **a) Criterios de inclusión**

- Pacientes con confirmación histológica de CPCNP o sospecha de una alta probabilidad de la naturaleza tumoral de la lesión.
- Confirmación de la operabilidad electiva del tumor (estadios I-II).

**b) Criterios de exclusión**

- Mujeres embarazadas.
  
- Pacientes con metástasis conocidas y demostradas por distintas técnicas diagnósticas y por tanto no candidatos a cirugía.
  
- Pacientes afectos de CPCNP con cirugía electiva contraindicada.
  
- Presencia de otra neoplasia ya sea detectada previamente o en el curso del diagnóstico del CPCNP.

- ***GRUPO QUIMIOTERÁPICO***

**a) Criterios de inclusión**

- Pacientes con confirmación histológica de CPCNP.
  
- Confirmación de la no operabilidad del tumor.

- Pacientes candidatos a tratamiento con quimioterapia electiva de forma neoadyuvante (estadio IIIA) o paliativa (estadios IIIB o IV).

**b) Criterios de exclusión**

- Mujeres embarazadas.
- Pacientes afectos de CPCNP con quimioterapia contraindicada.
- Presencia de otra neoplasia ya sea previamente o en el curso del diagnóstico del CPCNP.
- Tratamiento con quimioterapia o radioterapia previas.

## **2 PROTOCOLO DE ESTUDIO**

### **2.1 Consentimiento informado**

Todos los pacientes firmaron un consentimiento informado conforme autorizaban ser incluidos en este estudio. Los pacientes fueron reclutados tras su revisión y aprobación por el Comité de Cáncer del Pulmón del Hospital Clínic integrado por los Servicios de Coordinación Oncológica, Neumología y Cirugía Torácica.

### **2.2 Algoritmo diagnóstico**

Los pacientes diagnosticados de CPCNP se clasificaron en dos grupos teniendo en cuenta el tratamiento inicial propuesto por el Comité de Cáncer de Pulmón tras el estudio de extensión. A todos los pacientes se les realizó inicialmente una gammagrafía basal con  $^{99m}\text{Tc-TTF}$ .

- Aquellos pacientes candidatos a cirugía electiva se incluyeron en el Grupo quirúrgico y tras la intervención quirúrgica se determinó la Pgp por citometría de flujo de una muestra del tumor (Figura 2).

- Aquellos pacientes candidatos a quimioterapia electiva se incluyeron en el Grupo quimioterápico y tras el tratamiento con quimioterapia se realizó una nueva gammagrafía con  $^{99m}\text{Tc}$ -TTF y se valoró la eficacia del tratamiento quimioterápico (Figura 2).

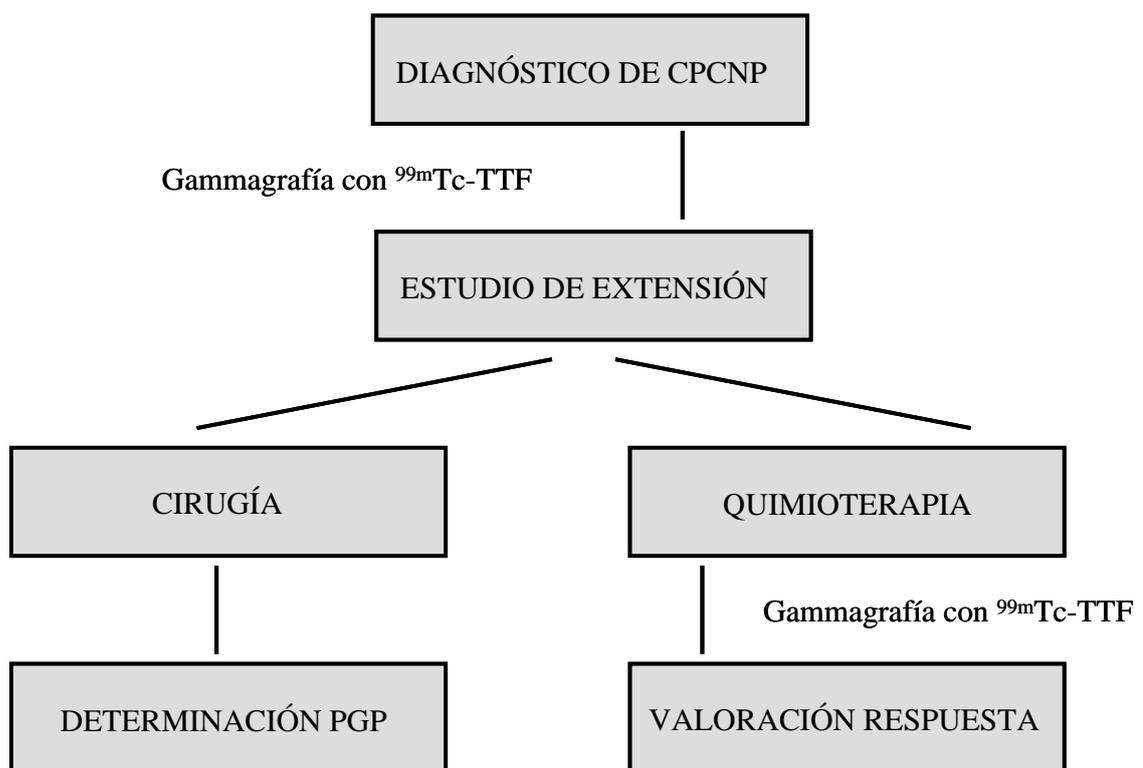


Figura 2: Esquema global de las diferentes fases que componen este estudio

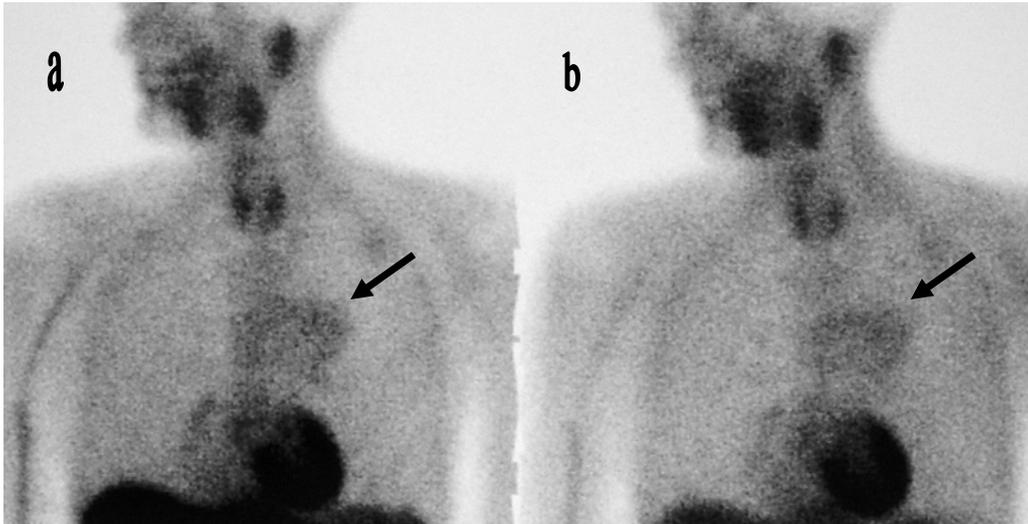
### **3 METODOLOGÍA DE INVESTIGACIÓN**

#### **3.1 Gammagrafía con $^{99m}\text{Tc}$ -tetrofosmina**

Se inyectó a cada paciente 888 MBq (24 mCi) de  $^{99m}\text{Tc}$ -TTF por vía intravenosa periférica. A los 15 minutos y a las 2 horas post-inyección se realizaron las imágenes planares precoz y tardía, respectivamente. Una vez finalizada esta última se inició seguidamente la imagen de SPECT. La adquisición de las imágenes gammagráficas se realizó en una gammacámara rotatoria de dos cabezales (Hélix, GE Medical Systems), equipada con colimadores de baja energía y alta resolución. En el grupo quimioterápico se realizó una segunda gammagrafía con  $^{99m}\text{Tc}$ -TTF al final del tratamiento en las mismas condiciones en que se realizó la gammagrafía basal.

- **Imagen planar**

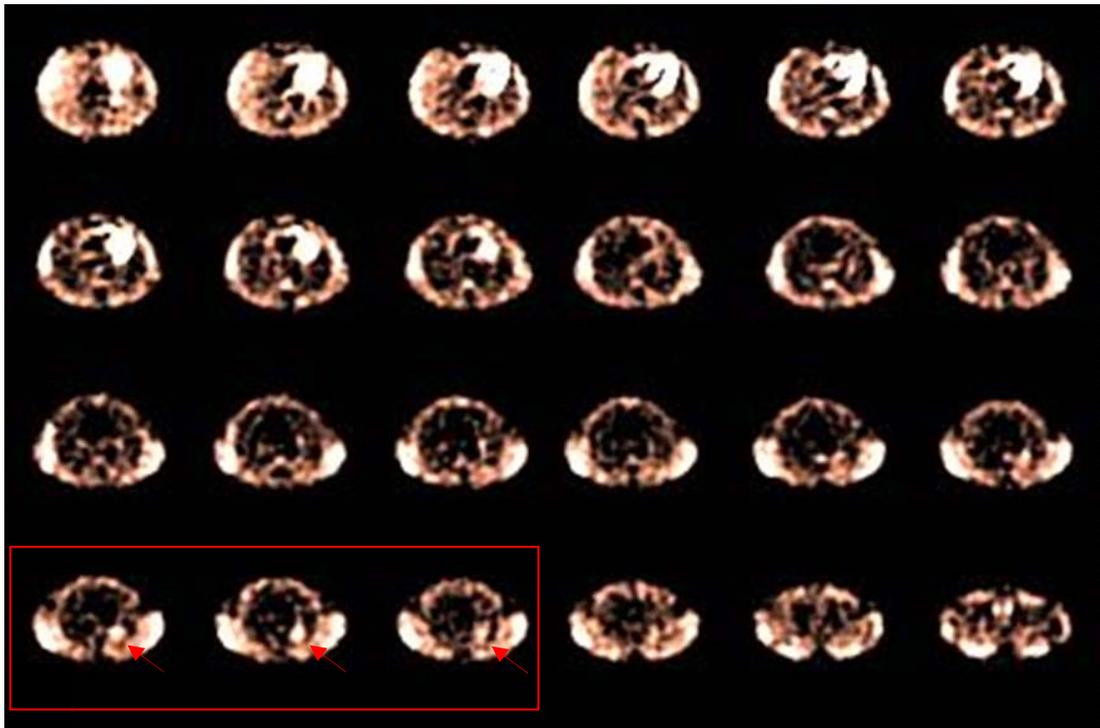
Se efectuaron imágenes planares precoces y tardías con un tiempo de adquisición de 300 segundos por imagen, a los 15 minutos y a las 2 horas post-inyección del radiotrazador (Figura 3).



**Figura 3:** *Gammagrafía planar en proyección anterior en un paciente con captación tumoral intensa (flechas) en el hilio izquierdo visible en fase precoz (a) y tardía (b).*

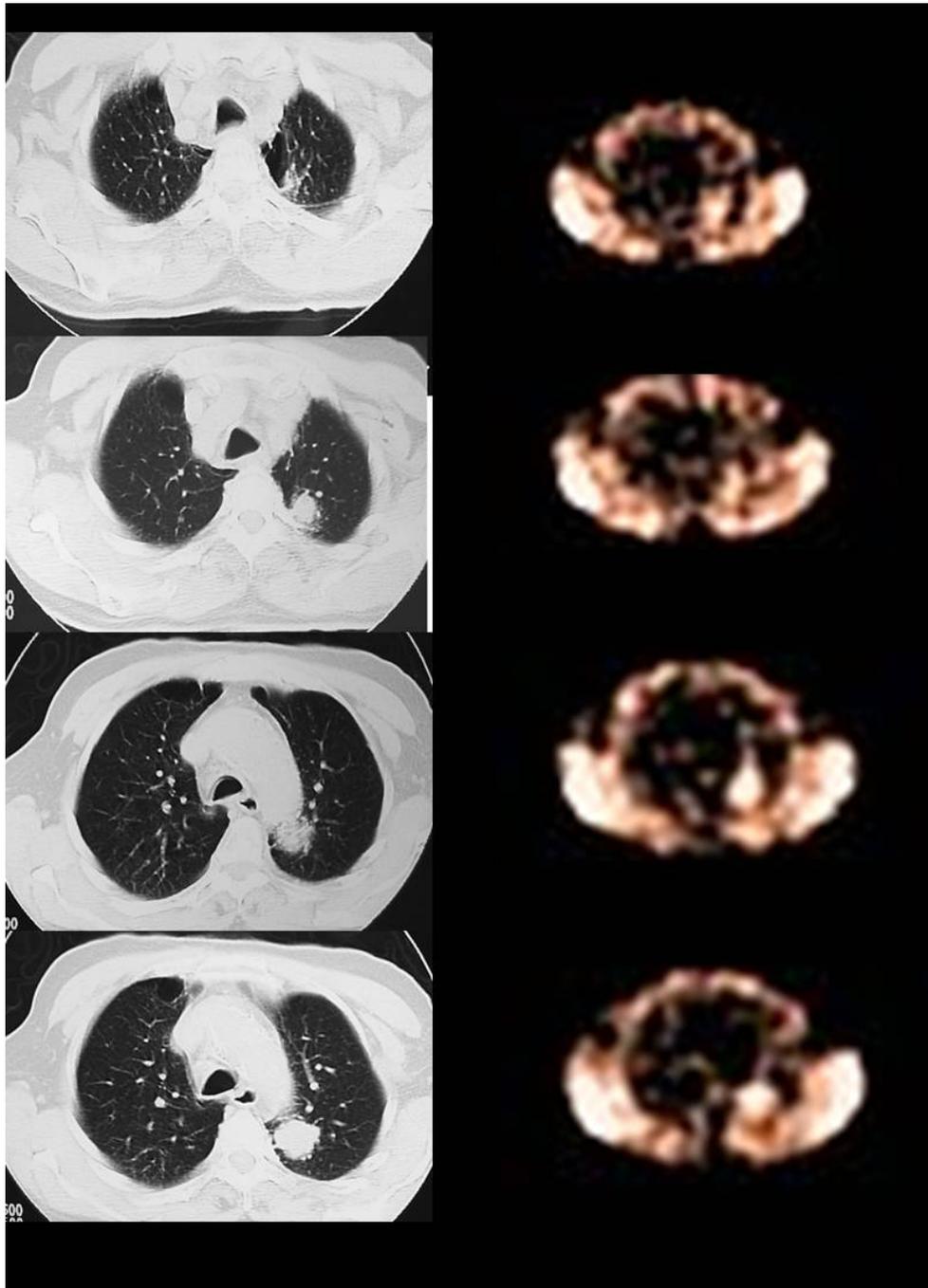
- **Imagen tomográfica mediante técnica SPECT**

Se realizaron imágenes mediante técnica de SPECT a las 2 horas post-inyección del radiotrazador inmediatamente después de la adquisición de la gammagrafía planar tardía. La adquisición de la SPECT se efectuó en la misma gammacámara usando los dos detectores. El paciente se situó en decúbito supino y con los brazos elevados. Los detectores efectuaron una rotación de 360° con un tiempo por imagen de 30 segundos cada 6° (60 imágenes). Se utilizó una matriz de 128X128. La reconstrucción de las imágenes transaxiales se realizó mediante retroproyección filtrada usando un filtro tipo butterworth 0.25-5 (Figura 4).



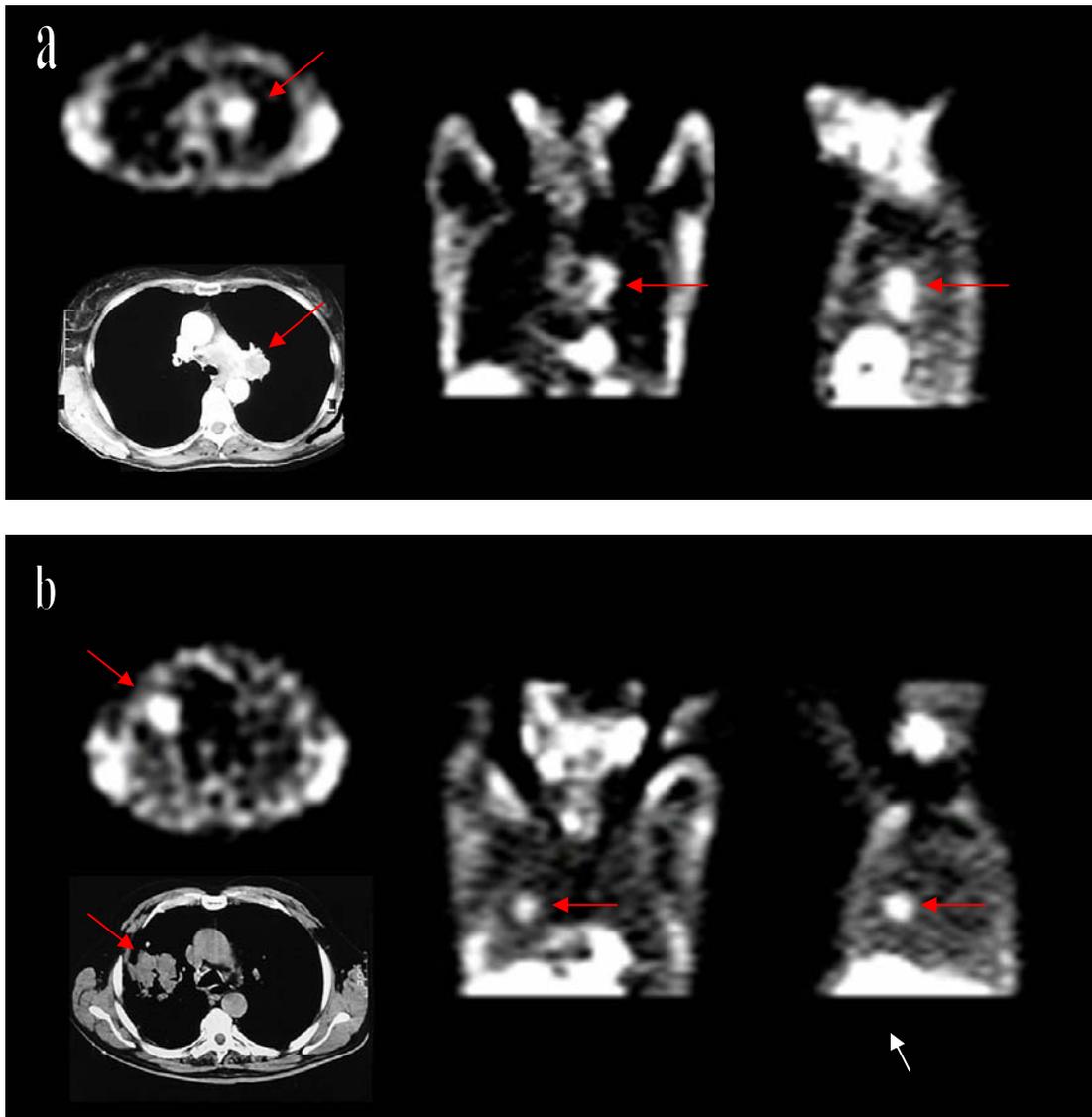
**Figura 4:** Imágenes tomogammagráficas mediante SPECT en su reconstrucción transaxial desde la cúpula hepática hasta los ápex pulmonares. Se observa una imagen activa en el ápex pulmonar izquierdo (flechas).

La interpretación de los resultados para la correcta identificación del tumor, así como para la identificación de adenopatías hiliares o mediastínicas se basó en los hallazgos de la TC que constituyó el indicador anatómico de la localización de la SPECT (Figura 5).



**Figura 5:** Cortes transversales selectivos sobre el tumor con sus cortes correspondientes de TC en el mismo caso de la figura 3

El procesado de las imágenes tomográficas permite la reconstrucción de las imágenes de la SPECT y su visualización en los tres ejes del espacio (transversal, coronal, sagital) (Figura 6).



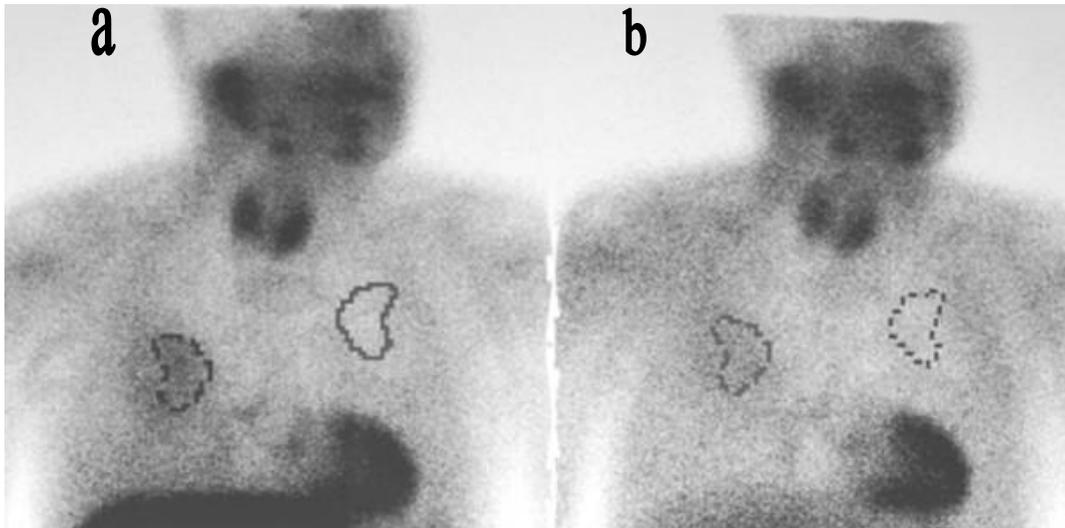
**Figura 6:** En esta imagen se observa en la SPECT en el eje transversal, coronal y sagital un tumor (flechas) que se sitúa por TC en el hilio izquierdo (a) y un segundo caso con un tumor que por TC se localiza en el lóbulo superior derecho (b)

### **3.2 Cuantificación de la captación gammagráfica**

Los resultados tanto de las imágenes de la gammagrafía planar como de las imágenes obtenidas mediante SPECT se valoraron de forma cuantitativa. Se obtuvo un índice de lavado del radiotrazador en el tumor (imágenes planares) y un índice de captación del tumor (imágenes de SPECT).

- **Imagen planar**

Se escogió la proyección planar (anterior o posterior) con mejor visualización del tumor y se dibujó una región de interés (ROI) alrededor de la lesión. Seguidamente se trazó una ROI de fondo especular en el pulmón contralateral con el fin de sustraer el fondo radiactivo. Esto debe realizarse debido a que se trata de imágenes bidimensionales y en la adquisición se suma la actividad no deseada que existe por delante y por detrás del tumor (Figura 7).



**Figura 7:** Imagen gammagráfica planar precoz (a) y tardía (b) con sus ROIs correspondientes delimitando el tumor y el fondo radiactivo en el pulmón contralateral

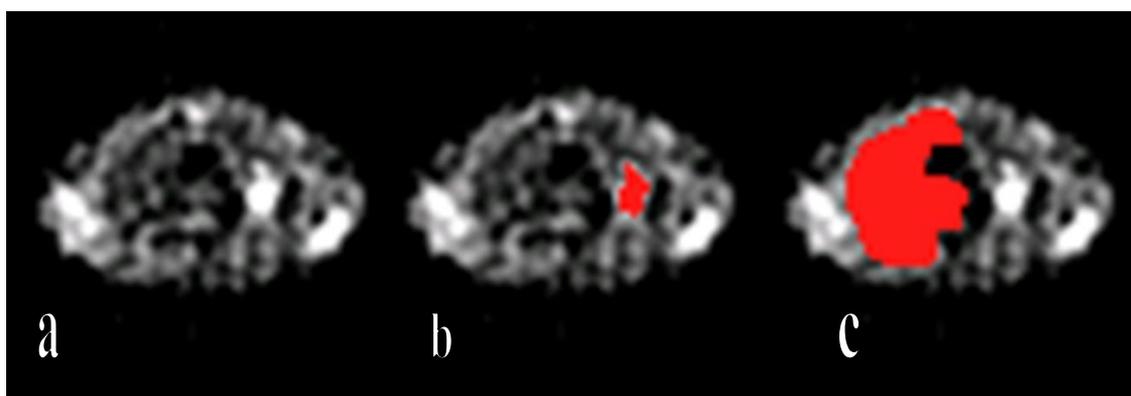
Se valoró el *índice de lavado planar* del tumor comparando en la imagen precoz y en la imagen tardía la relación entre la captación tumoral y la captación en el pulmón sano contralateral, empleando la expresión siguiente:

$$\frac{\text{cpm (tumor 2h)} / \text{cpm (pc 2h)} - \text{cpm (tumor 15m)} / \text{cpm (pc 15m)}}{\text{cpm (tumor 15m)} / \text{cpm (pc 15m)}} \times 100$$

*cpm: cuentas por minuto; pc: pulmón contralateral*

- **Imagen tomográfica mediante SPECT**

Se cuantificó el grado de captación del tumor obteniendo el *índice de captación mediante SPECT* como la relación entre la captación en el tumor y la captación en el pulmón contralateral en una imagen de SPECT según el eje transversal, en el corte donde se visualizaba mejor la lesión tumoral (mayor intensidad de captación y mayor diámetro). Para obtener la captación del tumor se creó una ROI alrededor del mismo y otra englobando el pulmón contralateral sano (Figura 8). La estimación de la captación en el pulmón contralateral se obtuvo delimitando un área lo más grande posible dentro del pulmón, de forma que al realizar el cociente se introduzca el mínimo error. Para esto último se delimitó el pulmón y para evitar la influencia de la captación de los tejidos circundantes se redujo de tamaño dos píxeles de forma automática.



**Figura 8:** En estas imágenes de SPECT se aprecia captación de radiotrazador en un tumor situado en el pulmón izquierdo (a). ROI alrededor de la lesión tumoral (b) y otra en el pulmón contralateral sano (c) realizada con el fin de sustraer el fondo radioactivo. El índice de captación fue de 2.4

La fórmula empleada para obtener el índice de captación mediante SPECT (IC) ha sido la siguiente:

$$\text{IC} = \frac{\text{tumor (cpm / píxel)}}{\text{pulmón contralateral (cpm / píxel)}}$$

*cpm: cuentas por minuto*

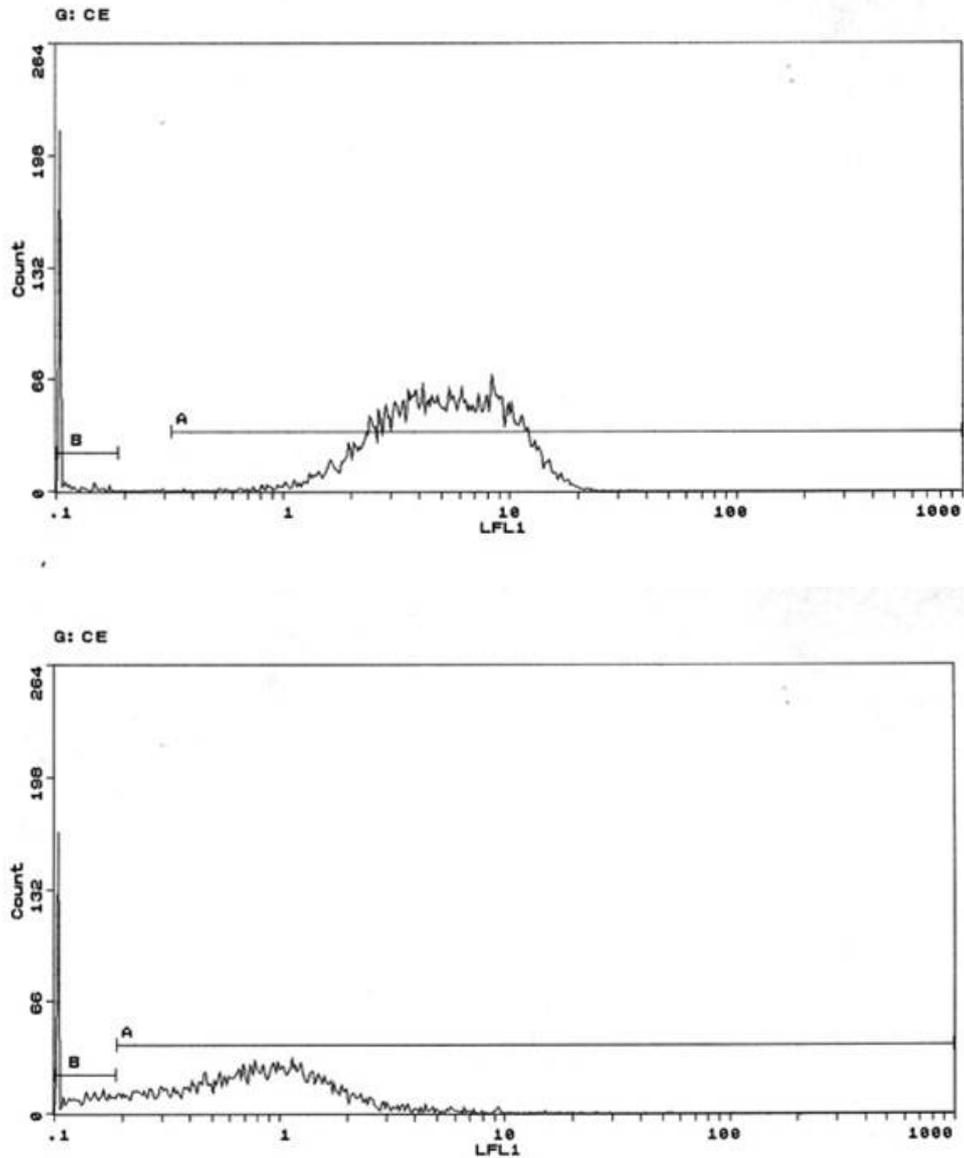
### **3.3 Determinación de la glicoproteína-P**

Para la determinación de la Pgp se incluyeron pacientes con confirmación histológica de CPCNP candidatos a intervención quirúrgica electiva. Previamente a la cirugía (entre 24 y 72 horas antes), se realizó un estudio gammagráfico con  $^{99\text{m}}\text{Tc-TTF}$  a todos los pacientes. En todos los casos se resecó el tumor y se determinó la Pgp tanto de una muestra del tumor como de tejido pulmonar sano.

La Pgp se midió mediante citometría de flujo utilizando el Pgp antibody monoclonal mouse anti-human conjugado con fluoresceína. Se trata del “Clone 4E3 Isotype IgG2A” (Anticuerpo primario) y el “Goat antimouse IgG2A/FITC” (Anticuerpo secundario). Se utilizaron muestras del tejido

resecado en las intervenciones quirúrgicas que fueron previamente sometidas a formolación y parafinaje. El análisis de la presencia de la Pgp se efectuó mediante representación en gráficos y se determinó el porcentaje de presencia de Pgp como el área bajo la curva. Se despreció un porcentaje basal de hasta el 5% para evitar la posible presencia inespecífica de Pgp que podría incluir un error en su medición (Figura 9).

Dado que la Pgp muestra una gran variabilidad en su expresión y está presente en la mayoría de tipos celulares del organismo [86-88], incluyendo las células pulmonares, se realizó determinación de la Pgp en células pulmonares sanas del pulmón o sección de pulmón extraído en el acto quirúrgico para evaluar la posible influencia de la expresión de Pgp basal existente en cada paciente.



**Figura 9:** Estos gráficos ilustran el método de cuantificación de la presencia de Pgp utilizado mediante citometría de flujo en un caso de CPCNP con un 75% de expresión de esta glicoproteína en la célula tumoral (gráfico superior) y un 21% en tejido pulmonar sano (gráfico inferior). El área bajo la curva donde se mide la presencia de Pgp y un área del 5% que se desprecia para evitar la presencia inespecífica de Pgp vienen indicados por A y B, respectivamente

### **3.4 Análisis de la respuesta a la quimioterapia**

#### **3.4.1 Esquema de tratamiento**

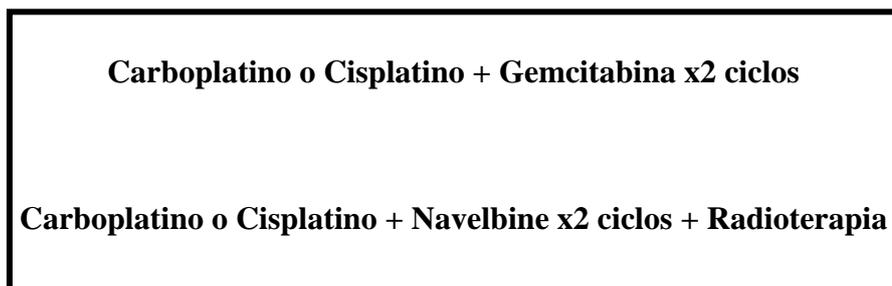
- Estadio IIIA: Los pacientes fueron tratados con quimiorradioterapia. Se efectuaron 6 ciclos de quimioterapia combinando cisplatino (80 mg/m<sup>2</sup>) el día 1 con ifosfamida (1.5 g/m<sup>2</sup>) y VP-16 (100 mg/m<sup>2</sup>) durante 3 días con radioterapia hiperfraccionada acelerada modificada, con una dosis de 40.2 Gy (1.8 + 0.88 Gy) administrado en tres semanas de forma concurrente con el segundo ciclo de quimioterapia.

Las pautas de quimiorradioterapia para este estadio se resumen en el esquema siguiente:

<p><b>Cisplatino + Ifosfamida + VP-16 x2 ciclos</b></p> <p><b>Cisplatino + Ifosfamida + VP-16 x2 ciclos + Radioterapia</b></p> <p><b>Cisplatino + Ifosfamida + VP-16 x2 ciclos</b></p>
--

- Estadio IIIB: Los pacientes fueron tratados con quimiorradioterapia. Se efectuaron 2 ciclos de quimioterapia combinando carboplatino (400 mg/m<sup>2</sup>) o cisplatino (100 mg/m<sup>2</sup>) el día 1 con gemcitabina (1000 mg/m<sup>2</sup>) los días 1, 8 y 15 durante 28 días, seguido de radioterapia concurrente con quimioterapia con carboplatino (400 mg/m<sup>2</sup>) o cisplatino (100 mg/m<sup>2</sup>) el día 1 con navelbine (30 mg/m<sup>2</sup>) los días 1 y 8 durante 28 días en otros dos ciclos. Se administró radioterapia hiperfraccionada acelerada tipo “boost “concomitante en el segundo ciclo de quimioterapia (1.8 Gy + 0.88 x 23 días hasta 61.64 Gy).

Las pautas de quimiorradioterapia para este estadio se resumen en el esquema siguiente:



- Estadio IV: Los pacientes fueron tratados con quimioterapia. Se efectuaron 3 ciclos de quimioterapia combinando carboplatino (400

mg/m<sup>2</sup>) o cisplatino (100 mg/m<sup>2</sup>) el día 1 con gemcitabina (1000 mg/m<sup>2</sup>) los días 1, 8 y 15 durante 28 días.

Las pautas de quimioterapia para este estadio se resumen en el esquema siguiente:

**Cisplatino o Carboplatino + Gemcitabina x3 ciclos**

### **3.4.2 Valoración de la respuesta**

La respuesta al tratamiento se valoró mediante los cambios de tamaño del tumor utilizando la TC a través de la medición bidimensional de la lesión antes y después del tratamiento siguiendo los criterios de WHO [162] obteniendo 4 categorías de respuesta que se detallan a continuación:

1. Respuesta completa (desaparición de la lesión).
2. Respuesta parcial (reducción del tumor igual o superior al 50% de los productos de sus dos diámetros mayores perpendiculares medidos antes y después del tratamiento).

3. Estabilización de la lesión (reducción del tumor insuficiente para considerarse una respuesta parcial o una progresión).

4. Progresión de la enfermedad (aumento del tumor superior a un 30% del producto de sus dos diámetros mayores perpendiculares medidos antes y después del tratamiento).

Se consideraron dos tipos de respuesta para valorar la relación de ésta con los resultados obtenidos en el estudio gammagráfico con  $^{99m}\text{Tc}$ -TTF:

- Se consideró que el tratamiento con quimioterapia había mostrado una respuesta favorable (“sí respuesta”) en las siguientes situaciones:

- Respuesta completa.

- Respuesta parcial.

- Se consideró que el tratamiento con quimioterapia había mostrado una respuesta desfavorable (“no respuesta”) en las siguientes situaciones:

- Estabilización.

- Progresión.

### **3.5 Interpretación de los resultados**

Para determinar si había relación entre el tipo histológico del CPCNP y la captación tumoral de  $^{99m}\text{Tc}$ -TTF, se comparó el índice de captación mediante SPECT de los dos tumores más frecuentes encontrados que fueron el carcinoma escamoso y el adenocarcinoma.

Para evaluar si la presencia de Pgp guarda relación con la captación de  $^{99m}\text{Tc}$ -TTF se midió el índice de lavado planar y el índice de captación mediante SPECT y se relacionó con los niveles de Pgp.

Para determinar si la gammagrafía con  $^{99m}\text{Tc}$ -TTF es capaz de predecir la eficacia de la quimioterapia se evaluó el índice de captación mediante SPECT y el índice de lavado planar antes de iniciar el tratamiento y se relacionó con el tipo de respuesta mostrado.

Para valorar la capacidad de la gammagrafía para monitorizar el tratamiento con quimioterapia se comparó el índice de captación mediante SPECT y el índice de lavado planar de  $^{99m}\text{Tc}$ -TTF antes y después del tratamiento en función del tipo de respuesta.

Para establecer la capacidad pronóstica de la gammagrafía con  $^{99m}\text{Tc}$ -TTF se calculó la supervivencia media de los pacientes y se relacionó con el índice de captación mediante SPECT y el índice de lavado planar.

#### **4 ANÁLISIS ESTADÍSTICO**

1. Las diferencias entre las variables “índice de captación mediante SPECT” e “índice de lavado planar” de la lesión dependiendo del tipo histológico del CPCNP se ha valorado mediante comparación de medias con la prueba t-Student.

2. La asociación entre las variables “índice de captación mediante SPECT” e “índice de lavado planar” de la lesión con la expresión de Pgp se ha valorado mediante el coeficiente de correlación de Pearson y el modelo de regresión lineal.

3. La capacidad de las variables “índice de captación mediante SPECT” e “índice de lavado planar” para predecir el éxito o el fracaso del tratamiento con quimioterapia se ha realizado mediante la estimación puntual y por intervalo de la curva ROC. El punto de corte se ha estimado bajo el criterio de obtener tanto una máxima sensibilidad como especificidad, y se ha estimado por intervalo este punto de corte utilizando la técnica *bootstrap*.

4. La asociación entre la variable “cambio en el índice de captación mediante SPECT” y “cambio en el índice de lavado planar” de la lesión pre-post tratamiento con quimioterapia respecto la respuesta se ha evaluado

utilizando el test de Mann-Whitney. También se ha evaluado la asociación entre un cambio positivo o negativo con la respuesta utilizando el test exacto de Fisher.

5. El análisis de supervivencia se ha realizado usando el estimador de Kaplan-Meier. Las curvas de supervivencia se han comparado mediante el log-rank test. Las estimaciones por intervalo se han realizado con una confianza del 95% i el contraste de hipótesis se ha llevado a término con un nivel de significación del 5%.

Todos los cálculos se realizaron utilizando el paquete estadístico SPSS 10.0.

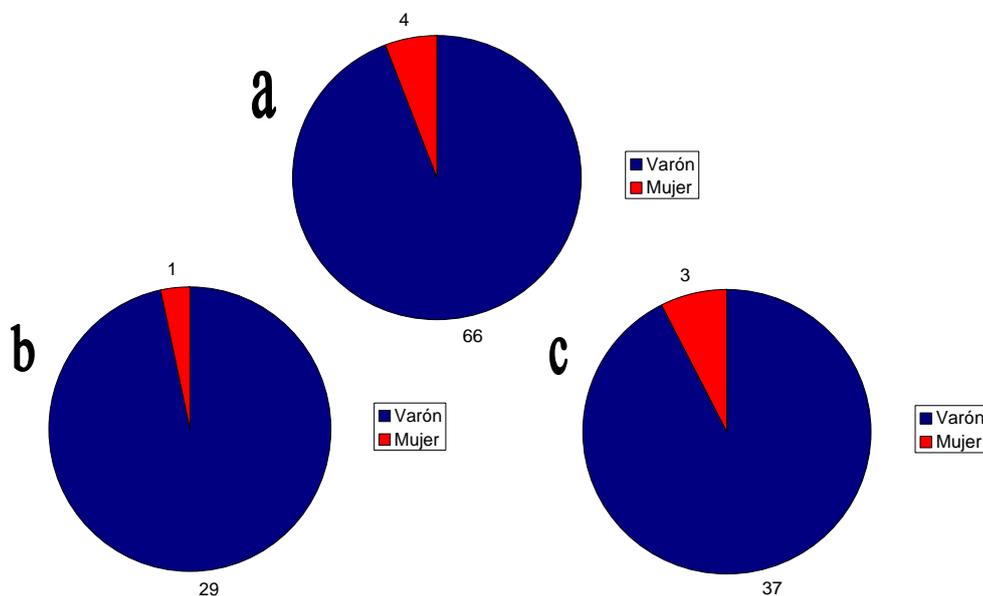
## **RESULTADOS**

Tal y como se ha descrito en el apartado anterior, la población a estudio está constituida por dos grupos de pacientes en función de los objetivos planteados. Un primer grupo de pacientes eran candidatos a cirugía electiva en los que se pretendía evaluar si la gammagrafía con  $^{99m}\text{Tc}$ -TTF guardaba relación la expresión de Pgp (Grupo quirúrgico). El segundo grupo estaba formado por pacientes candidatos a quimioterapia en los que se ha analizado si la gammagrafía con  $^{99m}\text{Tc}$ -TTF puede predecir y monitorizar la respuesta al tratamiento con quimioterapia (Grupo quimioterápico).

## 1 ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS DEL ESTUDIO

### 1.1 Sexo

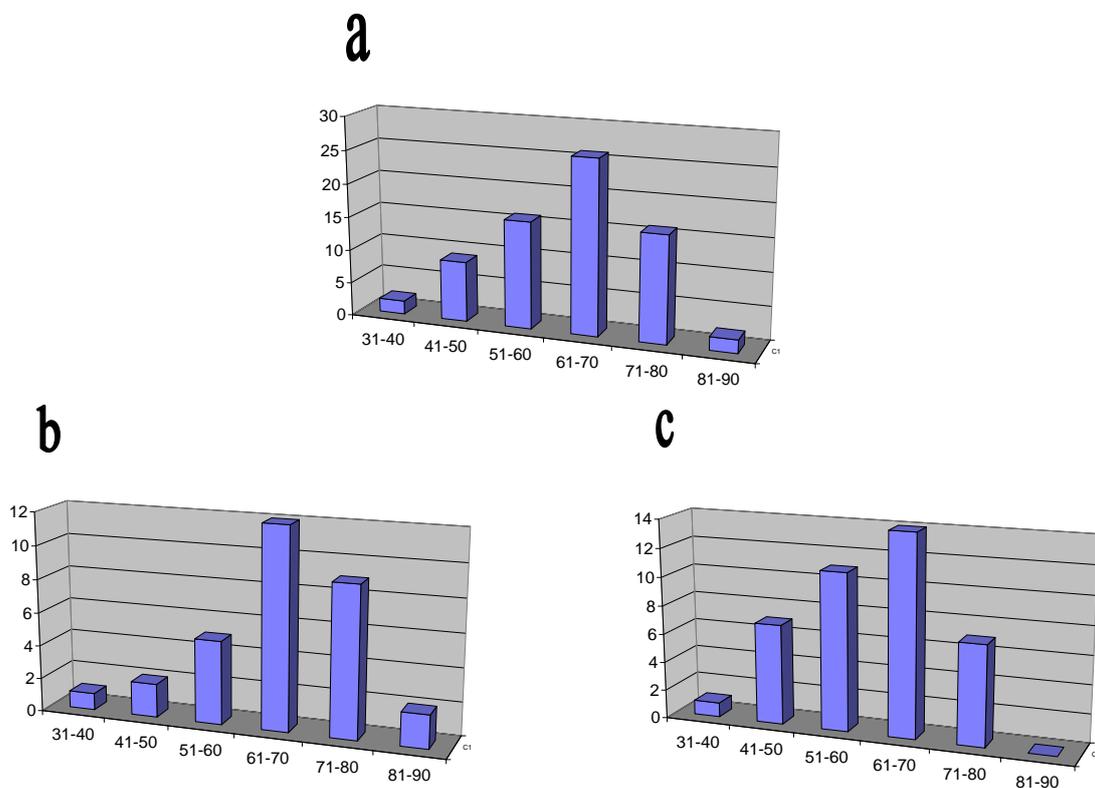
La población de estudio la compusieron un total de 70 pacientes, cuya distribución por sexos fue de 66 varones y 4 mujeres lo que representa un 94% y un 6% respectivamente. La población de estudio en el grupo quirúrgico la compusieron un total de 30 pacientes, cuya distribución por sexos fue de 29 varones y 1 mujer lo que representa un 97% y un 3% respectivamente. La población de estudio en el grupo quimioterápico la compusieron un total de 40 pacientes, cuya distribución por sexos fue de 37 varones y 3 mujeres lo que representa un 92% y un 8% respectivamente. Estas cifras quedan resumidas en la figura 10.



**Figura 10:** Distribución por sexos en la población a estudio (a), en el grupo quirúrgico (b) y en el grupo quimioterápico (c)

## 1.2 Edad

La edad media de la población de estudio fue de  $63 \pm 11$  años, con la distribución de la misma en decenios que se expone en la figura 11. La distribución muestra una ligera mayoría de pacientes con una edad en la década comprendida entre 61-70 años. La edad media de la población de estudio en el grupo quirúrgico fue de  $66 \pm 11$  y en el grupo quimioterápico fue de  $60 \pm 10$  años.



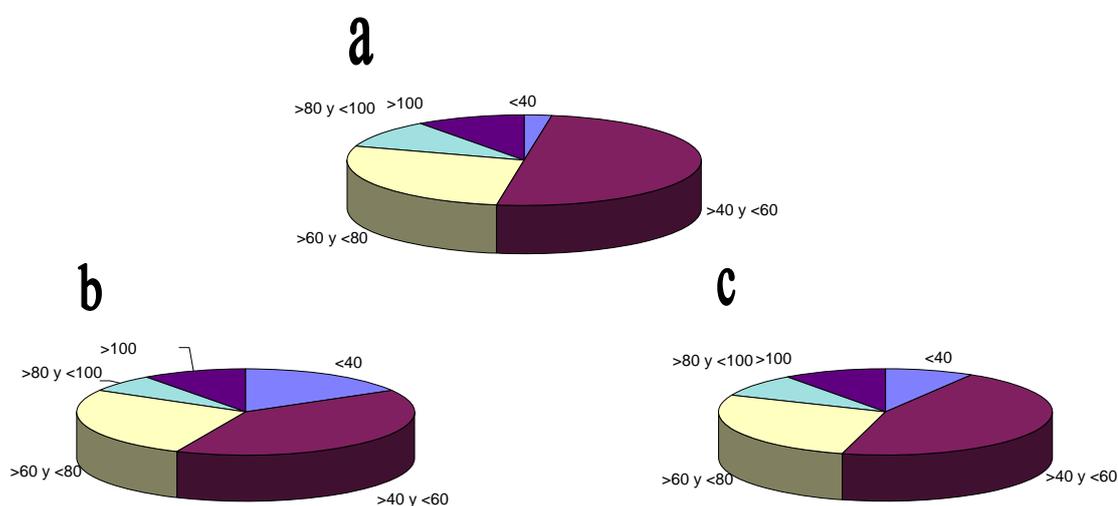
**Figura 11:** Distribución por edades en la población a estudio (a), en el grupo quirúrgico (b) y en el grupo quimioterápico (c)

### 1.3 Factores etiológicos

Los factores etiológicos más relevantes en el CPCNP son el hábito tabáquico y, en menor proporción, la exposición a contaminantes medio-ambientales o laborales.

#### 1.3.1 Hábito tabáquico

En nuestra población el hábito tabáquico fue muy predominante, de forma que los 70 pacientes (100%) eran fumadores. La mayoría de pacientes consumían entre los 40-60 paquetes/año fumados. Seguidamente, se resume de forma gráfica la cantidad de cigarrillos expresado en paquetes/año del grupo quirúrgico, grupo quimioterápico y en total de nuestra población a estudio (Figura 12).



**Figura 12:** Nivel de hábito tabáquico expresado en paquetes/año para la población a estudio (a), para el grupo quirúrgico (b) y para el grupo quimioterápico (c)

### **1.3.2 Exposición a contaminantes**

La exposición a contaminantes medio-ambientales o de riesgo profesional no estuvo presente en ninguno de los 70 casos analizados, por lo que no constituye un factor de riesgo analizable en esta población.

### **1.4 Sintomatología clínica**

Los síntomas observados en el momento del diagnóstico del CPCNP fueron muy variados y con frecuencia con la coexistencia de diferentes síntomas en el mismo paciente tanto en el grupo quirúrgico como en el grupo quimioterápico. Destaca igualmente la ausencia de síntomas hasta en un 47% de los casos del grupo quirúrgico, en que el diagnóstico se realizó de forma casual tras la práctica de una radiografía de tórax por otras causas ajenas al CPCNP, como detecciones accidentales en el estudio preoperatorio en pacientes candidatos a cirugía de diversa índole.

En la tabla siguiente se presentan los diferentes síntomas observados según cada grupo y en el total de la población a estudio (Tabla IV).

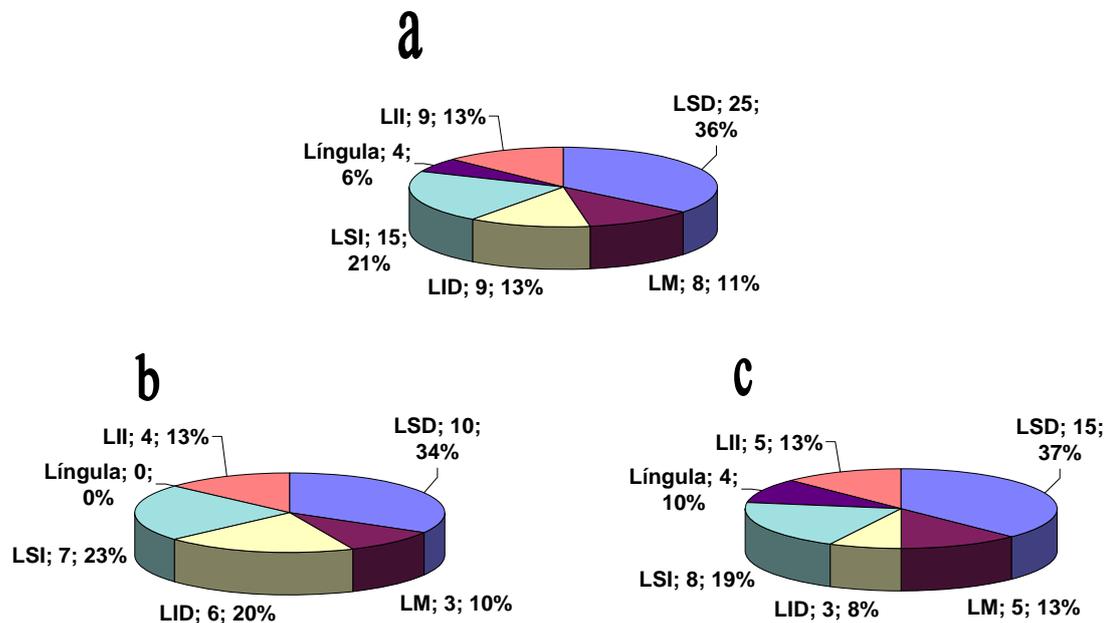
**Tabla IV:** Presencia de sintomatología en el momento del diagnóstico del CPCNP en el grupo quirúrgico, grupo quimioterápico y en el total de la población a estudio

GRUPO QUIRÚRGICO		GRUPO QUIMIOTERÁPICO		AMBOS GRUPOS	
Síntoma	Nº de casos	Síntoma	Nº de casos	Síntoma	Nº de casos
Hemoptisis	14	Hemoptisis	7	Hemoptisis	21
Tos	8	Tos	15	Tos	23
Neumonía	6	Neumonía	11	Neumonía	17
Disnea	5	Disnea	13	Disnea	18
Dolor pleurítico	4	Dolor pleurítico	9	Dolor pleurítico	13
Síndrome tóxico	3	Síndrome tóxico	11	Síndrome tóxico	14
Acropaquia	2	Acropaquia	5	Acropaquia	7
Hallazgo casual	14	Hallazgo casual	3	Hallazgo casual	17

### 1.5 Localización de la lesión primaria

De los 70 pacientes que compusieron nuestra población a estudio, 42 (60%) presentaron el CPCNP en el pulmón derecho y los 28 (40%) restantes en el pulmón izquierdo. En el siguiente gráfico podemos observar la distribución de la localización de la lesión primaria en función del lóbulo pulmonar afectado (Figura 13).

No se encontraron diferencias significativas en cuanto a una localización predominante de la lesión primaria. Sin embargo, sí fue discretamente superior la afectación de ambos lóbulos superiores en ambos grupos del estudio

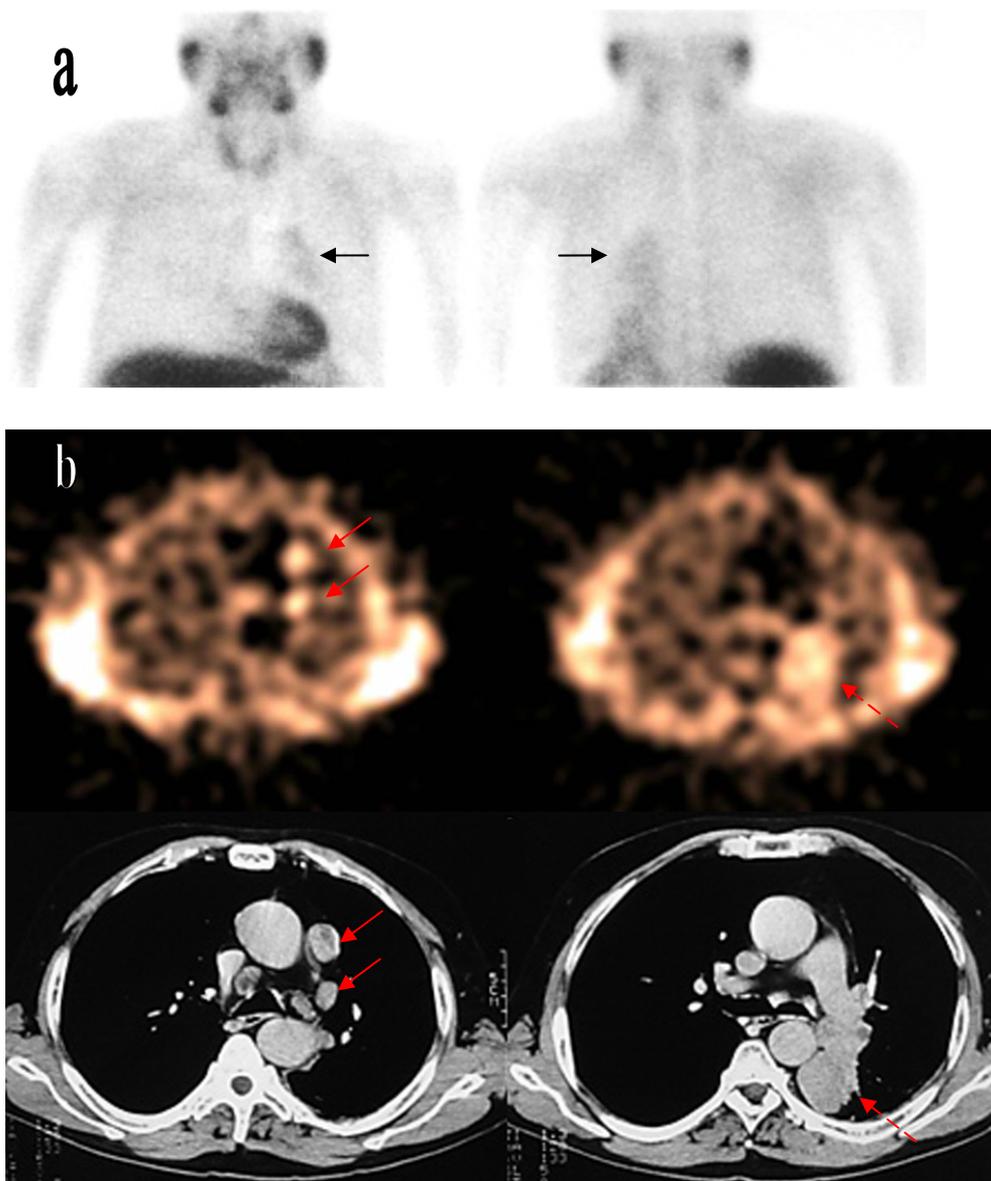


**Figura 13:** Localización de la lesión primaria en el grupo quimioterápico (a), en el grupo quirúrgico (b) y en ambos grupos (c)

## 1.6 Estadificación de la enfermedad

La caracterización histológica de los CPCNP mostró una predominancia de los tumores epidermoides (49%) frente a otros tipos de tumor. En nuestro medio, a diferencia de otros países desarrollados, no se apreció una tendencia a un aumento de la variante de adenocarcinoma (35%) [163]. El tamaño medio del tumor expresado en centímetros en nuestra población fue de  $5.56 \pm 2,9$ , siendo de  $4.7 \pm 2,5$  en el grupo quirúrgico y de  $6.2 \pm 3,1$  en el grupo quimioterápico. El hallazgo de un tamaño medio mayor en los pacientes del grupo quimioterápico entra dentro de lo esperable, ya que se trata de pacientes en una fase de la enfermedad más avanzada. Se encontró afectación ganglionar hiliar en 6 casos para el grupo quirúrgico (Tabla V) y en 12

casos para el grupo quimioterápico (Tabla VI) siendo identificados en las imágenes de SPECT en el 100% de los casos (Figura 14).



**Figura 14:** Paciente con un tumor en el lóbulo inferior izquierdo, dos adenopatías en el espacio prevascular y una adenopatía paratraqueal derecha. Imágenes planares en proyección anterior y posterior que muestra captación en el pulmón izquierdo aunque no identifica todos los hallazgos (a). Las imágenes de SPECT y de la TC visualizan correctamente todas las lesiones mencionadas (b).

La presencia de ganglios mediastínicos patológicos o de metástasis a distancia constituye una característica inherente de los pacientes del grupo quimioterápico, tal y como se menciona en la introducción de esta tesis (Tabla II). Se identificaron adenopatías mediastínicas en la TC hasta en 12 pacientes, siendo correctamente visualizadas mediante la SPECT en el 100% de los casos. En los pacientes del grupo quimioterápico que presentaban metástasis a distancia predominó la afectación del sistema nervioso central con un total de 9 casos, seguido de las glándulas suprarrenales con 3 casos (uno de ellos también con afectación del sistema nervioso central), metástasis hepáticas y óseas con 2 casos y 1 caso de metástasis renal (Tabla VI).

En los pacientes del grupo quirúrgico se realizó bilobectomía (11), lobectomía (8), neumonectomía (7), segmentectomía atípica (1) o nodulectomía (1), siendo tumores irresecables en 2 casos. Del total de los 30 pacientes de este grupo, los márgenes estaban libres en 26 casos e infiltrados en los 4 restantes (Tabla V).

Tabla V: Características clínicas de los pacientes del grupo quirúrgico

Nº Pac	Tipo Histológico	Tumor (cm)	Necrosis	Estadio TNM	Estadio Clínico	Ganglios Hilio	Tipo Cirugía	Margen
1	Adenocarcinoma	5.0	Si	T2N0M0	IB	No	BL	Li
2	Adenocarcinoma	5.5	No	T2N1M0	IB	Si	N	Li
3	Adenocarcinoma	13.0	No	T3N0M0	IIB	No	L	Li
4	Escamoso	5.2	No	T2N0M0	IB	No	BL	Li
5	Adenocarcinoma	2.3	No	T1N0M0	IA	No	L	Li
6	Escamoso	5.0	No	T1N0M0	IA	No	L	Li
7	Escamoso	6.1	No	T2N0M0	IB	No	N	Li
8	Adenocarcinoma	3.2	No	T1N0M0	IA	No	BL	Li
9	Escamoso	3.5	No	T2N0M0	IB	No	L	Li
10	Escamoso	4.0	No	T3N0M0	IIB	No	L	Li
11	Adenocarcinoma	0.5	No	T1N1M0	IIA	Si	N	Li
12	Adenocarcinoma	3.4	No	T2N0M0	IB	No	L	Li
13	Escamoso	4.2	Si	T2N1M0	IIB	Si	BL	I
14	Escamoso	3.0	No	T1N0M0	IA	No	N	Li
15	Escamoso	6.0	No	T2N0M0	IB	No	L	Li
16	Escamoso	4.0	No	T3N0M0	IIB	No	N	Li
17	Adenocarcinoma	3.0	No	T1N0M0	IA	No	N	Li
18	Escamoso	8.0	No	T2N1M0	IIB	Si	BL	Li
19	Adenocarcinoma	6.5	No	T2N0M0	IB	No	BL	Li
20	Escamoso	5.0	No	T2N0M0	IB	No	BL	Li
21	Mucoepidermoide	2.2	No	T1N0M0	IA	No	BL	Li
22	Célula grande	5.3	Si	T2N0M0	IB	No	N	Li
23	Escamoso	4.0	Si	T2N1M0	IIB	Si	BL	Li
24	Escamoso	3.5	Si	T1N0M0	IA	No	NOD	I
25	Célula grande	5.0	No	T2N0M0	IB	No	IR	I
26	Adenocarcinoma	2.0	No	T1N0M0	IA	No	L	Li
27	Escamoso	7.0	Si	T2N1M0	IIB	Si	IR	I
28	Escamoso	10.0	Si	T2N0M0	IB	No	BL	Li
29	Adenocarcinoma	3.9	No	T3N0M0	IIB	No	SEG	Li
30	Célula grande	2.5	Si	T1N1M0	IIA	No	BL	Li

Pac: paciente; BL: bilobectomía; N: neumonectomía; NOD: nodulectomía; SEG: Segmentectomía; IR: irresecable; Li: libre; I: infiltrado.

Tabla VI: Características clínicas de los pacientes del grupo quimioterápico

Nº Pac	Tipo Histológico	Tumor (cm)	Necrosis	Estadio TNM	Estadio Clínico	Ganglios Hilio	Ganglios Mediastino	M1
1	Célula grande	12	Si	T3N0M1	IV	No	No	SNC
2	Célula grande	6	No	T2N2M1	IV	Si	Sc	SNC hepáticas
3	Adenocarcinoma	9	No	T2N0M1	IV	No	No	SNC
4	Célula grande	4	No	T4NxM0	IIIB	No	No	No
5	Escamoso	4	No	T4N2M0	IIIB	No	Pr	No
6	Escamoso	8.5	No	T4N1M0	IIIB	Si	No	No
7	Adenocarcinoma	2.8	No	T1N0M1	IV	No	No	SNC
8	Escamoso	3	Si	T2N2M0	IIIA	No	Pt	No
9	Escamoso	3.2	No	T4N0M0	IIIB	No	No	No
10	Célula grande	9	Si	T3N3M0	IIIB	No	Sc, Pt	No
11	Escamoso	3	No	T4N0M0	IIIB	No	No	No
12	Adenocarcinoma	4	No	T2N0M1	IV	No	No	suprarrenal
13	Adenocarcinoma	10.5	No	T4N2M1	IV	No	Pt, Ao	hepáticas
14	Célula grande	7	Si	T4N1M0	IIIB	Si	No	No
15	Célula grande	5.5	No	TxN2M1	IV	No	Sc, Pt, Pv	SNC
16	Adenocarcinoma	3	No	T4N2M0	IIIB	Si	Ap	No
17	Adenocarcinoma	5	No	T2N0M1	IV	No	No	SNC
18	Escamoso	6	Si	T4N0M1	IV	No	No	No
19	Escamoso	5	Si	T3N2M0	IIIA	No	Sc	No
20	Escamoso	3.2	No	T4N2M1	IV	No	Sc	óseas
21	Escamoso	6	No	T2N2M1	IV	Si	Sc, Pt, Ap, Pr	renal
22	Adenocarcinoma	7	No	T4N3M1	IV	No	Sc, Pt, Pv	SNC
23	Escamoso	4.5	Si	T4N0M0	IIIB	No	No	No
24	Escamoso	8	Si	T4N2M0	IIIB	No	Pt	óseas
25	Adenocarcinoma	9	Si	T4N2M0	IIIB	Si	Sc	No
26	Escamoso	3.6	Si	T4N1M0	IIIB	Si	No	No
27	Escamoso	3.8	No	T4N2M0	IIIB	Si	Pt, Sc	No
28	Célula grande	1	No	T2N2M0	IIIA	No	Sc	No
29	Adenocarcinoma	10	Si	T4N1M0	IIIB	Si	No	No
30	Escamoso	3.5	No	T3N2M1	IV	No	Pt, Sc, Ao	No
31	Escamoso	1.9	No	T1N0M1	IV	No	Pv	SNC
32	Escamoso	7	No	T3N2M0	IIIA	No	Sc	No
33	Adenocarcinoma	12	No	T3N3M0	IIIB	Si	Pt, Sc, Ap	No
34	Adenocarcinoma	4	No	T4N2M1	IV	No	Sc	suprarrenal
35	Célula grande	7	No	T1N2M1	IV	Si	Sc	No
36	Adenocarcinoma	13	No	T3N1M0	IIIA	Si	No	No
37	Adenocarcinoma	8.5	No	T4N0M1	IV	No	No	SNC
38	CPCNP	10	No	T4N3M1	IV	No	Pt, Sc	suprarrenal
39	Escamoso	6	No	T4N0M0	IIIB	No	No	No
40	Escamoso	8	No	T2N0M1	IV	No	No	SNC

Pac: paciente; Tam: tamaño; SNC: sistema nervioso central; CPCNP: cáncer de pulmón de célula no pequeña; Sc: subcarinal; Pt: paratraqueal; Ao: aortopulmonar; Pv: prevascular; Pr: pretraqueal.

## **2 EXPLORACIONES GAMMAGRÁFICAS**

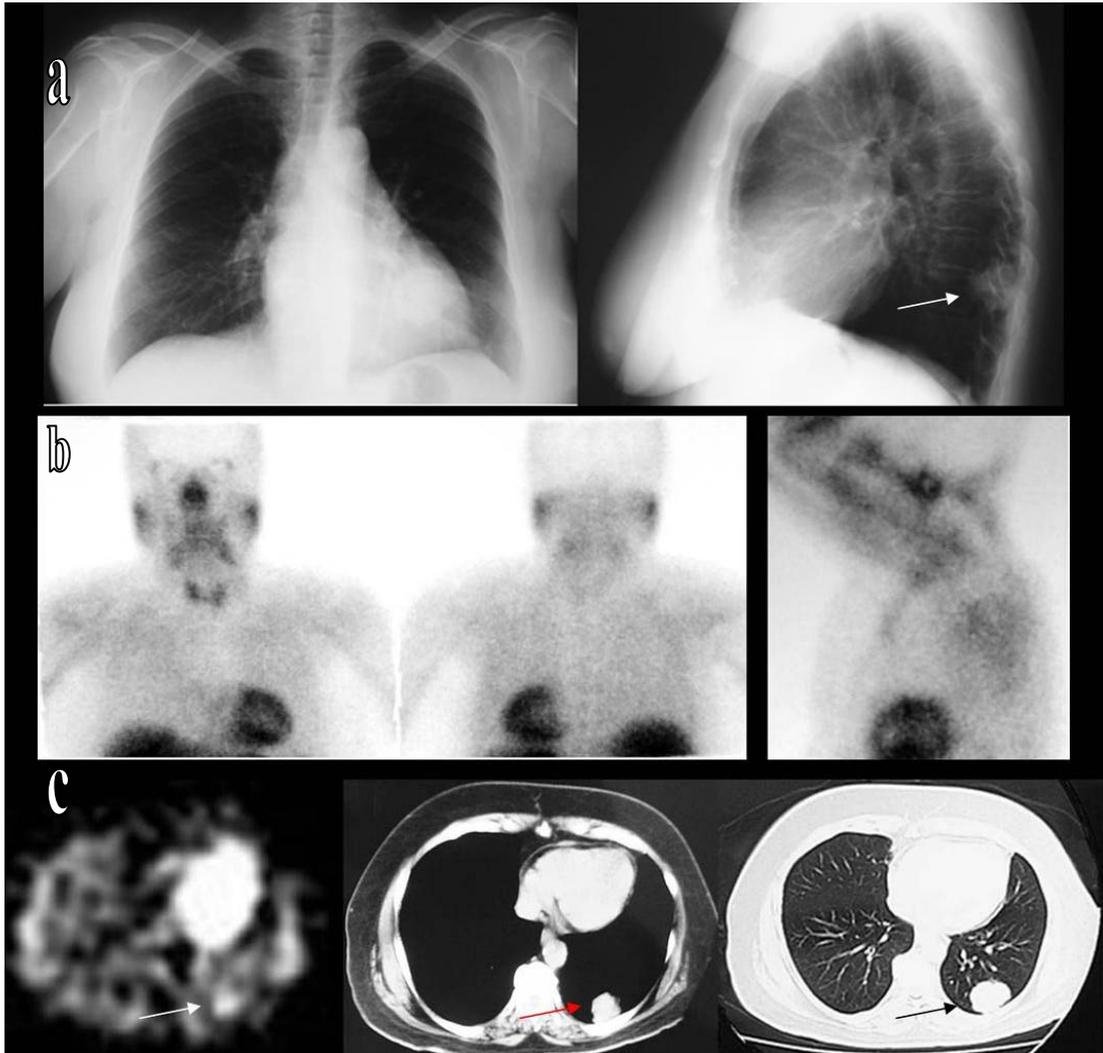
### **2.1 Índice de lavado planar**

El índice de captación medio del tumor considerando todos los pacientes fue de  $1.39 \pm 0.23$  y de  $1.30 \pm 0.19$  en la imagen precoz y tardía, respectivamente, lo que indica la presencia de una tendencia global al lavado de radiotrazador del tumor en el tiempo. El índice de captación precoz y tardío en el grupo quirúrgico fue de  $1.36 \pm 0.24$  y  $1.27 \pm 0.18$ , mientras que en el grupo quimioterápico fue de  $1.42 \pm 0.23$  y  $1.32 \pm 0.20$ , respectivamente. No se observaron diferencias estadísticamente significativas en los índices de captación medios ni entre ambos grupos ni entre la imagen precoz y tardía.

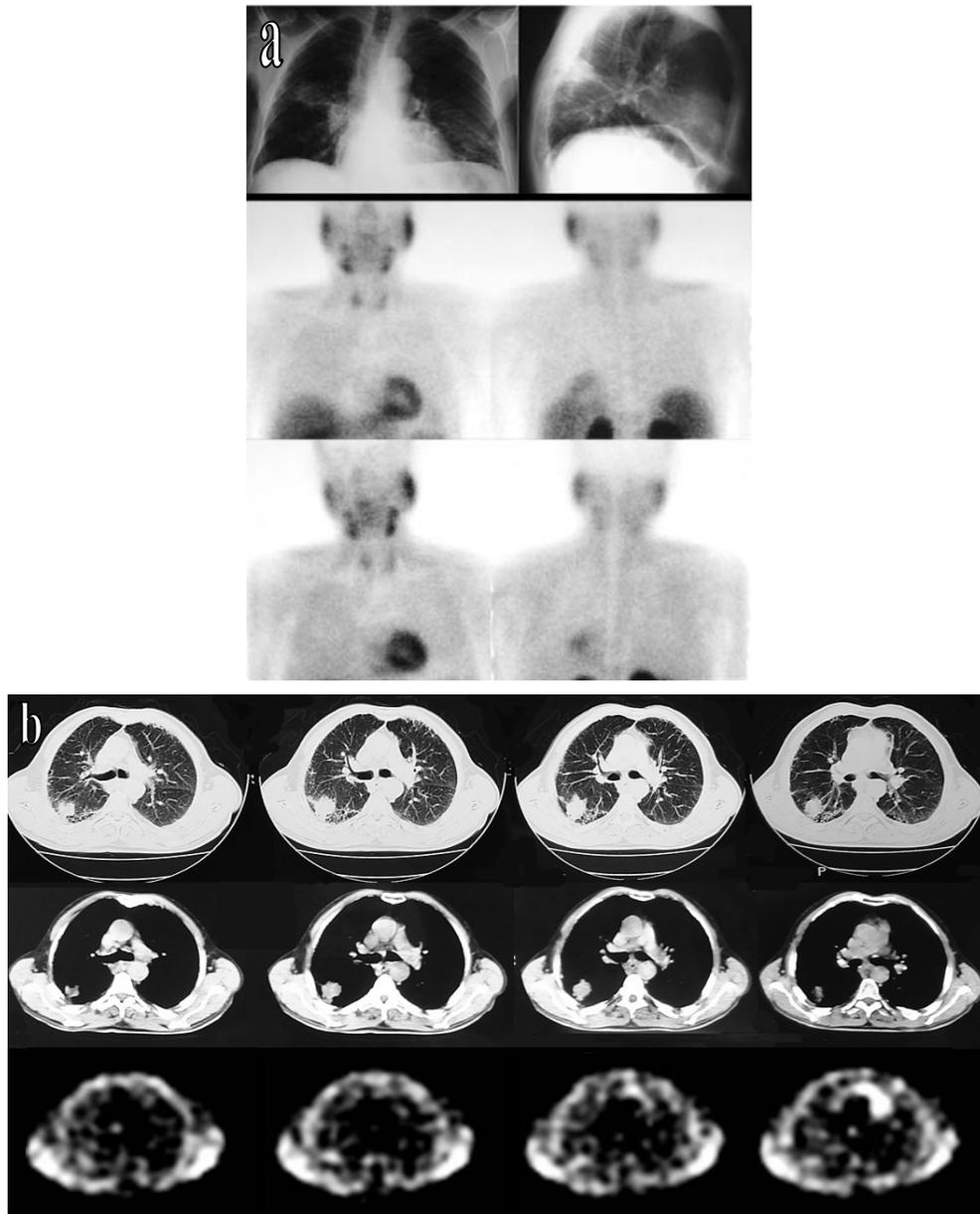
### **2.2 Índice de captación mediante SPECT**

El índice de captación tumoral medio obtenido mediante técnica SPECT considerando todos los pacientes fue de  $1.91 \pm 0.55$ , siendo significativamente superior que la gammagrafía planar precoz ( $P < 0.05$ ). La captación en la SPECT fue independiente del tamaño de la lesión no observándose diferencias estadísticamente significativas en función de este parámetro. Se analizó el índice de captación de la SPECT según tipo histológico de las dos variantes tumorales más frecuentes, obteniéndose un índice de captación medio para el carcinoma escamoso y el

adenocarcinoma de  $1.90\pm 0.6$  y de  $1.96\pm 0.6$ , respectivamente, no apreciándose diferencias significativas. El índice de SPECT medio en el grupo quirúrgico fue de  $1.86\pm 0.45$  y en el grupo quimioterápico fue de  $1.94\pm 0.63$ . La SPECT detectó el 100% de los tumores mientras que la imagen planar fue incapaz de visualizarlo en 5 casos (17%) en el grupo quirúrgico y en 4 casos (12.5%) en el grupo quimioterápico, lo que demuestra una mayor sensibilidad de la SPECT para diagnosticar la existencia de CPCNP en ambos grupos tanto para localizar con precisión lesiones de difícil visualización debido a superposición con otras estructuras captantes como el miocardio (Figura 15), como para detectar lesiones de pequeño tamaño que pasan desapercibidas en la imagen planar debido a su menor resolución como consecuencia de tratarse de imágenes 2D y mezclarse la actividad de la lesión con la actividad radiactiva de fondo (Figura 16).

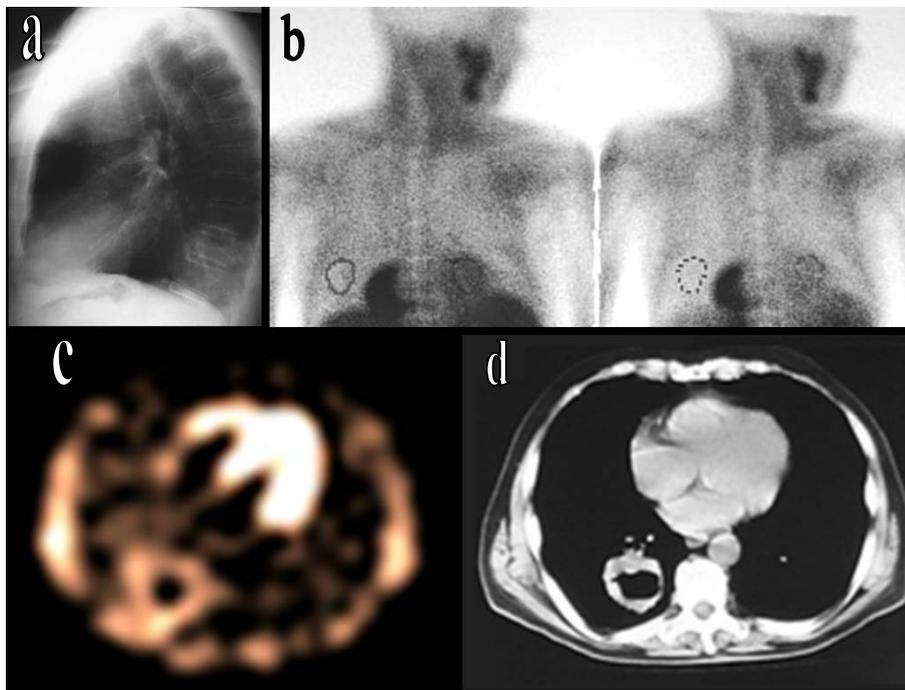


**Figura 15:** En esta composición se observa un tumor de localización posterior y situado en el lóbulo inferior del pulmón izquierdo. Radiografía PA y lateral de tórax (a), Imágenes planares a las 2h en proyección anterior, posterior y lateral izquierda que no visualizan el tumor (b), corte transaxial de SPECT y su correspondiente corte transaxial en la TC en ventana mediastínica y pulmonar (c)



**Figura 16:** En esta composición se observa un tumor de localización posterior y situado en el lóbulo inferior del pulmón derecho. Radiografía PA y lateral de tórax e imágenes planares a los 15' y a las 2h en proyección anterior y posterior (a). Cortes transaxiales en la TC en ventana mediastínica y pulmonar y cortes transaxiales de SPECT (b)

La presencia de necrosis extensa (>90%) no representó un problema ni para la detección del tumor ni para su cuantificación gammagráfica, aunque sí que se observó una captación diferente a la habitual en la imagen tomográfica mediante SPECT, con un área central fría y un halo de hipercaptación periférico tal y como se demuestra en la Figura 17. La presencia de este fenómeno se observó en 8/30 casos para el grupo 1 y en 11/40 casos en el grupo 2.



**Figura 17:** En esta composición se observa un tumor con necrosis extensa de localización posterior y situado en el lóbulo inferior del pulmón derecho. Radiografía lateral de tórax (a), Imágenes planares (b), corte transaxial de SPECT (c) y su correspondiente corte transaxial en la TC (d)

### **3 DETERMINACIÓN DE LA GLICOPROTEÍNA P**

Se han obtenido valores de forma cuantitativa de la presencia de Pgp en el tumor en los 30 pacientes que constituyen el grupo quirúrgico con un porcentaje medio de  $30.27 \pm 26$  (Tabla VII). Se han obtenido muestras para determinación de la Pgp en tejido pulmonar sano en 28/30 pacientes con un porcentaje medio de  $51.3 \pm 30$ . En 2 casos no se pudo determinar la Pgp en tejido pulmonar sano debido a que el tumor fue irreseccable y no fue por tanto posible obtener una muestra de este tejido.

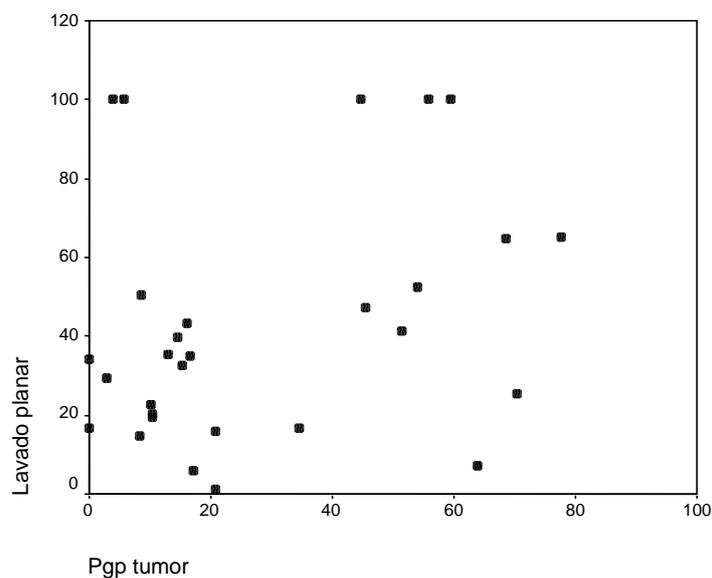
**Tabla VII: Análisis de la Pgp y de la gammagrafía con  $^{99m}\text{Tc-TTF}$**

Nº Pac	Pgp pulmón	Pgp tumor	Planar precoz	Planar tardía	Lavado (%)	SPECT
1	X	54	1.58	1.31	52.43	2.51
2	16	45	1.35	1.22	47.22	1.43
3	39	3	1.40	1.35	29.36	2.19
4	46	70	1.27	1.19	25.46	2.32
5	83	6	1	1	100.00	1.30
6	83	51	1.23	1.25	41.32	1.44
7	82	10	1.35	1.34	19.53	1.94
8	75	21	1.52	1.33	16.09	2.64
9	63	64	1.13	1.11	7.04	2.03
10	97	21	1.25	1.35	1.35	2.24
11	46	16	1.51	1.28	34.83	1.70
12	87	56	1	1	100.00	1.83
13	23	0	1.51	1.35	34.27	1.95
14	8	78	1.26	1.11	65.32	1.75
15	74	45	1	1	100.00	1.53
16	67	16	1.30	1.22	43.26	1.27
17	62	13	1.34	1.26	35.54	2.03
18	87	14	1.91	1.60	39.67	2.66
19	21	8	1.62	1.63	14.57	1,85
20	13	10	1.65	1.60	20.10	2.12
21	23	59	1	1	100.00	1.93
22	14	15	1.33	1.26	32.67	1.93
23	5	35	1.76	1.55	16.71	2.24
24	71	88	1.34	1.20	44.47	1.79
25	21	10	1.55	1.39	22.78	1.99
26	63	68	1.40	1.15	64.72	1.03
27	85	0	1.45	1.41	16.54	1.62
28	69	9	1.65	1.36	50.59	0.68
29	14	17	1.27	1.34	5.78	2.03
30	X	4.0	1	1	100.00	1.97

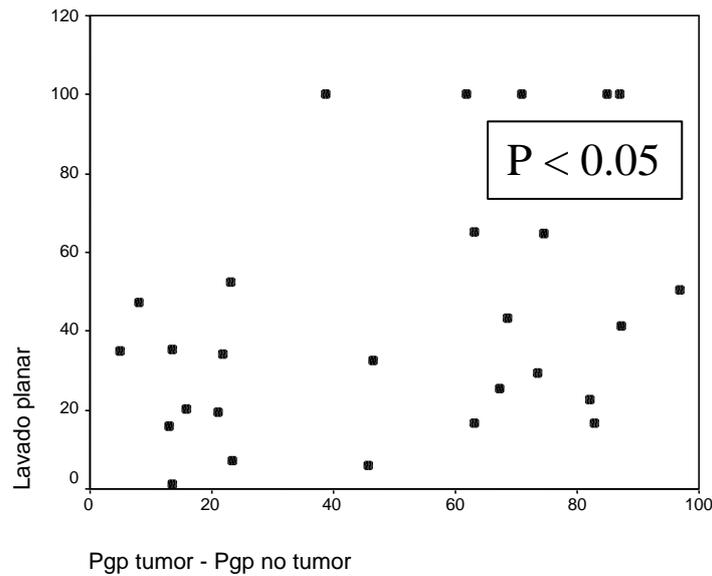
*Pac: paciente;Pgp: glicoproteína-P*

### 3.1 Lavado planar

En el análisis del lavado de radiotrazador se pudo observar que no existe una correlación entre una mayor presencia de Pgp con un lavado del radiotrazador más rápido, tal y como queda reflejado en la figura 18. La correlación entre el lavado y la Pgp fue de 0.279, no siendo estadísticamente significativo ( $P = 0.143$ ). Sin embargo, cuando se estudió la posible correlación entre ambas variables teniendo en cuenta la expresión de Pgp en el tejido pulmonar sano en cada paciente si que se observaron diferencias estadísticas en ambos grupos ( $P < 0.05$ ), con un coeficiente de correlación de 0.387 (Figura 19).



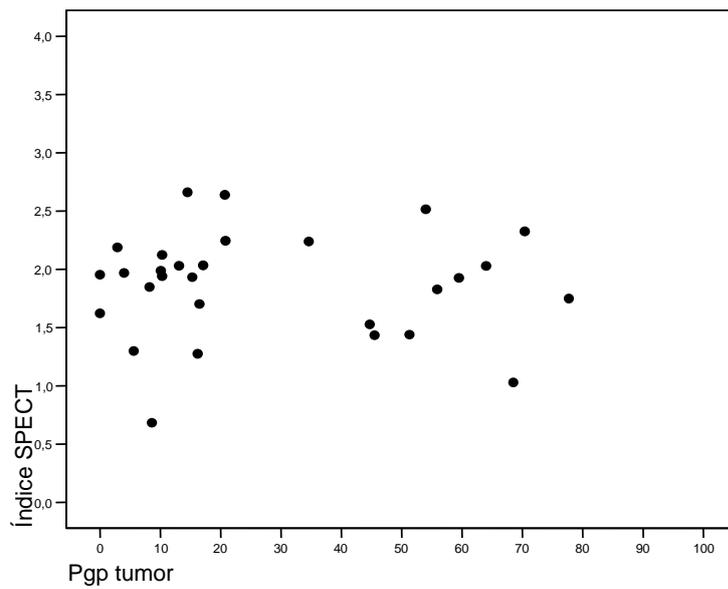
**Figura 18:** Relación entre la presencia de Pgp (eje de abscisas) y el índice de lavado entre la imagen gammagráfica planar de los 15 minutos y las 2 horas tras la administración del radiotrazador (eje de ordenadas)



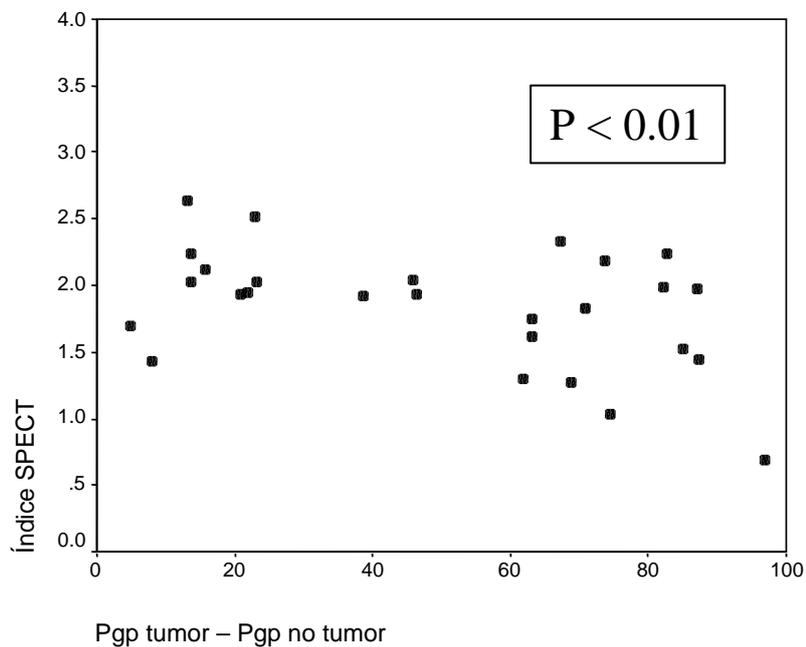
**Figura 19:** Relación entre la presencia de Pgp teniendo en cuenta la expresión de Pgp en el tejido pulmonar sano (eje de abscisas) y el índice de lavado entre la imagen gammagráfica planar de los 15 minutos y las 2 horas tras la administración del radiotrazador (eje de ordenadas)

### 3.2 Índice de captación

Se cuantificó el índice de captación mediante SPECT y se comparó con el porcentaje de Pgp expresada en el tumor para cada paciente sin que tampoco se observase una correlación significativa entre la presencia de una mayor cantidad de Pgp y una menor captación de  $^{99m}\text{Tc}$ -TTF (Figura 20). El coeficiente de correlación entre la Pgp y la captación de  $^{99m}\text{Tc}$ -TTF fue de  $-0.035$ , no siendo significativamente diferente de 0 ( $P = 0.429$ ). Sin embargo, cuando se estudió la posible correlación entre ambas variables teniendo en cuenta la expresión de Pgp en el tejido pulmonar sano en cada paciente sí que se observaron diferencias estadísticas ( $P < 0.01$ ), con un coeficiente de correlación de  $-0.438$  (Figura 21).



**Figura 20:** Relación entre la presencia de Pgp (eje de abscisas) y el índice de captación mediante SPECT (eje de ordenadas)



**Figura 21:** Relación entre la presencia de Pgp en el tumor y en el tejido pulmonar sano (eje de abscisas) y el índice de captación mediante SPECT (eje de ordenadas)

#### 4 ANÁLISIS DE LA RESPUESTA A LA QUIMIOTERAPIA

Se ha podido valorar la respuesta a la quimioterapia en 32 de los 40 pacientes que constituyen el grupo quimioterápico. No se pudo completar el seguimiento de 8 pacientes debido a éxitus por toxicidad a la quimioterapia durante el curso del tratamiento en 5 casos y debido a intolerancia o a rechazo del mismo una vez iniciada la quimioterapia en los 3 casos restantes. En todos estos pacientes se ha podido realizar gammagrafía con imágenes planares en todos los casos y gammagrafía mediante SPECT en 38/40 con exclusión de 2 pacientes por incapacidad de tolerar la adquisición de imágenes por su mal estado general (Tabla VIII).

**Tabla VIII:** Análisis de respuesta a la quimioterapia y gammagrafía con  $^{99m}\text{Tc-TTF}$

Nº paciente	Tipo respuesta	Planar precoz	Planar tardía	Lavado (%)	SPECT
1	Completa	1.63	1.54	24.43	2.40
2	Progresión	1.46	1.36	36.10	1.56
3	Completa	1.65	1.56	8.99	2.25
4	Progresión	1.30	1.18	52.20	1.15
5	Exitus	1.45	1.39	22.07	2.31
6	Parcial	1.30	1.26	36.69	2.33
7	Progresión	1	1	100	1.37
8	Parcial	1.73	1.66	24.32	3.26
9	Completa	1.13	1.12	8.60	1.69
10	Progresión	1.48	1.24	41.69	1.32
11	Parcial	1.18	1.13	40.39	2.16
12	Progresión	1	1	100	1.00
13	Parcial	1.93	1.74	30.80	3.84
14	Intolerancia	1.33	1.19	64.34	1.91
15	Estable	1.34	1.28	28.35	1.74

16	Estable	1.25	1.10	65.40	1.66
17	Parcial	1.48	1.46	31.60	2.75
18	Progresión	1.28	1.24	31.77	1.40
19	Parcial	1.35	1.31	41.82	2.35
20	Intolerancia	1.44	1.34	12.46	1.76
21	Estable	1.48	1.34	19.18	1.56
22	Exitus	1.70	1.65	43.41	2.58
23	Parcial	1.35	1.30	4.26	1.98
24	Exitus	1.65	1.53	9.65	2.44
25	Estable	1.38	1.31	35.38	1.07
26	Estable	1.12	1.00	104.91	X
27	Parcial	1.90	1.61	7.85	2.50
28	Estable	1	1	100	1.83
29	Exitus	1.46	1.35	37.62	X
30	Parcial	1.66	1.56	11.56	2.35
31	Intolerancia	1	1	100	1.23
32	Progresión	1.59	1.27	27.17	1.28
33	Parcial	1.38	1.38	15.86	1.70
34	Progresión	1.45	1.25	48.73	1.70
35	Estable	1.35	1.21	37.19	1.36
36	Parcial	1.51	1.44	31.93	2.00
37	Parcial	1.57	1.50	17.84	2.16
38	Estable	1.54	1.41	16.29	1.26
39	Exitus	1.63	1.54	7.47	2.80
40	Parcial	1.21	1.14	34.72	1.80

Tal y como se describe en el método de esta tesis, se han tenido en cuenta dos categorías de respuesta al tratamiento según si mostraban una reducción completa o parcial (>50%) de tamaño (“sí respuesta”), o si el tumor se mantenía estable (reducción <50%) o aumentaba de tamaño (“no respuesta”) (Tabla IX).

*Tabla IX: Tipos de respuesta a la quimioterapia*

Respuesta	Frecuencia (casos)	Frecuencia (%)
- Si respuesta:	16	50
Completa	3	9.38
Parcial	13	40.63
- No respuesta	16	50
Estable	8	25
Progresión	8	25
<b>Total</b>	<b>32</b>	<b>100</b>

#### 4.1 Predicción de la respuesta

##### 4.1.1 Índice de lavado planar

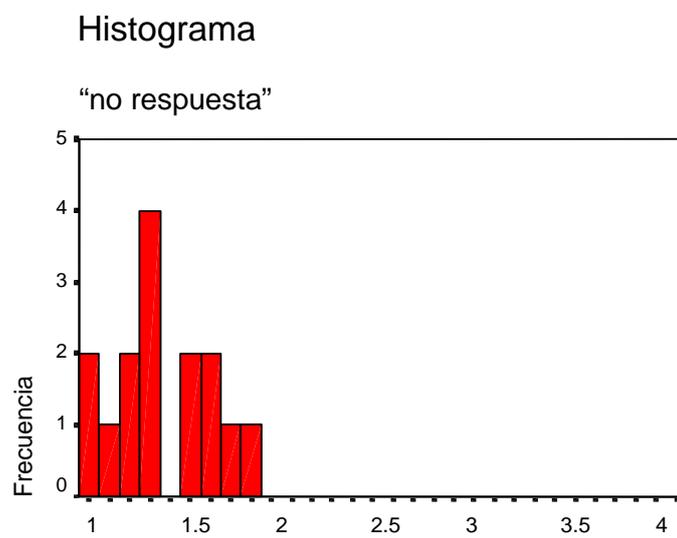
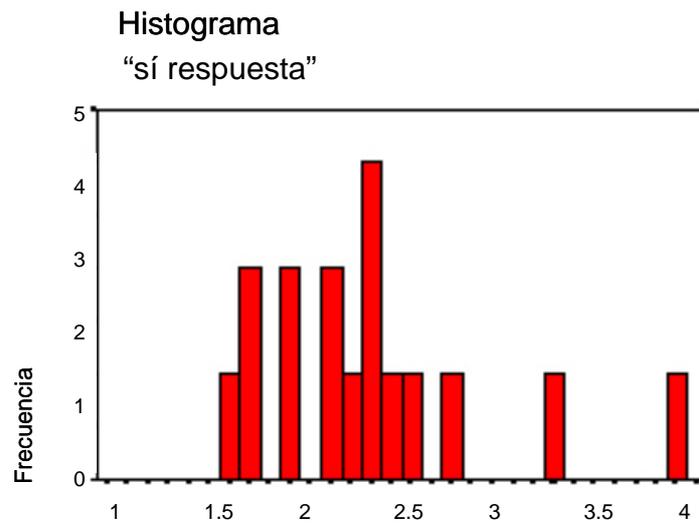
En el análisis del índice de lavado de radiotrazador se pudo observar que existe una correlación estadísticamente significativa ( $P < 0.005$ ) entre la respuesta a la quimioterapia y el lavado del radiotrazador, observándose más casos de “sí respuesta” en los pacientes con un lavado más lento, tal y como queda reflejado en la Tabla X.

*Tabla X: Relación entre tipo de respuesta e índice de lavado entre la imagen planar de los 15 minutos y las 2 horas tras la administración del radiotrazador*

Tipo de respuesta	N	Lavado (media)	Desviación típica
Sí respuesta	15	51.70	29.01
No respuesta	16	66.67	12.63

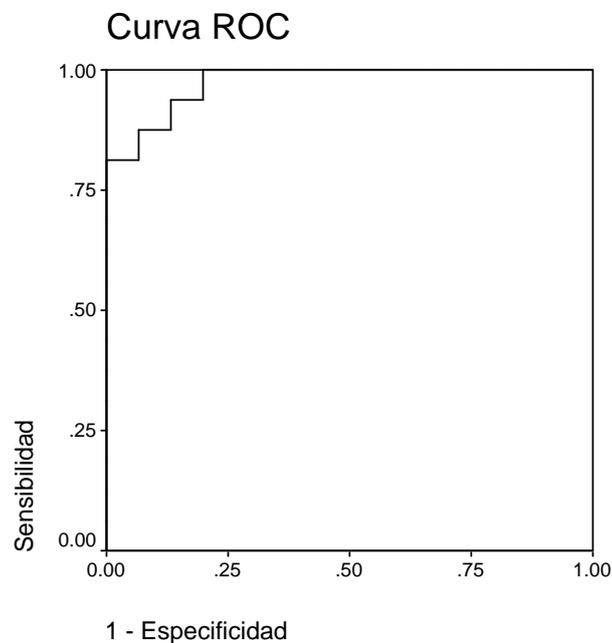
#### **4.1.2 Índice de captación mediante SPECT**

Se cuantificó el índice de captación mediante SPECT y se comparó con el tipo de respuesta a la quimioterapia observándose diferencias significativas ( $P < 0.001$ , t student con logaritmo). Tal y como se deriva de la figura 22, el índice de captación en la SPECT para los pacientes con “sí respuesta” fue de 1.69 o superior, mientras que en el grupo de “no respuesta” el índice de captación fue siempre inferior a 1.80. Existió un total de 5 casos (3 de “sí respuesta” y 2 de “no respuesta”) con valores de SPECT en el umbral de coincidencia entre ambos tipos de respuesta (1.69-1.80), lo que representa un 8.7% del total de la población.



**Figura 22:** Relación entre la captación de  $^{99m}\text{Tc}$ -TTF en la SPECT y la respuesta a la quimioterapia teniendo en cuenta la respuesta al tratamiento

Se han analizado las curvas ROC para averiguar la capacidad diagnóstica de la SPECT (Figura 23). El área bajo la curva fue de 0.975 con un intervalo de confianza del 95% [0.932; 1]. Este resultado indica que la SPECT tiene una gran capacidad diagnóstica. El punto de corte se ha estimado en 1.8 con un IC del 95% [1.69; 2.15]. En este punto se consigue una sensibilidad de 0.87 con un IC del 95.17% [0.73; 1] y una especificidad de 0.93 con un intervalo de confianza del 98,14% [0.67; 1].



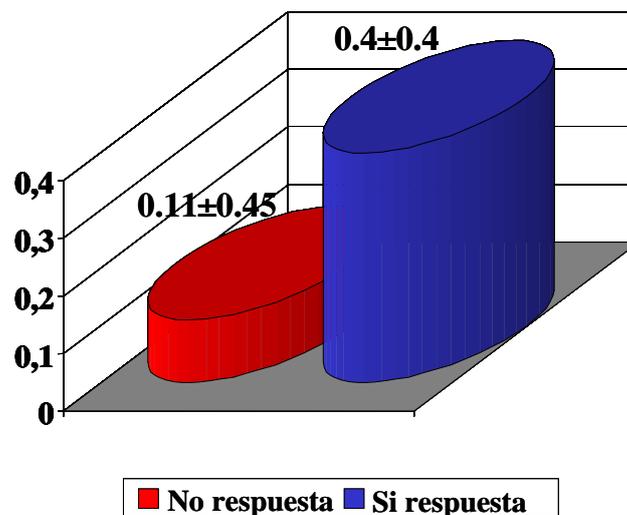
**Figura 23:** Curvas ROC para la determinación de la capacidad diagnóstica de la SPECT para predecir la respuesta a la quimioterapia

## 4.2 Monitorización de la respuesta

Dieciséis pacientes que completaron el tratamiento con quimioterapia pudieron ser sometidos a un segundo control gammagráfico para valorar los posibles cambios

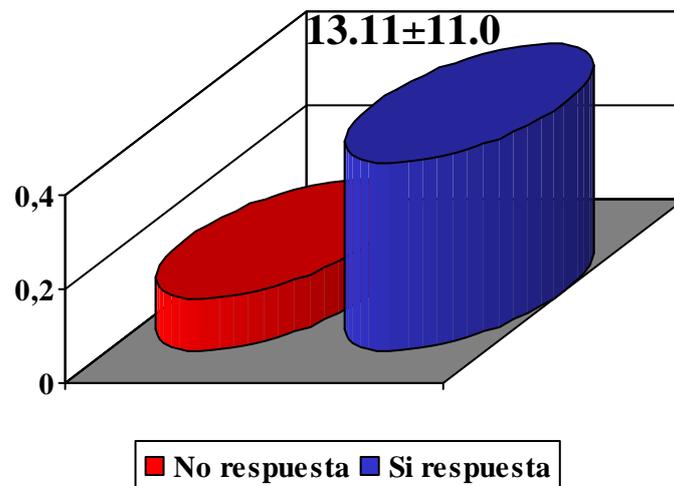
producidos en el grado de captación tumoral de  $^{99m}\text{Tc-TTF}$  y si éstos tenían alguna relación con el tipo de respuesta observada.

El análisis de estos pacientes mostró que en los casos de “no respuesta”, el índice de captación mediante SPECT antes y después del tratamiento era similar (cambio captación = 0.11), mientras que en los casos de “sí respuesta” el índice de captación mediante SPECT en el control gammagráfico post-quimioterapia era significativamente menor (cambio captación = 0.40) ( $P = 0.05$ , Mann-Whitney) (Figura 24).



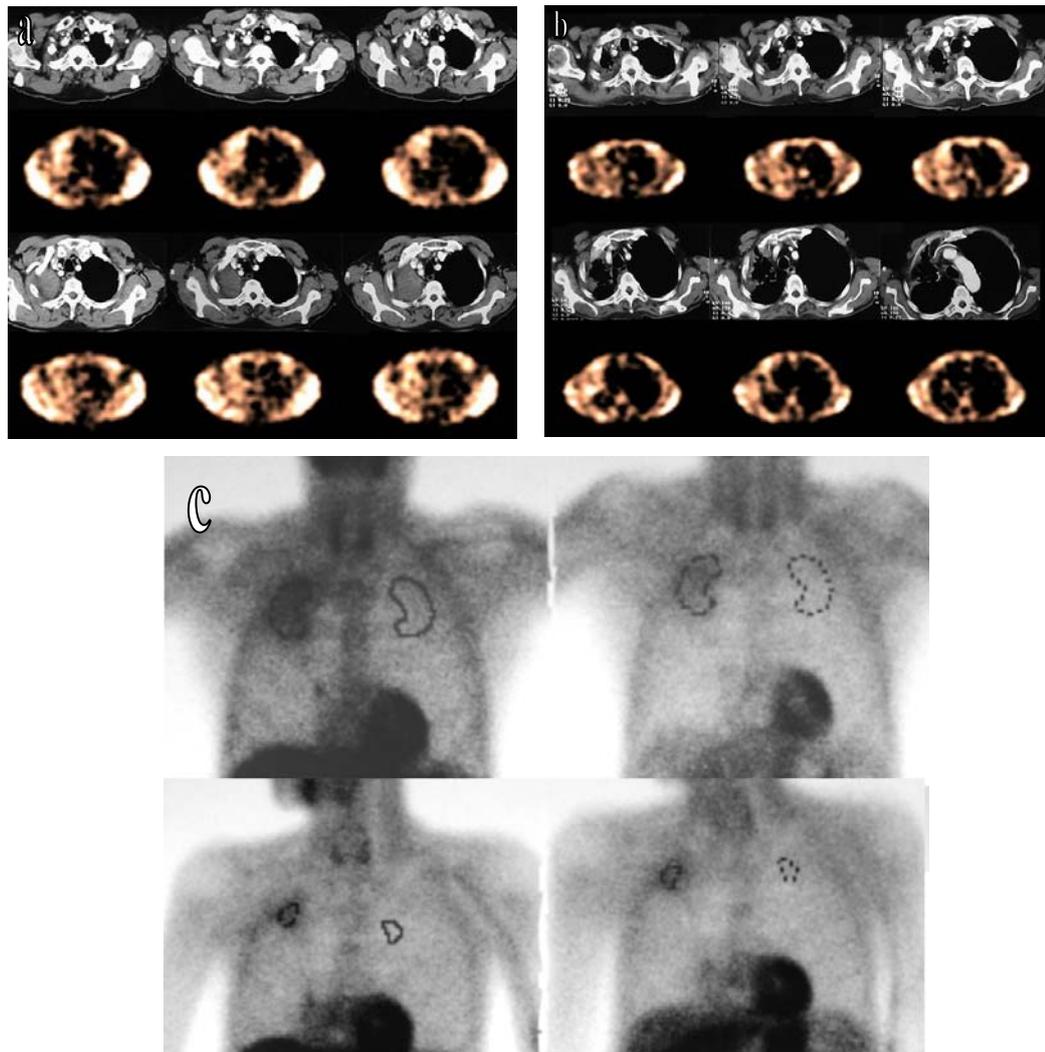
**Figura 24:** Cambios en la captación de  $^{99m}\text{Tc-TTF}$  en la SPECT antes y después de la quimioterapia

Del mismo modo, aquellos pacientes con “no respuesta” no mostraron cambios significativos en el índice de lavado entre ambos controles gammagráficos (7.27%), mientras que los pacientes con “sí respuesta” mostraron un lavado significativamente más lento (13.11%) ( $P < 0.05$ , Mann-Whitney) (Figura 25).

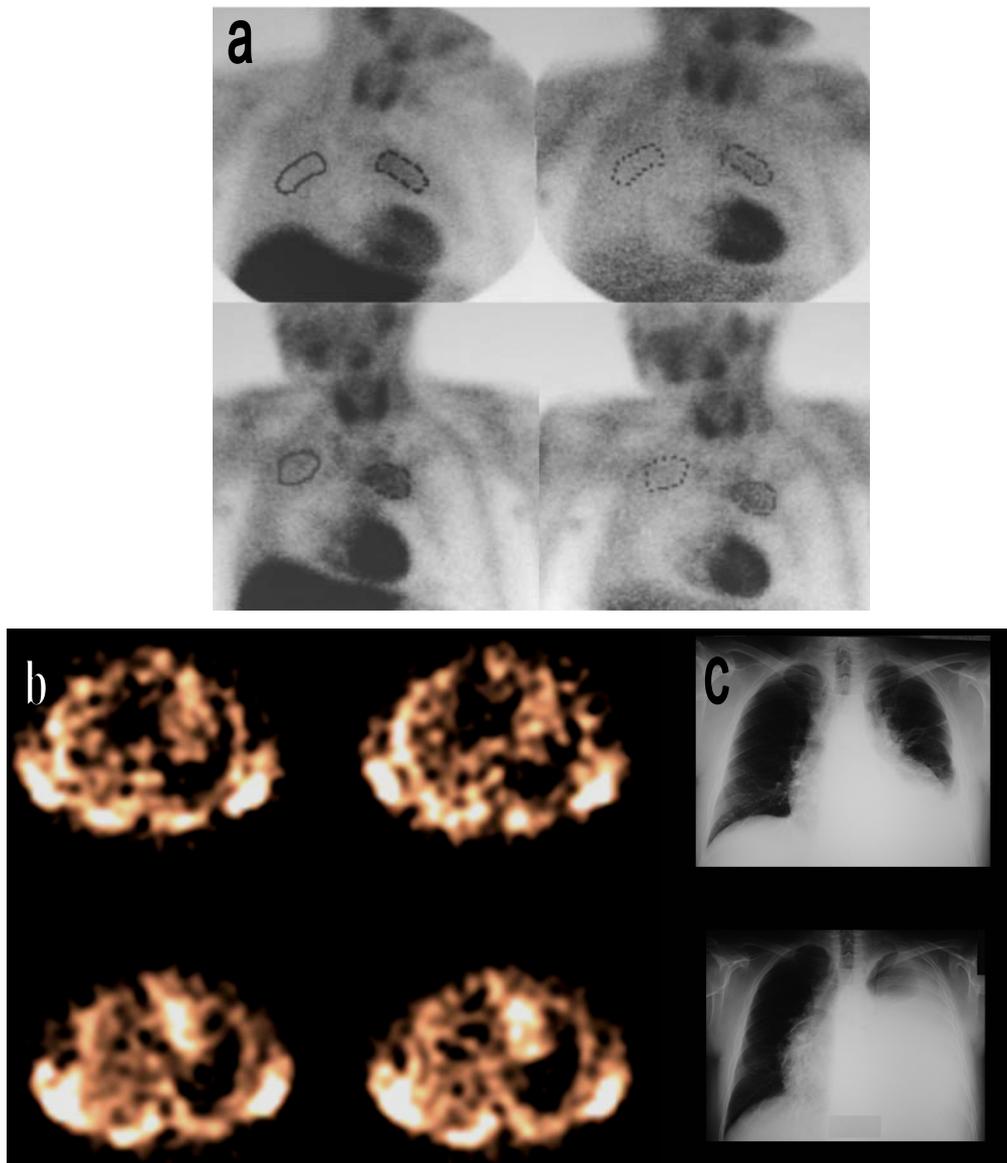


*Figura 25: Cambios en el lavado del  $^{99m}\text{Tc-TTF}$  antes y después de la quimioterapia.*

En las siguientes figuras se ilustran dos casos con diferente tipo de respuesta al tratamiento con un caso de respuesta parcial (Figura 26) y otro de progresión de la enfermedad (Figura 27) y, en consecuencia, con variaciones en el cambio de captación y en el lavado del radiotrazador entre el control gammagráfico basal y tras la administración de la quimioterapia.



**Figura 26:** Imágenes de SPECT con la TC de tórax antes (a) y tras tratamiento con quimioterapia (b), así como las imágenes planares (c) en un paciente con respuesta parcial que muestra una disminución del índice de captación mediante SPECT del 36% y del índice de lavado del 8% en el control gammagráfico post-quimioterapia respecto el control basal



**Figura 27:** Imágenes planares (a), de SPECT (b) y radiografía de tórax (c) en un paciente con progresión de la enfermedad tras la quimioterapia que presenta un aumento del índice de captación mediante SPECT del 21% sin cambios significativos en el índice de lavado (-1,3%), así como un claro empeoramiento radiológico en el control post-quimioterapia.

## **5 ANÁLISIS DE LA SUPERVIVENCIA**

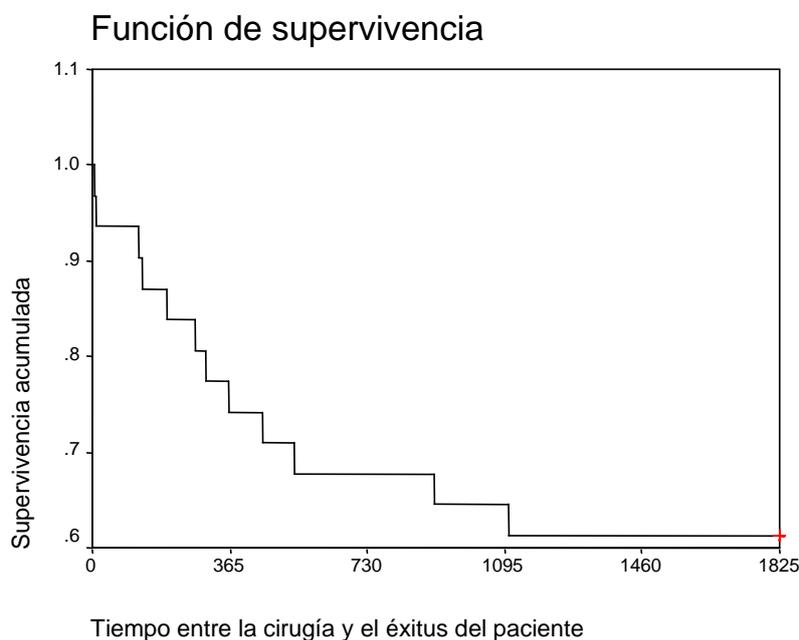
Se ha calculado la supervivencia media de los pacientes de ambos grupos por separado. No se pudo realizar un seguimiento adecuado de los pacientes en 2 casos del grupo quirúrgico y en 5 casos del grupo quimioterápico. En el grupo quirúrgico (Tabla XI) no se observaron diferencias significativas en la supervivencia media de los pacientes cuando se tuvo en cuenta la expresión de Pgp.

**Tabla XI:** Pgp e índice de captación mediante la SPECT. Valoración del tiempo transcurrido hasta la reactivación de la enfermedad y éxitos de los pacientes del grupo quirúrgico

Nº paciente	Pgp (%)	SPECT	Reactivación (días)	Éxito (días)
1	54.0	2.51	907	> 5 años
2	45.5	1.43	150	1.107
3	2.9	2.19	270	452
4	70.4	2.32	> 5 años	> 5 años
5	5.6	1.30	90	197
6	51.3	1.44	> 5 años	> 5 años
7	10.3	1.94	?	?
8	20.7	2.64	> 5 años	> 5 años
9	64.0	2.03	> 5 años	> 5 años
10	20.8	2.24	148	148
11	16.5	1.70	11	11
12	55.9	1.83	254	274
13	0.0	1.95	> 5 años	> 5 años
14	77.7	1.75	> 5 años	> 5 años
15	44.7	1.53	> 5 años	> 5 años
16	16.2	1.27	411	411
17	13.1	2.03	?	?
18	14.5	2.66	> 5 años	> 5 años
19	8.2	1.85	> 5 años	> 5 años
20	10.3	2.12	> 5 años	> 5 años
21	59.5	1.93	386	386
22	15.3	1.93	300	> 5 años
23	34.6	2.24	> 5 años	> 5 años
24	87.7	1.79	> 5 años	> 5 años
25	10.1	1.99	No	537
26	68.5	1.03	363	363
27	0.0	1.62	6	6
28	8.6	0.68	303	303
29	17.1	2.03	> 5 años	> 5 años
30	4.0	1.97	> 5 años	> 5 años

Pgp: glicoproteína-P.

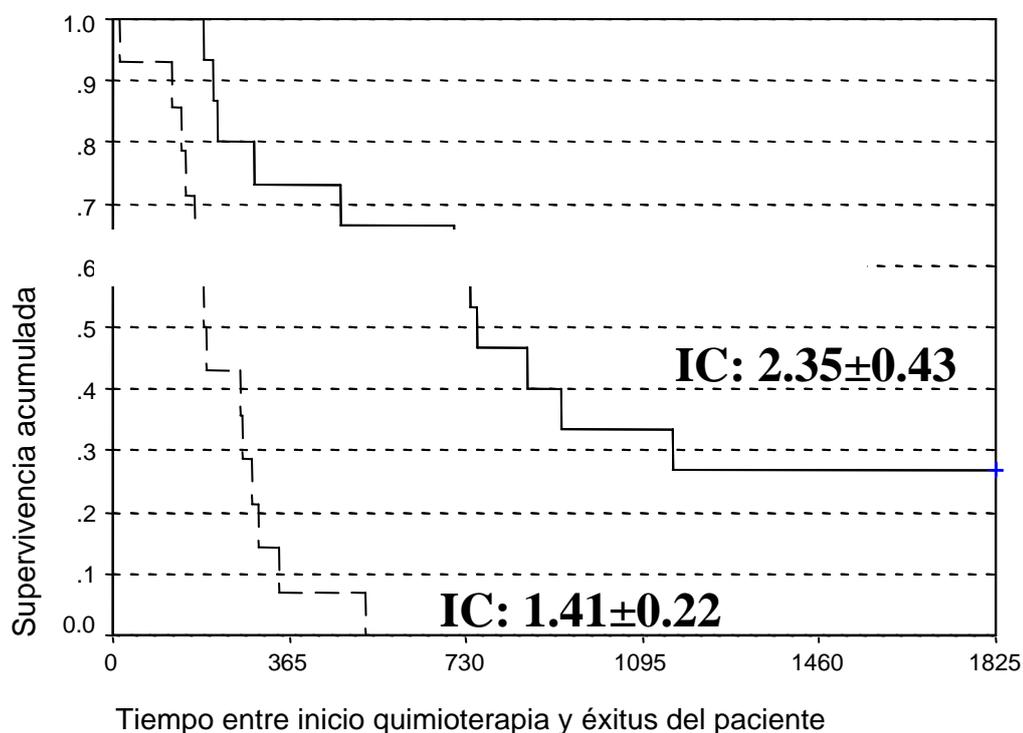
Tampoco se encontró ninguna relación significativa entre la supervivencia ni con el índice de captación mediante SPECT ni con el índice de lavado planar. Un 60% de los pacientes de este grupo mostraron una supervivencia mayor a 5 años, tal y como se representa en la Figura 28.



**Figura 28:** Análisis de la supervivencia a los 5 años en los pacientes del grupo quirúrgico

La supervivencia media a los 5 años en el grupo quimioterápico fue mayor en los pacientes con “sí respuesta” al tratamiento (Figura 29), los cuales mostraban un índice de captación mediante la SPECT significativamente más alto ( $P < 0.001$ ). Tan solo en un 12.5% de los casos de este grupo se consiguió una supervivencia mayor a 5 años (Tabla XII).

## Funciones de supervivencia



**Figura 29:** Análisis de la supervivencia a los 5 años en el grupo quimioterápico teniendo en cuenta la existencia de “sí respuesta” (línea continua) o de “no respuesta” (línea discontinua) al tratamiento con quimioterapia. Se indica el índice de Captación mediante SPECT (IC) para ambos tipos de respuesta

**Tabla XII:** Tipo de respuesta e índice de captación mediante SPECT. Tiempo hasta reactivación y éxitus de pacientes del grupo quimioterápico

Nº paciente	Tipo respuesta	SPECT	Reactivación (días)	Éxitus (días)
1	Completa	2.40	> 5 años	> 5 años
2	Progresión	1.56	Progresión	13
3	Completa	2.25	208	215
4	Progresión	1.15	Progresión	122
5	Exitus	2.31	49	49
6	Parcial	2.33	428	> 5 años
7	Progresión	1.37	Progresión	270
8	Parcial	3.26	140	> 5 años
9	Completa	1.69	214	292
10	Progresión	1.32	Progresión	181
11	Parcial	2.16	?	?
12	Progresión	1.00	Progresión	15

13	Parcial	3.84	257	470
14	Intolerancia	1.91	172	172
15	Estable	1.74	201	301
16	Estable	1.66	134	171
17	Parcial	2.75	180	209
18	Progresión	1.40	Progresión	265
19	Parcial	2.35	> 5 años	> 5 años
20	Intolerancia	1.76	?	?
21	Estable	1.56	188	188
22	Exitus	2.58	34	34
23	Parcial	1.98	624	1156
24	Exitus	2.44	> 5 años	> 5 años
25	Estable	1.07	342	343
26	Estable	?	193	193
27	Parcial	2.50	313	737
28	Estable	1.83	?	?
29	Exitus	?	?	?
30	Parcial	2.35	482	751
31	Intolerancia	1.23	?	?
32	Progresión	1.28	Progresión	143
33	Parcial	1.70	492	705
34	Progresión	1.70	Progresión	524
35	Estable	1.36	140	150
36	Parcial	2.00	188	190
37	Parcial	2.16	764	854
38	Estable	1.26	287	288
39	Exitus	2.80	33	33
40	Parcial	1.80	439	928

## **DISCUSIÓN**

Las técnicas de diagnóstico por la imagen constituyen herramientas imprescindibles en la mayoría de tumores malignos, tanto en la estadificación inicial como en el manejo terapéutico de los pacientes. El cáncer de pulmón representa un ejemplo evidente de que la utilización de estas técnicas, destacando entre ellas la TC y la FDG-PET, permiten un diagnóstico adecuado de esta enfermedad. Sin embargo, actualmente todavía no se dispone de una técnica no invasiva idónea para poder predecir y monitorizar de forma precisa la eficacia de la quimioterapia en el CPCNP. El fenómeno de la multiresistencia a drogas que se considera el principal causante de este problema depende de diferentes factores, lo que dificulta aún más poder establecer una terapia adecuada para cada paciente de una forma individualizada.

La posible utilidad de la gammagrafía con  $^{99m}\text{Tc}$ -TTF se ha estudiado en cáncer de mama, linfoma, melanoma y en cáncer de pulmón. En la mayoría de estudios publicados se ha encontrado una correlación inversa entre la expresión de la Pgp en el CPCNP (factor fundamental vinculado a la multiresistencia a drogas) y la captación tumoral de  $^{99m}\text{Tc}$ -TTF. Además, algunos autores han observado en estudios iniciales que el  $^{99m}\text{Tc}$ -TTF podría ser útil tanto en la monitorización como en la predicción de la respuesta a la quimioterapia en este tipo de tumor. Este trabajo de tesis doctoral estudia la capacidad de la gammagrafía con  $^{99m}\text{Tc}$ -TTF para evaluar la respuesta a la quimioterapia así como su potencial relación con la Pgp en pacientes con CPCNP.

## **1 ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS DE LA POBLACION A ESTUDIO**

Nuestro grupo de estudio comparte con el resto de la población el hábito tabáquico como principal y único factor de riesgo etiopatogénico, destacando que en el 100% de casos había existido un consumo declarado de cigarrillos. Las manifestaciones clínicas en el momento del diagnóstico del CPCNP tampoco mostraron diferencias significativas con la triada clásica [164] que constituyen la presencia de dolor costal, hemoptisis y síndrome consitucional. Fue frecuente la aparición de otros síntomas respiratorios como la disnea, tos y la sospecha clínica inicial de neumonía. Destaca de modo significativo la ausencia de síntomas hasta en un 47% de los casos del grupo quirúrgico, en que el diagnóstico se realizó de forma casual tras la práctica de una radiografía de tórax realizada por otras causas, habitualmente en estudios rutinarios preoperatorios.

Se ha comparado el grado de captación de  $^{99m}\text{Tc}$ -TTF con los diferentes factores pronósticos analizados en el estudio incluyendo el sexo, la edad, la pérdida de peso, performance status, tamaño del tumor, estadio en el momento del diagnóstico y tipo histológico, sin que se haya encontrado una relación significativa con ninguno de ellos.

Las técnicas de imagen anatómicas suelen utilizar de forma habitual el tamaño de las lesiones tumorales como un criterio de malignidad, lo que es especialmente aplicable

al cáncer de pulmón. Sin embargo, esto no sucede así con las técnicas gammagráficas, ya que en la mayoría de estudios publicados, incluyendo el cáncer de pulmón [165], no existe una relación directa entre el grado de captación gammagráfico y el tamaño tumoral. En nuestra serie se confirman estos resultados ya que no se encontró una correlación estadísticamente significativa entre estas dos variables.

Existen trabajos publicados que indican que el grado de captación de  $^{99m}\text{Tc}$ -TTF puede variar según el tipo histológico de CPCNP, sugiriendo que la captación en el carcinoma escamoso es menor que en el adenocarcinoma [166]. En nuestra serie hemos analizado el índice de captación en función del tipo histológico tumoral comparando la captación de  $^{99m}\text{Tc}$ -TTF de los pacientes con carcinoma escamoso y con adenocarcinoma, que constituyen las variantes más frecuentes de presentación del CPCNP, obteniéndose un índice de captación medio para el carcinoma escamoso y el adenocarcinoma de  $1.90\pm 0.6$  y de  $1.96\pm 0.6$ , respectivamente, no apreciándose diferencias significativas. Por lo tanto, los datos reflejados del análisis no corroboran que el índice de captación de  $^{99m}\text{Tc}$ -TTF varíe de forma significativa con el tipo histológico tumoral.

La estadificación clínica del cáncer de pulmón permite establecer las pautas generales de tratamiento para decidir la indicación quirúrgica con o sin neoadyuvancia, o la aplicación de terapia paliativa en aquellos casos en que exista

diseminación de la enfermedad. Una correcta estadificación de la enfermedad también es importante ya que va a ser fundamental para valorar el pronóstico del paciente de una forma adecuada.

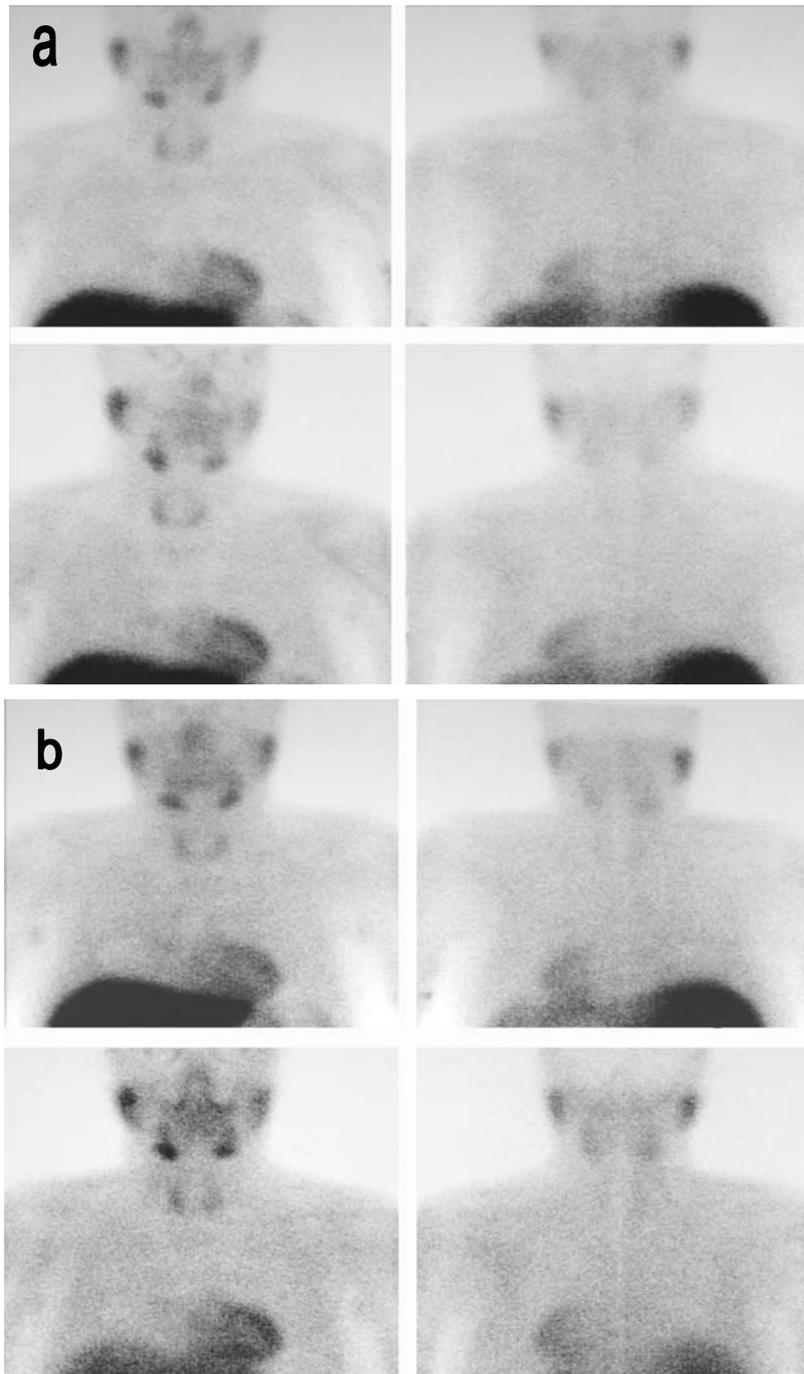
La TC es la técnica de imagen no invasiva utilizada por excelencia para la estadificación ganglionar del CPCNP. Un meta-análisis documentado con 42 trabajos ha mostrado una exactitud de la TC de hasta el 80% para el diagnóstico locoregional de la CPCNP [167]. Sin embargo, otros estudios más recientes sugieren que la TC no es lo bastante exacta en el diagnóstico preoperatorio de estos pacientes con cifras entre el 50-70% [168].

## 2 EXPLORACIONES GAMMAGRÁFICAS

Existen varias técnicas en Medicina Nuclear que se han empleado en diferentes ámbitos en el campo de la oncología en general y en el cáncer de pulmón en particular con resultados muy variables. Se han realizado estudios dirigidos tanto al diagnóstico diferencial entre benignidad y malignidad, a la estadificación locoregional o a distancia de la enfermedad, así como en la monitorización y predicción de la respuesta al tratamiento. Inicialmente, el radiotrazador con afinidad tumoral que más se empleaba en el campo de la oncología era el  $^{201}\text{Tl}$  y los escasos estudios comparativos demostraron un potencial del  $^{99\text{m}}\text{Tc-TTF}$  en el diagnóstico diferencial del cáncer de pulmón [169]. Sin embargo, en la práctica clínica la FDG-PET es la única prueba que se ha incluido en el algoritmo diagnóstico de la mayoría de tumores.

Recientemente se han realizado estudios con dos radiofármacos de similar naturaleza como el  $^{99\text{m}}\text{Tc-MIBI}$  y el  $^{99\text{m}}\text{Tc-TTF}$  con resultados prometedores en diferentes ámbitos del diagnóstico del cáncer de pulmón [108]. Ambos radiofármacos muestran un comportamiento muy parecido en el organismo con afinidad por las mismas estructuras y una eliminación doble enterohepática y renal, destacando una mayor fijación hepática y un aclaramiento más rápido del  $^{99\text{m}}\text{Tc-TTF}$  [170] (Figura 30). Las diferencias entre ellos son mínimas, aunque estudios aislados confieren al  $^{99\text{m}}\text{Tc-MIBI}$  unas características más adecuadas para el estudio de tumores tal y como se

refleja en estudios realizados “*in vitro*” [171]. Sin embargo, el  $^{99m}\text{Tc}$ -MIBI ha sido utilizado de forma más amplia que el  $^{99m}\text{Tc}$ -TTF, especialmente en lo que se refiere al estudio del cáncer de mama, donde ha mostrado interesantes resultados especialmente en la predicción de respuesta a la quimioterapia [109-112]. La captación de  $^{99m}\text{Tc}$ -TTF o de  $^{99m}\text{Tc}$ -MIBI han mostrado en estudios preliminares una correlación significativa con los niveles de Pgp [146, 178]. Además, estudios iniciales muestran que el  $^{99m}\text{Tc}$ -TTF puede ser un buen predictor de la respuesta a la quimioterapia en pacientes con CPCNP [153].



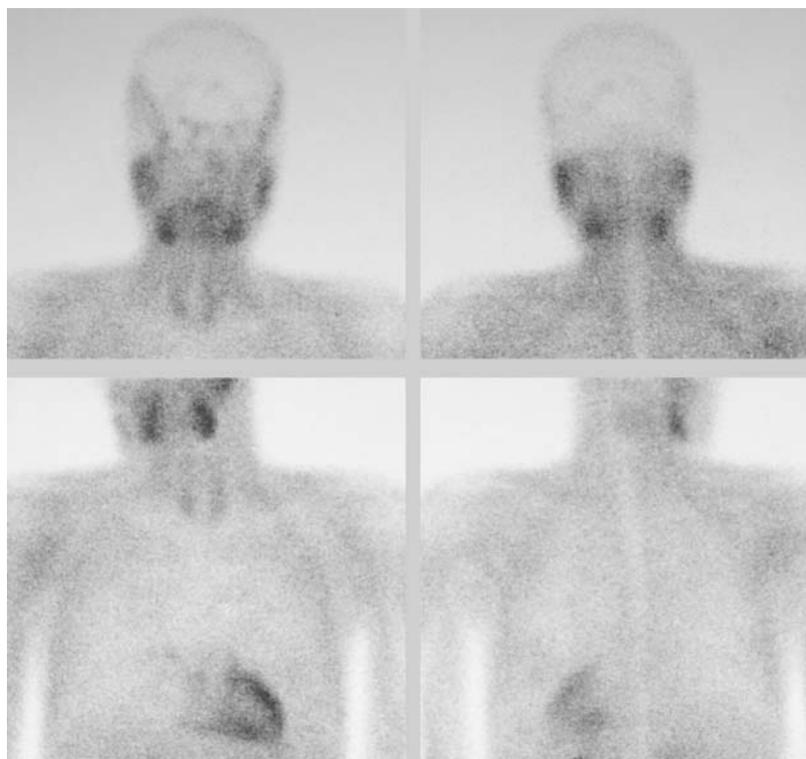
**Figura 30:** Estudio gammagráfico planar con  $^{99m}\text{Tc-MIBI}$  (a) y con  $^{99m}\text{Tc-TTF}$  (b) en que se observa una distribución muy similar de ambos radiotrazadores (glándulas salivares, tiroides, corazón e hígado). Destaca una mayor fijación hepática inicial en el estudio con  $^{99m}\text{Tc-TTF}$  con un aclaramiento más rápido de la actividad en el hígado.

El  $^{99m}\text{Tc}$ -TTF se ha empleado en el diagnóstico diferencial del nódulo pulmonar solitario con resultados prometedores, incluso mejores que la TC y comparables a la PET, destacando un estudio de 304 pacientes con lesiones intratorácicas sospechosas de malignidad que mostró cifras de sensibilidad y de especificidad para la SPECT con  $^{99m}\text{Tc}$ -TTF de hasta el 98% y el 91%, respectivamente [172].

De todas formas se trata de resultados aislados que no pueden utilizarse como referencia en la práctica clínica rutinaria y deben ser investigados más ampliamente. Hay otra serie que compara el  $^{99m}\text{Tc}$ -TTF con la PET en un estudio con 21 pacientes con CPCNP demostrado histológicamente e indica que la SPECT con  $^{99m}\text{Tc}$ -TTF no tiene suficiente sensibilidad para detectar el tumor hasta en 3/21 casos [173]. Existe otro trabajo que concluye, en cambio, que la limitación del  $^{99m}\text{Tc}$ -TTF en el diagnóstico diferencial del cáncer de pulmón es su baja especificidad [174].

En nuestra serie hemos utilizado la TC para localizar el CPCNP y hemos comprobado que en ocasiones el grado de captación es tan bajo que resultaría muy difícil su identificación sin el asesoramiento de una técnica de imagen anatómica. La baja captación de  $^{99m}\text{Tc}$ -TTF en el CPCNP que se observa en algunos casos se debe probablemente, entre otras causas, a la presencia de factores relacionados con la multiresistencia a drogas como p.e. la expresión de la Pgp, tal y como queda reflejado por Tabuenca y cols. en un estudio con 119 lesiones pulmonares con sospecha de de cáncer de pulmón [175].

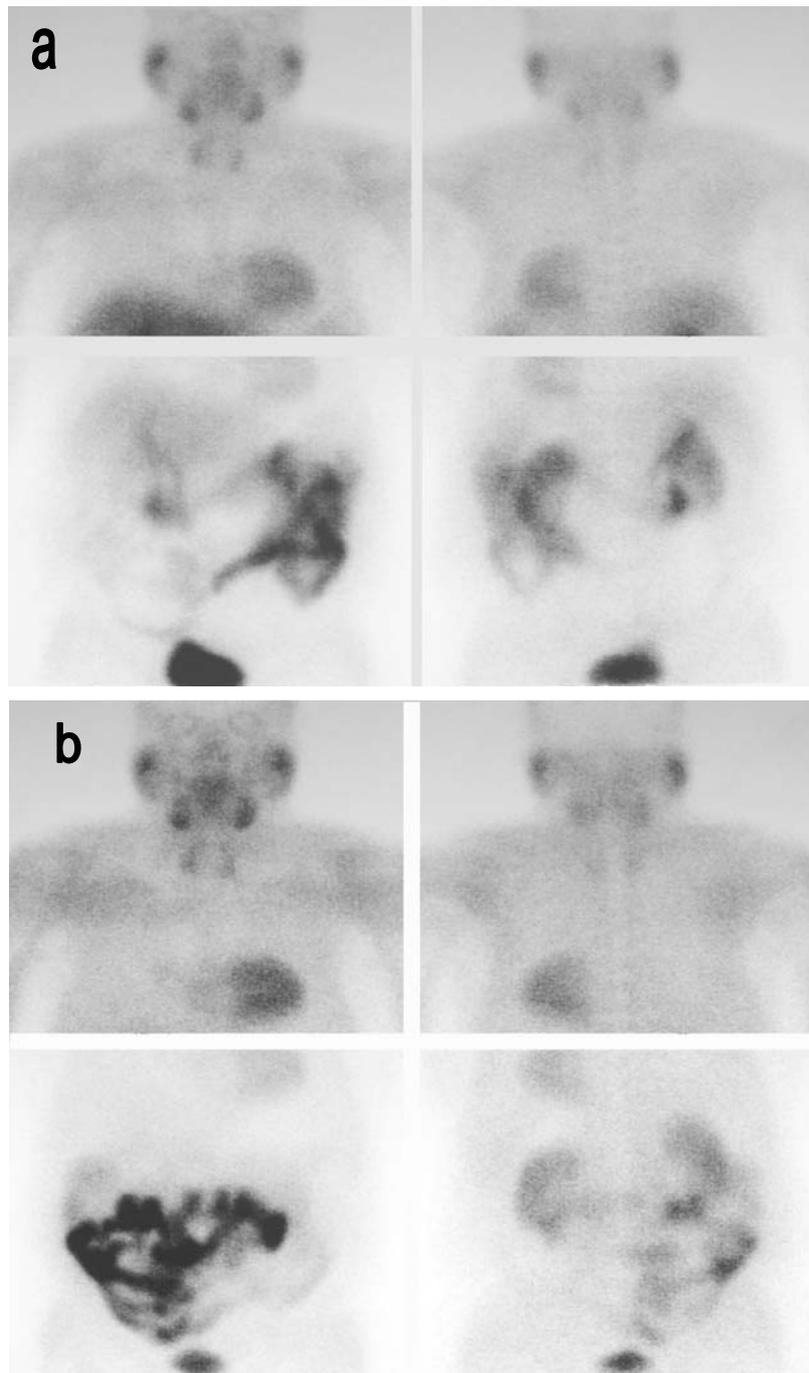
El  $^{99m}\text{Tc}$ -TTF puede detectar metástasis a distancia del CPCNP especialmente cuando existe diseminación metastásica ósea o cerebral [176] (Figura 31), aunque se ha utilizado básicamente para su estadificación locoregional en la detección de adenopatías hiliares y mediastínicas, que constituyen las vías de propagación habituales de este tipo de cáncer.



**Figura 31:** Estudio gammagráfico planar con  $^{99m}\text{Tc}$ -TTF en que se aprecia como no existe prácticamente captación cerebral, lo que permite visualizar potenciales metástasis cerebrales sin interferencias debidas a la distribución fisiológica del radiotrazador.

Sin embargo, esta técnica gammagráfica tiene evidentes limitaciones en el estudio de extensión a distancia del CPCNP. El  $^{99m}\text{Tc}$ -TTF posee actividad fisiológica que puede interferir con la valoración del abdomen debido a su doble vía de eliminación. Por un lado existe paso de radiofármaco al sistema intestinal ya que utiliza la vía

enterohepática para ser excretado del organismo, con lo que presencia de actividad intestinal, especialmente en el marco cólico, dificultará la detección de potenciales metástasis en las glándulas suprarrenales o en estructuras óseas como la columna lumbar o la pelvis. Además, el  $^{99m}\text{Tc}$ -TTF también se elimina por vía urinaria lo que supondrá otro impedimento para valorar correctamente las estructuras abdominales y pélvicas (Figura 32).



**Figura 32:** Estudio gammagráfico planar de la región toracoabdominal con  $^{99m}\text{Tc-TTF}$  (b) en que se observa una elevada captación en las asas yeyunales en la fase precoz (a) con posterior progresión hacia el ileon y el ciego en la fase tardía (b).

Los resultados obtenidos con  $^{99m}\text{Tc}$ -TTF muestran que es una técnica con potencial para diagnosticar adenopatías patológicas con una sensibilidad en las series publicadas entre el 85-90% [172, 177-178]. En nuestra serie hemos observado que la SPECT puede identificar correctamente la presencia de adenopatías patológicas hiliares y mediastínicas visibles en la TC. Sin embargo, el estudio sobre la rentabilidad en la SPECT en la estadificación locoregional del CPCNP debería realizarse de forma independiente sin el conocimiento de los hallazgos de otras técnicas de imagen. Cabe destacar que existe gran dificultad para localizar con precisión las imágenes patológicas visualizadas en la SPECT y que hace imprescindible su supervisión mediante técnicas anatómicas como la TC para diferenciar entre lesiones y falsas captaciones debidas al fondo radiactivo o a la captación fisiológica en los tejidos blandos o en la médula ósea.

En este trabajo se han realizado imágenes centradas sobre el tórax en proyección planar en dos tiempos para valorar el comportamiento del  $^{99m}\text{Tc}$ -TTF en el tumor, ya que se ha descrito que el lavado del radiotrazador puede variar según si el tumor muestra factores de resistencia al tratamiento con quimioterapia, lo que va a condicionar el tipo de respuesta clínica. En el siguiente apartado se describe la relación entre la velocidad del lavado del  $^{99m}\text{Tc}$ -TTF y la expresión tumoral de Pgp, así como su relación con la respuesta al tratamiento. Por otro lado, se han realizado imágenes en modo SPECT, lo que permite obtener imágenes en tres dimensiones lo que supone una mayor precisión para localizar la situación del tumor y una mayor

sensibilidad para su detección comparado con las imágenes en un solo plano. Tal y como se puede ver en las tablas VII-VIII de los resultados, la SPECT permitió detectar todas las lesiones tumorales, mientras que mediante las imágenes planares no se pudo visualizar el tumor en 5 casos (17%) del grupo quirúrgico y en 4 casos (12.5%) del grupo quimioterápico. En términos de cuantificación, esto se traduce en unos índices de captación tumoral globalmente más altos con técnica de SPECT ( $1.91\pm 0.55$ ) comparado con el índice medio planar ( $1.39\pm 0.23$ ).

El CPCNP es un tumor que suele presentar fenómenos de necrosis especialmente tras la aplicación de tratamientos dirigidos a su destrucción como la quimio- y/o la radioterapia, lo que en ocasiones dificulta la interpretación de la respuesta a la quimioterapia de técnicas de imagen como la TC. En nuestra serie de pacientes hemos observado la existencia de necrosis extensa (>90%) hasta en 19 casos, apreciándose en las imágenes gammagráficas como un área fría central con un halo de hipercaptación periférico, lo que no ha supuesto un problema ni en la detección del tumor ni en la cuantificación de la captación de  $^{99m}\text{Tc}$ -TTF en la lesión.

### **3 RELEVANCIA DE LA DETERMINACIÓN DE LA GLICOPROTEÍNA-P**

La acumulación de los agentes quimoterápicos en el tumor depende de las características del propio tumor pero también de la presencia de múltiples factores que dan lugar a una menor efectividad de estas terapias. El mecanismo de fijación del  $^{99m}\text{Tc}$ -TTF en la célula tumoral depende básicamente del grado de perfusión tumoral y de su actividad metabólica mitocondrial. Se han realizado investigaciones que sugieren la hipótesis de que complejos tecneciados como el  $^{99m}\text{Tc}$ -MIBI y el  $^{99m}\text{Tc}$ -TTF pueden interactuar con la Pgp, codificada por el gen MDR1, que ha demostrado disminuir la concentración de de drogas citotóxicas como las antraciclinas, podofilino, colchicina, mitomicina C y vindesina [179-180]. Sin embargo, la captación de  $^{99m}\text{Tc}$ -TTF no tiene porque indicar necesariamente que el cáncer va a ser sensible a las drogas asociadas al MDR, ya que existen otros mecanismos implicados en la resistencia múltiple a drogas [181], tales como cambios en la actividad de la glutathion S-transferasa [182], alteraciones en la topoisomerasa II [182], expresión de MDR-asociada a proteínas [183], aumento de la reparación del ADN y niveles bajos de citocromo p450 reductasa [184].

Los trabajos publicados en la literatura no muestran un acuerdo sobre en que medida el  $^{99m}\text{Tc}$ -MIBI o el  $^{99m}\text{Tc}$ -TTF pueden reflejar la expresión tumoral de Pgp. El cáncer de mama ha sido el tumor más estudiado con radiofármacos para valorar la posible

relación con la expresión de la Pgp. Existe más experiencia con la utilización de  $^{99m}\text{Tc}$ -MIBI que con  $^{99m}\text{Tc}$ -TTF, aunque existen estudios comparativos que indican que el comportamiento de ambos radiofármacos en este tipo de cáncer es muy similar. Estudios realizados por varios autores han encontrado una correlación inversa significativa entre la presencia de Pgp y la captación tumoral de  $^{99m}\text{Tc}$ -MIBI [109-111, 151]. Vecchio y cols [185] evaluaron en 27 pacientes con cáncer de mama cual era la fracción de retención de  $^{99m}\text{Tc}$ -MIBI entre los 10 minutos p.i. y los 60 minutos p.i. del  $^{99m}\text{Tc}$ -MIBI, comprobando que aquellos pacientes con niveles de Pgp bajos mostraban una retención de  $^{99m}\text{Tc}$ -MIBI en el tumor significativamente más altos (0.86 vs 0.59).

Sin embargo, hay otros grupos de investigación que no han encontrado una correlación significativa entre estos radiofármacos y la Pgp, tanto en el índice de lavado [17] como en el índice de captación mediante SPECT [109]. Kostakoglu y cols [17] en un estudio prospectivo valoraron la correlación entre el índice de lavado y el grado de captación de  $^{99m}\text{Tc}$ -MIBI con la expresión de la Pgp en muestras titulares de cáncer pulmón. Todos los pacientes tenían tumores detectables por TC y las muestras para determinar la Pgp se estudiaron mediante técnicas de inmunohistoquímica. Los resultados indicaron una correlación inversa entre el grado de captación tumoral de  $^{99m}\text{Tc}$ -MIBI y la densidad de Pgp ( $p = 0.001$ ), aunque no hubo una correlación significativa entre el índice de lavado y los niveles de Pgp ( $p = 0.414$ ). En un estudio realizado por nuestro grupo analizamos prospectivamente 15

mujeres que fueron operadas de cáncer de mama. Se realizó gammagrafía con  $^{99m}\text{Tc}$ -MIBI mediante imágenes planares y con SPECT y posterior cuantificación de la captación tumoral. La Pgp se midió en todas las pacientes a través de técnicas de inmunohistoquímica. La captación de  $^{99m}\text{Tc}$ -MIBI en los tumores con Pgp negativa fue de  $2.36\pm 1.72$  siendo globalmente más altos que en los casos con Pgp positiva ( $1.53\pm 1.29$ ). Sin embargo, aunque existía una evidente tendencia a mayor captación de  $^{99m}\text{Tc}$ -MIBI en el grupo Pgp negativo, no se encontraron diferencias significativas, probablemente debido al escaso número de casos de la muestra [109].

Recientemente se ha identificado una proteína también relacionada con la multiresistencia a drogas denominada “*resistance-related protein*”. Esta proteína se detectó en líneas celulares cáncer de pulmón selectivas a tener resistencia a la Doxorrubicina [186]. Estas líneas celulares demostraron no expresar Pgp lo que sugiere la importancia de tener en cuenta todos los factores que intervienen en la potencial resistencia a la quimioterapia incluyendo la Pgp, para poder predecir la respuesta a la quimioterapia adecuadamente. Los autores encontraron una correlación estadística entre el índice de captación de  $^{99m}\text{Tc}$ -TTF tanto con la expresión de la Pgp como con la respuesta al tratamiento. Para ello, se analizaron 20 pacientes con CPCNP avanzado a los que se realizó estudio gammagráfico con  $^{99m}\text{Tc}$ -TTF antes de iniciar tratamiento sistémico con Taxol. El índice de captación en los 10 pacientes con buena repuesta fue más alto que en los 10 pacientes con pobre repuesta. El índice de captación en los pacientes con Pgp negativa también fue más alto que en

los pacientes con expresión positiva de Pgp ( $p < 0.05$ ). Sin embargo, no hubo correlación entre la captación de  $^{99m}\text{Tc-TTF}$  y la presencia “*resistance-related protein*”.

Higashi y cols [129] compararon la captación tumoral de FDG con la expresión de Pgp medida mediante técnicas de inmunohistoquímica en pacientes con cáncer de pulmón no tratado. Se estudiaron 49 casos a los que se realizó exploración mediante FDG-PET y posterior toracotomía de resección. Se cuantificó la captación de FDG en el tumor siendo clasificados en dos grupos (baja captación de FDG, elevada captación de FDG). Se demostró que el porcentaje de áreas Pgp positivas era significativamente más bajo en el grupo de baja captación de FDG (21.7 +/- 13.4%) comparado con el otro grupo (44.1 +/- 29.7%) ( $P < 0.05$ ).

En este trabajo se midió la Pgp en 28 pacientes con CPCNP candidatos a cirugía curativa tanto en el tumor como en el tejido pulmonar sano. Nuestros resultados comparando la expresión de la Pgp y el índice de captación o el lavado de  $^{99m}\text{Tc-TTF}$  no mostraron correlación en ninguno de los dos casos. La correlación entre el lavado y la Pgp fue de 0.279, no siendo estadísticamente significativo ( $P = 0.143$ ). En cuanto al índice de captación mediante SPECT comparado con el porcentaje de Pgp expresada en el tumor para cada paciente tampoco se observó una correlación significativa entre la presencia de una mayor cantidad de Pgp y una menor captación de  $^{99m}\text{Tc-TTF}$ . El coeficiente de correlación entre la Pgp y la captación de  $^{99m}\text{Tc-TTF}$

fue de -0.035, no siendo significativamente diferente de 0 ( $P = 0.429$ ). Ahora bien, cuando efectuamos el análisis de la expresión de la Pgp teniendo en cuenta también los niveles de Pgp en el tejido pulmonar sano en cada paciente sí que se observaron diferencias estadísticas en el índice de lavado en ambos grupos ( $P < 0.05$ ), con un coeficiente de correlación de 0.387. De forma parecida, también se observaron diferencias estadísticas en el índice de captación mediante SPECT entre ambos grupos ( $P < 0.01$ ), con un coeficiente de correlación de -0.438. Una probable explicación de estos hallazgos tendría relación con la heterogeneidad de expresión de la Pgp en los diferentes tejidos del organismo [87-88, 187], lo que va a influenciar el efecto de la presencia de la Pgp en la resistencia tumoral al tratamiento con quimioterapia.

Con los resultados obtenidos podemos afirmar que la gammagrafía con  $^{99m}\text{Tc-TTF}$  permite valorar la expresión de Pgp de forma no invasiva y quizás en un futuro pueda predecir la respuesta a la quimioterapia o contribuir a la elaboración de nuevos protocolos de tratamiento en los que se incluyan moduladores de la Pgp. Su limitación es la existencia de otros mecanismos de resistencia a fármacos y la heterogeneidad en la expresión de la Pgp en un mismo tumor.

## **4 EVALUACIÓN DE LA RESPUESTA A LA QUIMOTERAPIA**

### **4.1 Predicción de la respuesta**

Un asesoramiento preciso y precoz de la respuesta en los pacientes con cáncer es fundamental para escoger el tratamiento más adecuado de una forma individualizada. La respuesta tumoral a la quimioterapia y/o radioterapia se ha valorado tradicionalmente comparando el tamaño del tumor mediante TC antes y después del tratamiento [162, 188]. Sin embargo, la capacidad de esta técnica para valorar correctamente la respuesta al tratamiento es dudosa, especialmente debido a su escaso valor para diferenciar entre cambios fibróticos o necrosis de la presencia de tumor viable. Desde la aparición de la PET con FDG que preferentemente se acumula en las células viables [189], los estudios realizados en diferentes tumores indican que es una técnica más adecuada que la TC para monitorizar la respuesta y que permite predecir la respuesta de una forma precoz. La predicción de la respuesta de la PET a la quimioterapia tanto en el CPCNP como en otros tipos de cáncer se basa en los cambios en la captación tumoral de FDG tras el inicio del primer o segundo ciclo de quimioterapia. Un trabajo con 57 pacientes con CPCNP en estadio III o IV con PET antes y después de un ciclo de quimioterapia basada en el uso de derivados del platino demostró una alta capacidad para predecir la respuesta con una sensibilidad y especificidad del 96% y del 84%, respectivamente [190].

La principal ventaja que ofrece el  $^{99m}\text{Tc}$ -TTF respecto a la PET en la valoración de la predicción de la respuesta a la quimioterapia consiste en que no requiere iniciar el tratamiento para establecer cambios en la captación tumoral, sino que es capaz de diferenciar si va a existir o no una respuesta mediante un estudio gammagráfico basal. Esta capacidad se debe a que la captación de FDG tiene relación directa con el metabolismo tumoral, mientras que la fijación de  $^{99m}\text{Tc}$ -TTF depende además de la existencia de factores de resistencia en el tumor. Esta circunstancia va a permitir evitar la demora y la toxicidad asociada como consecuencia de la administración de 1-2 ciclos de quimioterapia, hecho estrictamente necesario para valorar el potencial efecto del tratamiento tanto con la TC como para la PET.

En nuestra casuística hemos observado una alta capacidad del  $^{99m}\text{Tc}$ -TTF para predecir la respuesta a la quimioterapia en pacientes con CPCNP. Para su estudio se han clasificado los pacientes en función de la respuesta clínica con dos categorías de “sí respuesta” cuando mostraban una reducción completa del tumor o una reducción parcial  $>50\%$  y de “no respuesta” cuando el tumor progresaba o se reducía  $<50\%$ . Estos criterios son los que utiliza la WHO, que en estudios comparativos con el nuevo método de valoración de los cambios de tamaño del tumor por TC, cuya aplicación fue posterior al análisis efectuado en la muestra de pacientes de este trabajo, coinciden en afirmar que los resultados son similares con la ventaja adicional de que se trata de una medida más sencilla de realizar [191]. El análisis demostró que había diferencias significativas tanto en el índice de captación de la SPECT

( $P < 0.001$ ) como en el índice de lavado ( $P < 0.005$ ) entre ambos tipos de respuesta. No se han publicado series amplias que confirmen nuestros resultados aunque hay un trabajo con 30 pacientes con CPCNP que mostraron un valor medio de captación mayor en el grupo respondedor con respecto al grupo que no respondió a la quimioterapia con diferencias estadísticamente significativas [159]. Hay un segundo trabajo que demuestra índices de retención más altos en pacientes con una respuesta a la quimioterapia favorable [161].

El punto de corte en que el índice de captación en la SPECT va a permitir establecer si el paciente mostrará o no una respuesta al tratamiento se ha estimado en 1.8 con un IC del 95% de [1.69; 2.15]. En este punto se consigue una sensibilidad de 0.875 con un IC del 95.17% de [0.73; 1] y una especificidad de 0.93 con un intervalo de confianza del 98,14% de [0.67; 1].

El porcentaje de respuesta más elevado en el CPCNP se ha conseguido con la introducción de los taxoles y los derivados del platino en las diferentes pautas de quimioterapia con ratios objetivos de respuesta de más del 20% [192]. Kao y cols [153] estudiaron 20 pacientes con CPCNP avanzado (IIIB o IV) a los que les realizó una gammagrafía planar precoz y tardía con  $^{99m}\text{Tc}$ -TTF antes de iniciar tratamiento quimioterápico con paclitaxel y concluyó que los pacientes con buena respuesta mostraban índices de captación significativamente más altos ( $1.59 \pm 0.25$  y  $1.50 \pm 0.25$ ) que aquellos con una mala respuesta ( $1.09 \pm 0.09$  y  $1.03 \pm 0.05$ ). Sin embargo, no fue

así en el análisis del índice de lavado ya que ambos tipos de respuesta mostraban valores similares con medias de -5.70% y de -5.23%, respectivamente ( $P = 0.801$ ).

Tal y como se ha descrito en el apartado de metodología se han utilizado diferentes pautas de quimioterapia según el estadio clínico de cada paciente (estadios IIIA, IIIB, IV). En aquellos pacientes en estadio IIIA además del tratamiento con quimioterapia se administró radioterapia concomitante. Esta heterogeneidad en el tratamiento puede dificultar el análisis del comportamiento del  $^{99m}\text{Tc-TTF}$  para cada agente quimioterápico empleado. En nuestra serie de pacientes se han empleado combinaciones con taxol o con derivados del platino en todos los pacientes. Las diferencias en los índices de captación de la SPECT entre ambos tipos de respuesta es más alto en nuestra serie, lo que redundará en una mayor capacidad para establecer un punto de corte entre ambos grupos. Por otra parte, en nuestra casuística si que se han encontrado diferencias significativas en ambos grupos en la velocidad de lavado tal y como se ha descrito previamente en este apartado.

Nuestros resultados, así como la experiencia de diversos grupos en otras neoplasias, parecen estar de acuerdo en que existe una correlación lineal inversa entre el grado de captación gammagráfica de  $^{99m}\text{Tc-TTF}$  y la buena o mala respuesta al tratamiento con quimioterapia. Además, por los resultados obtenidos podemos sugerir que estableciendo un punto de corte de 1.8 esta técnica permite diferenciar con elevada especificidad (0.93) si el paciente va a responder al tratamiento con quimioterapia.

De estos resultados se puede sugerir que la utilización de la gammagrafía con  $^{99m}\text{Tc}$ -TTF en el algoritmo diagnóstico del CPCNP localmente avanzado o metastático en pacientes candidatos a quimioterapia neoadyuvante o adyuvante, podría permitir una selección individualizada del tratamiento. Cabe pensar que como consecuencia de que esta técnica puede diferenciar si el la quimioterapia tendrá o no eficacia antes de iniciar su administración, esto lograría disminuir la toxicidad innecesaria de un tratamiento ineficaz. Además, la detección de esta ineficacia permitiría el empleo de una quimioterapia alternativa de forma precoz, lo que redundaría probablemente en disminuir el tiempo de progresión de la enfermedad.

#### **4.2 Monitorización de la respuesta**

No existe ninguna duda que técnicas gammagráficas como el  $^{99m}\text{Tc}$ -TTF no pueden competir con la definición anatómica que ofrecen tanto la radiografía como la TC en la valoración de la localización y el tamaño de la lesión tumoral, así como los detalles anatómicos que la caracterizan y su relación con los tejidos circundantes. Sin embargo, es de vital importancia averiguar si la masa detectada por estas técnicas de imagen tras tratamiento con quimioterapia o radioterapia es debida a fibrosis o necrosis inducida por el tratamiento o bien se trata de persistencia de enfermedad residual. EL  $^{67}\text{Ga}$ ,  $^{201}\text{Tl}$  y más recientemente la PET y los compuestos tecnecios como el  $^{99m}\text{Tc}$ -MIBI y el  $^{99m}\text{Tc}$ -TTF se han utilizado para establecer este diagnóstico diferencial [193-195]. De las técnicas nucleares mencionadas la FDG-PET es la

técnica que ha demostrado mejores resultados hasta el momento, aunque debe ampliarse su estudio tanto en el CPCNP como en otros tumores para establecer su verdadero rol.

La respuesta tumoral valorada mediante gammagrafía con  $^{99m}\text{Tc}$ -MIBI en el cáncer de mama ha demostrado que las pacientes con respuesta favorable al tratamiento presentan una reducción en la acumulación de este radiofármaco en la lesión [196]. Sin embargo, este comportamiento puede verse tanto en el caso de apoptosis como debido a la aparición de células resistentes que produzcan un lavado más rápido del  $^{99m}\text{Tc}$ -MIBI del tumor. Por esta causa la reducción de captación del radiofármaco puede ser erróneamente interpretado como una buena respuesta y los resultados deben valorarse con cautela.

En nuestra población a estudio hemos observado una buena correlación del  $^{99m}\text{Tc}$ -TTF comparado con la TC, que constituye el método actual de referencia, para diferenciar entre una respuesta parcial o completa del tumor a la quimioterapia frente a una estabilidad-progresión de la enfermedad. En nuestra serie de pacientes pudimos observar que en el grupo de “no respuesta”, el cambio de captación del tumor en la SPECT antes y después de la quimioterapia era prácticamente despreciable (0.11); mientras que en el grupo de “sí respuesta”, la captación del tumor en la SPECT realizada tras el tratamiento disminuía significativamente comparado con el otro grupo ( $P = 0.05$ ), con un cambio de captación medio de 0.40. Del mismo modo, el

análisis de la velocidad del lavado del  $^{99m}\text{Tc}$ -TTF en el tumor mostró que en el grupo de “no respuesta” no había cambios significativos entre ambos controles gammagráficos; mientras que en los pacientes con “sí respuesta” el lavado era significativamente más lento en el control post-tratamiento ( $P = 0.04$ ).

Por tanto, parece que esta técnica podría tener algún papel relevante, en la monitorización del tratamiento de los pacientes subsidiarios de tratamiento quimioterápico electivo (Estadios IIIb o IV) o en pacientes subsidiarios de tratamiento quimioterápico neoadyuvante, previo a la intervención quirúrgica (Estadio IIIa). Debería realizarse un estudio con una serie mas larga de pacientes para confirmar esta hipótesis. Además, los resultados deberían compararse con la FDG-PET, ya que los resultados con la PET son muy prometedores y han demostrado una mayor capacidad que la TC para determinar la persistencia de tumor versus necrosis o fibrosis en el CPCNP y en otro tipo de tumores.

## **5 VALORACIÓN DEL PRONÓSTICO Y DE LA SUPERVIVENCIA**

El cáncer de pulmón es el más frecuente en el mundo y el primer causante de muerte por cáncer en hombres y mujeres en los Estados Unidos. La supervivencia media del CPCNP incluyendo todos los estadios de la enfermedad es del 14%, cifras que se han mantenido sin cambios significativos durante las dos últimas décadas. Para los casos con enfermedad localizada (Estadio I) la supervivencia a los 5 años aumenta hasta el 49%, aunque únicamente un 15% de pacientes con CPCNP son descubiertos en esta fase de la enfermedad [197].

La gran variedad de presentaciones clínicas del CPCNP hacen muy difícil establecer un pronóstico de forma individualizada para cada paciente. Existen múltiples posibles manifestaciones tanto del tumor primario como de los implantes metastásicos y de los síndromes paraneoplásicos que se asocian con frecuencia a este tipo de tumor. La literatura ha identificado más de 150 factores pronósticos relacionados con el propio tumor, con las características del paciente o con los medios que se disponen en cada entorno particular. Sin embargo, a excepción de la estadificación de la enfermedad en el momento del diagnóstico, los análisis realizados con estos factores pronósticos de una forma individual no han demostrado una relevancia concluyente de ninguno de ellos [198].

Los continuos avances tecnológicos en el campo de las técnicas de diagnóstico por la imagen obligan a replantear constantemente cuales son los medios que deben usarse para el manejo de enfermedades como el cáncer de pulmón. Es indudable que técnicas como la TC espiral con contraste o la PET han contribuido a una detección precoz del cáncer de pulmón, así como a establecer un estudio de extensión muy preciso de la enfermedad. La utilización de estas herramientas ha supuesto un impacto en el manejo de estos pacientes, lo que ha derivado en un mejor pronóstico global del CPCNP así como en otros tipos de cáncer. Sin embargo, a pesar de los avances diagnósticos, la mortalidad del cáncer de pulmón en aquellos casos en que la enfermedad se encuentra localmente avanzada o existe diseminación a distancia y la cirugía curativa no es posible la mortalidad sigue siendo muy elevada.

Si bien se cree que la quimioterapia ha contribuido sustancialmente en el tratamiento del cáncer de pulmón avanzado, esta modalidad terapéutica ha demostrado ser útil en un número elevado de casos para reducir el tumor, aunque no existe un acuerdo generalizado de que su utilización suponga un beneficio terapéutico significativo en términos de mortalidad. Para la gran mayoría de los cánceres epiteliales avanzados incluyendo el CPCNP, no hay evidencia de que el tratamiento quimioterápico aumente la supervivencia o mejore la calidad de vida de estos pacientes. La única manera de obtener información fiable sobre el valor relativo de la quimioterapia es realizar comparaciones aleatorias, ya que de otra forma la supervivencia a 5 años puede ser mejor hoy que años atrás debido a mejoras en la detección temprana y/o a

mejoras en los cuidados paliativos. Cabe recordar que la quimioterapia produce efectos tóxicos que influyen negativamente en la calidad de vida y que, en ocasiones, pueden causar la muerte de los enfermos. En nuestra serie de 40 pacientes sometidos a quimioterapia, en cinco de ellos se produjo el éxitus durante el curso de la quimioterapia como consecuencia de la toxicidad derivada de este tratamiento, lo que representa hasta un 12.5% de los pacientes.

En nuestra serie de pacientes se confirma un evidente mejor pronóstico en aquellos pacientes con enfermedad potencialmente operable (grupo quirúrgico) con un 60% de casos con supervivencia >5 años, comparado con aquellos casos de enfermedad no operable o que requieren neoadyuvancia previa (Grupo quimioterápico) en que tan solo lo consiguieron en un 12.5% de los casos. Cabe mencionar que los estudios de supervivencia deben realizarse con series muy largas de pacientes y que sean representativos de la comunidad, por lo que este trabajo no permite obtener conclusiones válidas tanto de tipo epidemiológico como de tipo pronóstico.

En el grupo quirúrgico (Tabla XI) no se observaron diferencias significativas en la supervivencia media de los pacientes cuando se tuvo en cuenta la expresión de Pgp. Tampoco se encontró ninguna relación significativa entre la supervivencia y el índice de captación mediante SPECT. Un 60% de los pacientes de este grupo mostraron una supervivencia mayor a 5 años, tal y como se representa en la Figura 28.

La supervivencia media a los 5 años en el grupo quimioterápico (Tabla XII) fue mayor en los pacientes con “sí respuesta” al tratamiento (Figura 29), los cuales mostraban un índice de captación mediante la SPECT significativamente más alto ( $P < 0.001$ ). Esta asociación sugiere que en los pacientes con CPCNP localmente avanzado o con enfermedad a distancia candidatos a tratamiento sistémico con quimioterapia, la gammagrafía con  $^{99m}\text{Tc}$ -TTF podría tener un papel relevante como factor pronóstico de la enfermedad. Tan solo en un 12.5% de los casos de este grupo se consiguió una supervivencia mayor a 5 años, lo que va acorde con los resultados esperables en este estadio del CPCNP.

## **CONCLUSIONES**

La conclusión principal del estudio es que la gammagrafía con  $^{99m}\text{Tc}$ -TTF puede ser una técnica útil para predecir y monitorizar la respuesta a la quimioterapia en pacientes con CPCNP. Esta técnica permite valorar la expresión de Pgp en estos pacientes.

1. No existe relación entre el grado de captación de  $^{99m}\text{Tc}$ -TTF y el tipo histológico del CPCNP, habiéndose valorado los tipos histológicos más observados, es decir, el carcinoma escamoso (n = 35) y el adenocarcinoma (n = 22).

2. El índice de captación mediante SPECT y el índice de lavado planar se correlacionan con la expresión de Pgp en el CPCNP, teniendo en cuenta los niveles de Pgp en el tumor y en el tejido pulmonar sano.

3. El índice de captación mediante SPECT y el índice de lavado planar se correlacionan con la respuesta del CPCNP a la quimioterapia. Una captación intensa de  $^{99m}\text{Tc}$ -TTF en el tumor antes de iniciar el tratamiento conduce a una regresión del tumor, mientras que una captación tumoral baja de  $^{99m}\text{Tc}$ -TTF va asociada a una ausencia de respuesta o a una progresión de la lesión. Además, un lavado rápido del  $^{99m}\text{Tc}$ -TTF en el tumor es un factor indicativo de no respuesta a la quimioterapia.

**4.** El índice de captación mediante SPECT son útiles en la monitorización de la respuesta del CPCNP a la quimioterapia.

**5.** El índice de captación mediante SPECT es útil en la valoración del pronóstico de pacientes con CPCNP no operable candidatos a quimioterapia. El grupo de pacientes con respuesta completa o parcial a la quimioterapia (mayor supervivencia) mostraron índices de captación gammagráficos significativamente más altos y un lavado más lento de radiotrazador que en el grupo de no respuesta o progresión de la enfermedad (menor supervivencia).

**BIBLIOGRAFÍA**

1. Boyle P, Ferlay J. Cancer incidence and mortality in Europe, 2004. *Ann Oncol* 2005; 16(3):481-488.
2. Lopez-Abente G, Pollan M, Aragonés N et al. State of cancer in Spain: incidence. *An Sist Sanit Navar* 2004; 27(2):165-173.
3. Coleman M, Gatta G, Verdecchia A et al. EUROCORE-3 summary: cancer survival in Europe at the end of the 20th century. *Ann Oncol* 2003; 14S(5):128-149.
4. Bashir SA, Esteve J. Analysing the difference due to risk and demographic factors for incidence or mortality. *Int J Epidemiol* 2000; 29(5):878-884.
5. Rosell R, Cuello M, Cecere F, et al. Treatment of non-small-cell-lung-cancer and pharmacogenomics: where we are and where we are going. *Curr Opin Oncol* 2006; 18(2):135-143.
6. Wingo PA, Ries LAG, Giovino GA et al. Annual report to the nation on the status of cancer, 1973-1996, with a special section on lung cancer and tobacco smoking. *J Natl Cancer I* 1999; 91(8):675-690.
7. Minna JD. Neoplasm of the lung. In: Anthony S. Fauci, et al (eds). *Harrison's Principals of Internal Medicine* (14<sup>th</sup> edition). Philadelphia, PA: McGraw-Hill; 1998.
8. Mountain CF. Revisions in the International System for Staging Lung Cancer. *Chest* 1997; 111(6):1710-1717.
9. Silvestri GA, Tanoue LT, Margolis ML et al. The Noninvasive staging of non-small cell lung cancer - The guidelines. *Chest* 2003; 123(1):147S-156S.
10. Jolly PC, Hutchinson CH, Detterbeck F et al. Routine Computed Tomographic Scans, Selective Mediastinoscopy, and Other Factors in Evaluation of Lung-Cancer. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1991; 102(2):266-271.
11. Toloza EM, Harpole L, Detterbeck F et al. Invasive staging of non-small cell lung cancer - A review of the current evidence. *Chest* 2003; 123(1):157S-166S.
12. [Anon]. Pretreatment evaluation of non-small-cell lung cancer. *Am J Resp Crit Care* 1997; 156(1):320-332.
13. Seo JS, Kim YJ, Choi BW et al. Usefulness of magnetic resonance imaging for evaluation of cardiovascular invasion: Evaluation of sliding motion between thoracic

mass and adjacent structures on cine MR images. *J Magn Reson Imaging* 2005; 22(2):234-241.

14. Misciasci T. Noninvasive staging of lung cancer. *Rays* 2004; 29(4):363-371.

15. Cox PH, Belfer AJ, Vanderpompe WB. Thallium-201 Chloride Uptake in Tumors, A Possible Complication in Heart Scintigraphy. *Brit J Radiol* 1976; 49(585):767-768.

16. Tonami N, Yokoyama K, Shuke N et al. Evaluation of Suspected Malignant Pulmonary-Lesions with Tl-201 Single-Photon Emission Computed-Tomography. *Nucl Med Commun* 1993; 14(7):602-610.

17. Kostakoglu L, Kirath P, Ruacan S et al. Association of tumor washout rates and accumulation of Technetium-99m-MIBI with expression of P-glycoprotein in lung cancer. *J Nucl Med* 1998; 39(2):228-234.

18. Sergieva S, Damianov D, Hadjikostova C et al. Role of 99mTc-Sestamibi for diagnosis, staging and follow up of patient with lung cancer. *Eur J Cancer* 1997; 33:1079.

19. Dadparvar S, Chevres A, Tulchinsky M et al. Clinical Utility of Tc-99M Methoxisobutylisonitrile Imaging in Differentiated Thyroid-Carcinoma - Comparison with Thallium-201 and I-131 Na Scintigraphy, and Serum Thyroglobulin Quantitation. *Eur J Nucl Med Mol I* 1995; 22(11):1330-1338.

20. Basoglu T, Sahin M, Coskun C et al. Technetium-99M-Tetrofosmin Uptake in Malignant Lung-Tumors. *Eur J Nucl Med Mol I* 1995; 22(7):687-689.

21. Hassan IM, Sahweil A, Constantinides C et al. Tc-99M Methoxy Isobutyl Isonitrile (Rp-30) Uptake in Benign and Malignant Lung Lesions. *Eur J Nucl Med Mol I* 1988; 14(5-6):307.

22. Aktolun C, Bayhan H, Kir M. Clinical-Experience with Tc-99M Mibi Imaging in Patients with Malignant-Tumors - Preliminary-Results and Comparison with Tl-201. *Clin Nucl Med* 1992; 17(3):171-176.

23. Gambhir SS, Shepherd J, Handmaker H et al. Analysis of the cost effectiveness of a somatostatin analog-tc99m-depreotide (NeoTect) in the scintigraphic evaluation of solitary pulmonary nodules (SPN). *J Nucl Med* 1999; 40(5):57P.

24. Blum J, Handmaker H, Lister-James J et al. A multicenter trial with a somatostatin analog Tc-99m depreotide in the evaluation of solitary pulmonary nodules. *Chest* 2000; 117(5):1232-1238.

25. Blum J, Handmaker H, Lister-James J et al. Tc-99m depreotide (NEOSPECT (TM)) imaging of malignant solitary pulmonary nodules: Results of a multicenter clinical trial. *Eur J Nucl Med Mol I* 1999; 26(9):966.
26. Gupta N, Chandramouli B, Reeb S et al. Diagnostic Evaluation of Solitary Pulmonary Nodules (Spns) Using Pet-Fdg Imaging. *J Nucl Med* 1994; 35(5):76.
27. Gupta N, Dewan N, Frank A et al. Presurgical Evaluation of Patients with Suspected Malignant Solitary Pulmonary Nodules (Spn) Using Pet-Fdg Imaging. *J Nucl Med* 1993; 34(5):20-21.
28. Rusch V, Macapinlac H, Heelan R et al. Nr-Lu-10 Monoclonal-Antibody Scanning - A Helpful New Adjunct to Computed-Tomography in Evaluating Non-Small-Cell Lung-Cancer. *J Thorac Cardiovasc Sur* 1993; 106(2):200-204.
29. Vansant JP, Johnson DH, Odonnell DM et al. Staging Lung-Carcinoma with A Tc-99M Labeled Monoclonal-Antibody. *Clin Nucl Med* 1992; 17(6):431-438.
30. Breitz HB, Sullivan K, Nelp WB. Imaging Lung-Cancer with Radiolabeled Antibodies. *Semin Nucl Med* 1993; 23(2):127-132.
31. Kramer EL, Noz ME, Liebes L et al. Radioimmunodetection of Nonsmall Cell Lung-Cancer Using Technetium-99M-Anticarcinoembryonic Antigen Immu-4 Fab' Fragment - Preliminary-Results. *Cancer* 1994; 73(3):890-895.
32. Friedman S, Sullivan K, Salk D et al. Staging Non-Small-Cell Carcinoma of the Lung Using Tc-99M-Labeled Monoclonal-Antibodies. *Hematol Oncol Clin N* 1990; 4(6):1069-1078.
33. Bekerman C, Caride VJ, Hoffer PB et al. Noninvasive Staging of Lung-Cancer - Indications and Limitations of Ga-67-Citrate Imaging. *Radiol Clin N Am* 1990; 28(3):497-510.
34. Hagemester FB, Fesus SM, Lamki LM et al. Role of the Gallium Scan in Hodgkins-Disease. *Cancer* 1990; 65(5):1090-1096.
35. Kostakoglu L, Yeh SDJ, Portlock C et al. Validation of Gallium-67-Citrate Single-Photon Emission Computed-Tomography in Biopsy-Confirmed Residual Hodgkins-Disease in the Mediastinum. *J Nucl Med* 1992; 33(3):345-350.
36. Hagemester FB, Purugganan R, Podoloff DA et al. The Gallium Scan Predicts Relapse in Patients with Hodgkins-Disease Treated with Combined-Modality Therapy. *Ann Oncol* 1994; 5:S59-S63.
37. Front D, BarShalom R, Israel O. The continuing clinical role of gallium 67 scintigraphy in the age of receptor imaging. *Semin Nucl Med* 1997; 27(1):68-74.

38. Erturan S, Yaman M, Aydin G et al. The role of whole-body bone scanning and clinical factors in detecting bone metastases in patients with non-small cell lung cancer. *Chest* 2005; 127(2):449-454.
39. Kumar R, Xiu Y, Yu JQ et al. F-18-FDG PET in evaluation of adrenal lesions in patients with lung cancer. *J N Med* 2004; 45(12):2058-2062.
40. Bury T, Paulus P, Dowlati A et al. Staging of the mediastinum: Value of positron emission tomography imaging in non-small cell lung cancer. *Eur Respir J* 1996; 9(12):2560-2564.
41. Sekido Y, Fong K, Minna J. Cancer of the lung. In: De Vita VT Jr, Hellman S, Rosenberg SA (eds). *Cancer: Principles and Practice of Oncology* (6<sup>th</sup> edition) Philadelphia, PA: Lippincott Williams & Wilkins; 2001:917-983.
42. Vansteenkiste J, Lacquet LM, Demedts M et al. Transcarinal Needle Aspiration Biopsy in the Staging of Lung-Cancer. *Eur Respir J* 1994; 7(2):265-268.
43. Feld R, Rubinstein L, Thomas PA. Adjuvant Chemotherapy with Cyclophosphamide, Doxorubicin, and Cisplatin in Patients with Completely Resected Stage-I Non-Small-Cell Lung-Cancer. *J Natl Cancer I* 1993; 85(4):299-306.
44. Crawford J, ORourke M, Schiller JH et al. Randomized trial of vinorelbine compared with fluorouracil plus leucovorin in patients with stage IV non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol* 1996; 14(10):2774-2784.
45. Rosell R, Felip E, Maestre J et al. The role of chemotherapy in early non-small-cell lung cancer management. *Lung Cancer* 2001; 34:S63-S74.
46. Rosell R, Gomezcodina J, Camps C et al. A Randomized Trial Comparing Preoperative Chemotherapy Plus Surgery with Surgery Alone in Patients with Non-Small-Cell Lung-Cancer. *NEJM* 1994; 330(3):153-158.
47. Anderson H, Hopwood P, Stephens RJ et al. Gemcitabine plus best supportive care (BSC) vs BSC in inoperable non-small cell lung cancer - a randomized trial with quality of life as the primary outcome. *Brit J Cancer* 2000; 83(4):447-453.
48. Ranson M, Davidson N, Nicolson M et al. Randomized trial of paclitaxel plus supportive care versus supportive care for patients with advanced non-small-cell lung cancer. *J Natl Cancer I* 2000; 92(13):1074-1080.
49. Roszkowski K, Pluzanska A, Krzakowski M et al. A multicenter, randomized, phase III study of docetaxel plus best supportive care versus best supportive care in chemotherapy-naive patients with metastatic or non-resectable localized non-small cell lung cancer (NSCLC). *Lung Cancer* 2000; 27(3):145-157.

50. Sandler AB, Nemunaitis J, Denham C et al. Phase III trial of gemcitabine plus cisplatin versus cisplatin alone in patients with locally advanced or metastatic non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol* 2000; 18(1):122-130.
51. Georgoulas V, Papadakis E, Alexopoulos A et al. Docetaxel plus cisplatin versus docetaxel plus gemcitabine chemotherapy in advanced non-small cell lung cancer: A preliminary analysis of a multicenter randomized phase II trial. *Eur J Cancer* 1999; 35:S249.
52. Le Chevalier T, Brisgand D, Soria JC et al. Long term analysis of survival in the European randomized trial comparing vinorelbine/cisplatin to vindesine/cisplatin and vinorelbine alone in advanced non-small cell lung cancer. *Oncologist* 2001; 6:8-11.
53. Le Chevalier T, Arriagada R, Le Pechoux C et al. Cisplatin-based adjuvant chemotherapy in patients with completely resected non-small-cell lung cancer. *NEJM* 2004; 350(4):351-360.
54. Schiller JH, Harrington D, Belani CP et al. Comparison of four chemotherapy regimens for advanced non-small-cell lung cancer. *NEJM* 2002; 346(2):92-98.
55. Smit EF, van Meerbeeck JPAM, Lianes P et al. Three-arm randomized study of two cisplatin-based regimens and paclitaxel plus gemcitabine in advanced non-small-cell lung cancer: A phase III trial of the European Organization for Research and Treatment of Cancer Lung Cancer Group - EORTC 08975. *J Clin Oncol* 2003; 21(21):3909-3917.
56. Scagliotti GV, De Marinis F, Rinaldi M et al. Phase III randomized trial comparing three platinum-based doublets in advanced non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol* 2002; 20(21):4285-4291.
57. Fossella F, Pereira JR, von Pawel J et al. Randomized, multinational, phase III study of docetaxel plus platinum combinations versus vinorelbine plus cisplatin for advanced non-small-cell lung cancer: The TAX 326 study group. *J Clin Oncol* 2003; 21(16):3016-3024.
58. Kelly K, Crowley J, Bunn PA et al. Randomized phase III trial of paclitaxel plus carboplatin versus vinorelbine plus cisplatin in the treatment of patients with advanced non-small-cell lung cancer: A Southwest Oncology Group trial. *J Clin Oncol* 2001; 19(13):3210-3218.
59. Rosell R, Felip E, Massuti B et al. A sequence-dependent paclitaxel/etoposide phase II trial in patients with non-small cell lung cancer. *Semin Oncol* 1997; 24(4):56-60.

60. Rosell R, Pifarre A, Monzo M et al. Reduced survival in patients with stage-I non-small-cell lung cancer associated with DNA-replication errors. *Int J Cancer* 1997; 74(3):330-334.
61. Kimura Y, Furuhashi T, Shiratsuchi T et al. GML sensitizes cancer cells to Taxol by induction of apoptosis. *Oncogene* 1997; 15(11):1369-1374.
62. Midis GP, Shen Y, OwenSchaub LB. Elevated soluble Fas (sFas) levels in nonhematopoietic human malignancy. *Cancer Res* 1996; 56(17):3870-3874.
63. De Vita TJ. Principles of Chemotherapy. En De Vita Jr, Hellman S, Rosenberg SA eds. *Cancer: Principles and practice of Oncology*, 2th Ed. Philadelphia: JB Lippincott, 1989: 278-285. 2006.
64. Bellamy WT, Dalton WS. Multidrug-Resistance in the Laboratory and Clinic. *Advances in Clinical Chemistry*, Vol 31 1994; 31:1-61.
65. Beck W, Dalton W. Mechanisms of drug resistance. In: DeVita VT Jr, Hellman S, Reosenberg SA eds. *Cancer: principles and practice of oncology*, 5thEd. Philadelphia: Lippincott-Raven Publishers, 1997: 498-512. 2006.
66. Buzzaiz A, Cadman E. Pharmacology and antineoplastic agents and mechanisms of multidrug resistance. In: *Hematology, basis, principles and practice*. Hoffman R, Benz E, Shattil S eds, London. Churchill Livingstone Inc 1991: 669-683. 2006.
67. Hayes JD, Wolf CR. Molecular Mechanisms of Drug-Resistance. *Biochem J* 1990; 272(2):281-295.
68. Thompson CB. Apoptosis in the Pathogenesis and Treatment of Disease. *Science* 1995; 267(5203):1456-1462.
69. Beck WT. The Cell Biology of Multiple-Drug Resistance. *Biochem Pharmacol* 1987; 36(18):2879-2887.
70. Chabner BA, Gottesman MM. Meeting Highlights - William-Guy-Forbeck-Foundation Think Tank on Multidrug Resistance in Cancer-Chemotherapy. *J Natl Cancer I* 1988; 80(6):391-394.
71. Moscow JA, Cowan KH. Multidrug Resistance. *J Natl Cancer I* 1988; 80(1):14-20.
72. Kaye SB. The Multidrug Resistance Phenotype. *Brit J Cancer* 1988; 58(6):691-694.
73. Kartner N, Ling V. Multidrug Resistance in Cancer. *Sci Am* 1989; 260(3):44-51.

74. Krishan A, Fitz CM, Andritsch I. Drug retention, efflux, and resistance in tumor cells. *Cytometry* 1997; 29(4):279-285.
75. Juliano RL, Ling V. Surface Glycoprotein Modulating Drug Permeability in Chinese-Hamster Ovary Cell Mutants. *BBA-REV Cancer* 1976; 455(1):152-162.
76. Kartner N, Riordan JR, Ling V. Cell-Surface P-Glycoprotein Associated with Multidrug Resistance in Mammalian-Cell Lines. *Science* 1983; 221(4617):1285-1288.
77. Juranka PF, Zastawny RL, Ling V. P-Glycoprotein - Multidrug-Resistance and A Superfamily of Membrane-Associated Transport Proteins. *Faseb J* 1989; 3(14):2583-2592.
78. Horio M, Gottesman MM, Pastan I. Atp-Dependent Transport of Vinblastine in Vesicles from Human Multidrug-Resistant Cells. *P Natl Acad Sci USA* 1988; 85(10):3580-3584.
79. Ling V. Multidrug resistance: Molecular mechanisms and clinical relevance. *Cancer Chemoth Pharm* 1997; 40:S3-S8.
80. Callen DF, Baker E, Simmers RN et al. Localization of the Human Multiple-Drug Resistance Gene, Mdr1, to 7Q21.1. *Hum Genet* 1987; 77(2):142-144.
81. Shen DW, Fojo A, Chin JE et al. Human Multidrug-Resistant Cell-Lines - Increased Mdr1 Expression Can Precede Gene Amplification. *Science* 1986; 232(4750):643-645.
82. Pastan I, Gottesman M, Kahn CR et al. Multiple-Drug Resistance in Human Cancer. *NEJM* 1987; 316(22):1388-1393.
83. Gottesman MM, Pastan I. The Multidrug Transporter, A Double-Edged Sword. *J Biol Chem* 1988; 263(25):12163-12166.
84. Endicott JA, Ling V. The Biochemistry of P-Glycoprotein-Mediated Multidrug Resistance. *Annu Rev Biochemistry* 1989; 58:137-171.
85. Ueda K, Okamura N, Hirai M et al. Human P-Glycoprotein Transports Cortisol, Aldosterone, and Dexamethasone, But Not Progesterone. *J Biol Chem* 1992; 267(34):24248-24252.
86. Fojo AT, Ueda K, Slamon DJ et al. Expression of A Multidrug-Resistance Gene in Human-Tumors and Tissues. *P Natl Acad Sci USA* 1987; 84(1):265-269.
87. Vandervalk P, Vankalken CK, Ketelaars H et al. Distribution of Multidrug Resistance-Associated P-Glycoprotein in Normal and Neoplastic Human Tissues -

Analysis with 3 Monoclonal-Antibodies Recognizing Different Epitopes of the P-Glycoprotein Molecule. *Ann Oncol* 1990; 1(1):56-64.

88. Chaudhary PM, Roninson IB. Expression and Activity of P-Glycoprotein, A Multidrug Efflux Pump, in Human Hematopoietic Stem-Cells. *Cell* 1991; 66(1):85-94.

89. Goldstein LJ, Galski H, Fojo A et al. Expression of A Multidrug Resistance Gene in Human Cancers. *J Natl Cancer I* 1989; 81(2):116-124.

90. Beck WT, Grogan TM, Willman CL et al. Methods to detect P-glycoprotein-associated multidrug resistance in patients tumors: Consensus recommendations. *Cancer Res* 1996; 56(13):3010-3020.

91. Chan HSL, Haddad G, Zheng L et al. Sensitive immunofluorescence detection of the expression of P-glycoprotein in malignant cells. *Cytometry* 1997; 29(1):65-75.

92. Monden N, Abe S, Sutoh I et al. Prognostic significance of the expressions of metallothionein, glutathione-S-transferase-Pi, and P-glycoprotein in curatively resected gastric cancer. *Oncology* 1997; 54(5):391-399.

93. Kunikane H, Zalupski MM, Ramachandran C et al. Flow cytometric analysis of P-glycoprotein expression and drug efflux in human soft tissue and bone sarcomas. *Cytometry* 1997; 30(4):197-203.

94. Gros P, Talbot F, Tangwai D et al. Lipophilic Cations - A Group of Model Substrates for the Multidrug-Resistance Transporter. *Biochemistry* 1992; 31(7):1992-1998.

95. Piwnicaworms D, Chiu ML, Budding M et al. Functional Imaging of Multidrug-Resistant P-Glycoprotein with An Organotechnetium Complex. *Cancer Res* 1993; 53(5):977-984.

96. Ballinger JR, Muzzammil T, Moore MJ. Technetium-99m-furifosmin as an agent for functional imaging of multidrug resistance in tumors. *J Nucl Med* 1997; 38(12):1915-1919.

97. Ballinger JR, Bannerman J, Boxen I et al. Technetium-99m-tetrofosmin as a substrate for P-glycoprotein: In vitro studies in multidrug resistant breast tumor cells. *J N Med* 1996; 37(9):1578-1582.

98. Derebek E, Kirkali Z, Dogan AS et al. Tc-99m-MIBI scintigraphy in metastatic renal cell carcinoma: Clinical validation of the relationship between Tc-99m-MIBI uptake and P-glycoprotein expression in tumour tissue. *Eur J Nucl Med Mol I* 1996; 23(8):976-979.

99. DelVecchio S, Ciarmiello A, Potena MI et al. In vivo detection of multidrug-resistant (MDR1) phenotype by technetium-99m sestamibi scan in untreated breast cancer patients. *Eur J Nucl Med Mol I* 1997; 24(2):150-159.
100. Ballinger JR. Tc-99m-tetrofosmin for functional imaging of P-glycoprotein modulation in vivo. *J Clin Pharmacol* 2001;39S-47S.
101. Utsunomiya K, Ballinger JR, Piquette-Miller M et al. Comparison of the accumulation and efflux kinetics of technetium-99m sestamibi and technetium-99m tetrofosmin in an MRP-expressing tumour cell line. *Eur J Nucl Med Mol I* 2000; 27(12):1786-1792.
102. Kostakoglu L, Goldsmith SJ. F-18-FDG PET evaluation of the response to therapy for lymphoma and for breast, lung, and colorectal carcinoma. *J Nucl Med* 2003; 44(2):224-239.
103. Kato H, Kuwano H, Nakajima M et al. Usefulness of positron emission tomography for assessing the response of neoadjuvant chemoradiotherapy in patients with esophageal cancer. *Am J Surg* 2002; 184(3):279-283.
104. Hazelton TR, Coppage L. Imaging for lung cancer restaging. *Semin Roentgenol* 2005; 40(2):182-192.
105. Milleron B, Westeel V, Quoix E et al. Complete response following preoperative chemotherapy for resectable non-small cell lung cancer - Accuracy of clinical assessment using the French trial database. *Chest* 2005; 128(3):1442-1447.
106. Hellwig D, Graeter TP, Ukena D et al. Value of F-18-fluorodeoxyglucose positron emission tomography after induction therapy of locally advanced bronchogenic carcinoma. *J Thorac Cardiovasc Sur* 2004; 128(6):892-899.
107. Shimizu M, Seto H, Kageyama M et al. Assessment of treatment response in irradiated lung cancer by sequential thallium-201 SPECT: comparison with tumor volume change and survival time. *Radiat Med.* 1996 Jan-Feb;14(1):7-12. 2006.
108. Kao CH, Hsieh JF, Tsai SC et al. Quickly predicting chemotherapy response to paclitaxel-based therapy in non-small cell lung cancer by early technetium-99m methoxyisobutylisonitrile chest single-photon-emission computed tomography. *Clin Cancer Res* 2000; 6(3):820-824.
109. Fuster D, Munoz M, Pavia J et al. Quantified Tc-99m-MIBI scintigraphy for predicting chemotherapy response in breast cancer patients: factors that influence the level of Tc-99m-MIBI uptake. *Nucl Med Commun* 2002; 23(1):31-38.
110. Del Vecchio S, Zannetti A, Aloj L et al. MIBI as prognostic factor in breast cancer. *QJNM* 2003; 47(1):46-50.

111. Alonso O, Delgado L, Nunez M et al. Predictive value of Tc-99m sestamibi scintigraphy in the evaluation of doxorubicin based chemotherapy response in patients with advanced breast cancer. *Nucl Med Commun* 2002; 23(8):765-771.
112. Ciarmiello A, Del Vecchio S, Silvestro P et al. Tumor clearance of technetium 99m-sestamibi as a predictor of response to neoadjuvant chemotherapy for locally advanced breast cancer. *J Clin Oncol* 1998; 16(5):1677-1683.
113. Yamamoto Y, Nishiyama Y, Satoh K et al. Comparative study of technetium-99m-sestamibi and thallium-201 SPECT in predicting chemotherapeutic response in small cell lung cancer. *J Nucl Med* 1998; 39(9):1626-1629.
114. Nishiyama Y, Yamamoto Y, Satoh K et al. Comparative study of Tc-99m MIBI and Tl-201SPECT in predicting chemotherapeutic response in non-small-cell lung cancer. *Clin Nucl Med* 2000; 25(5):364-369.
115. Brice P, Rain JD, Frija J et al. Residual Mediastinal Mass in Malignant-Lymphoma - Value of Magnetic-Resonance-Imaging and Gallium Scan. *Rev Fr Hemat* 1993; 35(4):457-461.
116. Weber WA. Use of PET for monitoring cancer therapy and for predicting outcome. *J Nucl Med* 2005; 46(6):983-995.
117. Schwarz JD, Bader M, Jenicke L et al. Early prediction of response to chemotherapy in metastatic breast cancer using sequential F-18-FDG PET. *J Nucl Med* 2005; 46(7):1144-1150.
118. Weber WA, Ott K, Becker K et al. Prediction of response to preoperative chemotherapy in adenocarcinomas of the esophagogastric junction by metabolic imaging. *J Clin Oncol* 2001; 19(12):3058-3065.
119. Kostakoglu L, Goldsmith SJ. PET in the assessment of therapy response in patients with carcinoma of the head and neck and of the esophagus. *J Nucl Med* 2004; 45(1):56-68.
120. Hicks RJ, Kalff V, MacManus MP et al. The utility of F-18-FDG PET for suspected recurrent non-small cell lung cancer after potentially curative therapy: Impact on management and prognostic stratification. *J Nucl Med* 2001; 42(11):1605-1613.
121. Patz EF, Connolly J, Herndon J. Prognostic value of thoracic FDG PET imaging after treatment for non-small cell lung cancer. *Am J Roentgenol* 2000; 174(3):769-774.
122. Avril NE, Weber WA. Monitoring response to treatment in patients utilizing PET. *Radiol Clin N Am* 2005; 43(1):189-+.

123. Rege SD, Hoh CK, Glaspy JA et al. Imaging of Pulmonary Mass Lesions with Whole-Body Positron Emission Tomography and Fluorodeoxyglucose. *Cancer* 1993; 72(1):82-90.
124. Wahl RL, Quint LE, Greenough RL et al. Staging of Mediastinal Nonsmall Cell Lung-Cancer with Fdg Pet, Ct, and Fusion Images - Preliminary Prospective Evaluation. *Radiology* 1994; 191(2):371-377.
125. Lewis P, Griffin S, Marsden P et al. Whole-Body F-18 Fluorodeoxyglucose Positron Emission Tomography in Preoperative Evaluation of Lung-Cancer. *Lancet* 1994; 344(8932):1265-1266.
126. Hoh CK, Schiepers C, Seltzer MA et al. PET in oncology: Will it replace the other modalities? *Semin Nucl Med* 1997; 27(2):94-106.
127. Schiepers C. Role of positron emission tomography in the staging of lung cancer. *Lung Cancer* 1997; 17:S29-S35.
128. Hicks RJ, Kalff V, MacManus MP et al. F-18-FDG PET provides high-impact and powerful prognostic stratification in staging newly diagnosed non-small cell lung cancer. *J Nucl Med* 2001; 42(11):1596-1604.
129. Higashi K, Ueda Y, Ikeda R et al. P-glycoprotein expression is associated with FDG uptake and cell differentiation in patients with untreated lung cancer. *Nucl Med Commun* 2004; 25(1):19-27.
130. Ychiya Y, Kuwabara Y, Sasaki M et al. A clinical evaluation of FDG-PET to assess the response in radiation therapy for bronchogenic carcinoma. *Ann Nucl Med*. 1996 May;10(2):193-200. 2006.
131. Chang CS, Huang WT, Yang SS et al. Effect of P-glycoprotein and multidrug resistance associated protein gene expression on Tc-99m MIBI imaging in hepatocellular carcinoma. *Nucl Med Biol* 2003; 30(2):111-117.
132. Chang CS, Yang SS, Yeh HZ et al. Tc-99m MIBI liver imaging for hepatocellular carcinoma: Correlation with P-glycoprotein-multidrug-resistance gene expression. *Hepato-Gastroenterol* 2004; 51(55):211-214.
133. Ding HJ, Huang WT, Tsai CS et al. Usefulness of technetium-99m tetrofosmin liver imaging to detect hepatocellular carcinoma and related to expression of P-glycoprotein or multidrug resistance associated protein - a preliminary report. *Nucl Med Biol* 2003; 30(5):471-475.
134. Ho YJ, Jeng LB, Yang MD et al. A trial of single photon emission computed tomography of the liver with technetium-99m tetrofosmin to detect hepatocellular carcinoma. *Anticancer Res* 2003; 23(2C):1743-1746.

135. Kosuda S, Yokoyama H, Katayama M et al. Tc-99M Tetrofosmin and Tc-99M Sestamibi Imaging of Multiple Metastases from Differentiated Thyroid-Carcinoma. *Eur J Nucl Med Mol I* 1995; 22(10):1218-1220.
136. Nemeč J, Nyvltová O, Preiningerová M et al. Positive Thyroid-Cancer Scintigraphy Using Tc-99(M)-Tetrofosmin (Myoview) - A Preliminary-Report. *Nucl Med Commun* 1995; 16(8):694-697.
137. Ishibashi M, Fujimoto K, Ohzono H et al. Tc-99(m) tetrofosmin uptake in mediastinal tumours. *Brit J Radiol* 1996; 69(828):1134-1138.
138. Karanikas G, Kostler WJ, Becherer A et al. Technetium-99m-tetrofosmin scintigraphy in patients with metastatic soft tissue sarcoma. *Oncol Rep* 2002; 9(5):1009-1013.
139. Rodrigues M, Chehne F, Kalinowska W et al. Comparative Tc-99m-MIBI, Tc-99m-tetrofosmin and Tc-99m-furifosmin uptake in human soft tissue sarcoma cell lines. *Eur J Nucl Med Mol I* 2000; 27(12):1839-1843.
140. Schillaci O, Spanu A, Scopinaro F et al. Technetium-99m tetrofosmin scintigraphy in pediatric osteogenic sarcoma. *Oncol Rep* 2003; 10(3):605-608.
141. Soderlund V, Jonsson C, Bauer HCF et al. Comparison of technetium-99m-MIBI and technetium-99m-tetrofosmin uptake by musculoskeletal sarcomas. *J Nucl Med* 1997; 38(5):682-686.
142. Schillaci O, Scopinaro F, Danieli R et al. Technetium-99m-tetrofosmin scintimammography in patients with suspicion of breast cancer. *J Nucl Med* 1996; 37(5):1143.
143. Spanu A, Farris A, Schillaci O et al. The usefulness of Tc-99m tetrofosmin scintigraphy in patients with breast cancer recurrences. *Nucl Med Commun* 2003; 24(2):145-154.
144. Rambaldi PF, Mansi L, Procaccini E et al. Breast-Cancer Detection with Tc-99M Tetrofosmin. *Clin Nucl Med* 1995; 20(8):703-705.
145. Mansi L, Rambaldi PF, Procaccini E et al. Scintimammography with technetium-99m tetrofosmin in the diagnosis of breast cancer and lymph node metastases. *Eur J Nucl Med Mol I* 1996; 23(8):932-939.
146. Tabuenca MJ, Vargas JA, Varela A et al. Inverse correlation between Tc-99m-tetrofosmin uptake and P-glycoprotein in non-small cell lung cancer. *J Nucl Med* 1999; 40(7):1223-1224.

147. Tabuenca MJ, Vargas JA, Varela A et al. Technetium-99m-tetrofosmin scintigraphy, P-glycoprotein and lung cancer. *J Nucl Med* 1998; 39(10):1830-1831.
148. Fuster D, Vinolas N, Mallafre C et al. Quantified 99mTc-tetrofosmin SPECT in predicting chemotherapeutic response in non-small-cell lung cancer. *Eur J Nucl Med Mol I* 2001; 28(8):1235.
149. Basoglu T, Bernay I, Coskun C et al. Pulmonary Tc-99m tetrofosmin imaging: Clinical experience with detecting malignant lesions and monitoring response to therapy. *Clin Nucl Med* 1998; 23(11):753-757.
150. Hendrikse NH, Franssen EJ, van der Graaf WTA et al. Visualization of multidrug resistance in vivo. *Eur J Nucl Med Mol I* 1999; 26(3):283-293.
151. Sun SS, Hsieh JF, Tsai SC et al. Technetium-99m tetrofosmin mammoscintigraphy findings related to the expression of P-glycoprotein mediated multidrug resistance. *Anticancer Res* 2000; 20(3A):1467-1470.
152. Sun SS, Tsai SC, Wang JJ et al. Technetium-99m-tetrofosmin scintigraphy in the prediction of chemotherapy response of untreated malignant lymphomas and comparison with other prognostic factors. *Anticancer Res* 2001; 21(1B):685-688.
153. Kao CH, Hsieh JF, Tsai SC et al. Paclitaxel-based chemotherapy for non-small cell lung cancer: Predicting the response with Tc-99m-tetrofosmin chest imaging. *J Nucl Med* 2001; 42(1):17-20.
154. Lee JK, Tsai SC, Ho YJ et al. Technetium-99m tetrofosmin scintigraphy for detecting malignant lymphoma. *Anticancer Res* 2001; 21(2B):1509-1513.
155. Aigner RM, Fueger GF, Zinke W et al. Tc-99(m)-tetrofosmin scintigraphy in Hodgkin's disease. *Nucl Med Commun* 1997; 18(3):252-257.
156. Meghdadi S, Karanikas G, Schlagbauer-Wadl H et al. Technetium-99m-tetrofosmin: a new agent for melanoma imaging? *Anticancer Res* 1998; 18(4A):2759-2762.
157. Rettenbacher L, Koller J, Kassmann H et al. Whole-body scintigraphy in melanoma patients: comparison of Tc-99(m)-tetrofosmin and Tl-201. *Nucl Med Commun* 2000; 21(11):1001-1008.
158. Zhou JS, Higashi K, Ueda Y et al. Expression of multidrug resistance protein and messenger RNA correlate with Tc-99m-MIBI imaging in patients with lung cancer. *J Nucl Med* 2001; 42(10):1476-1483.
159. Shiau YC, Tsai SC, Wang JJ et al. To predict chemotherapy response using technetium-99m tetrofosmin and compare with p-glycoprotein and multidrug

resistance related protein-1 expression in patients with untreated small cell lung cancer. *Cancer Lett* 2001; 169(2):181-188.

160. Kao CH, Ho YJ, Shen YY et al. Evaluation of chemotherapy response in patients with small cell lung cancer using Technetium-99m-tetrofosmin. *Anticancer Res* 1999; 19(3B):2311-2315.

161. Fukumoto M, Yoshida D, Hayase N et al. Scintigraphic prediction of resistance to radiation and chemotherapy in patients with lung carcinoma - Technetium 99m-tetrofosmin and thallium-201 dual single photon emission computed tomography study. *Cancer* 1999; 86(8):1470-1479.

162. Miller AB, Hoogstraten B, Staquet M et al. Reporting Results of Cancer-Treatment. *Cancer* 1981; 47(1):207-214.

163. Vincent RG, Pickren JW, Lane WW et al. Changing Histopathology of Lung-Cancer - Review of 1682 Cases. *Cancer* 1977; 39(4):1647-1655.

164. Beckles MA, Spiro SG, Colice GL et al. Initial evaluation of the patient with lung cancer - Symptoms, signs, laboratory tests, and paraneoplastic syndromes. *Chest* 2003; 123(1):97S-104S.

165. Kao CH, ChangLai SP, Shen YY et al. Technetium-99m-tetrofosmin SPECT imaging of lung masses: A negative study. *J Nucl Med* 1997; 38(7):1015-1019.

166. Takekawa H, Shinano H, Tsukamoto E et al. Technetium-99m-tetrofosmin imaging of lung cancer: Relationship with histopathology. *Ann Nucl Med* 1999; 13(2):71-75.

167. Dales RE, Stark RM, Raman S. Computed-Tomography to Stage Lung-Cancer - Approaching A Controversy Using Metaanalysis. *Am Rev Res Dis* 1990; 141(5):1096-1101.

168. Armstrong P. Preoperative Computed Tomographic Scanning for Staging Lung-Cancer. *Thorax* 1994; 49(10):941-943.

169. Takekawa H, Takaoka K, Tsukamoto E et al. Visualization of lung cancer with Tc-99(m)-tetrofosmin imaging: A comparison with Tl-201. *Nucl MedCommun* 1997; 18(4):341-345.

170. deJong M, Bernard BF, Breeman WAP et al. Comparison of uptake of Tc-99m-MIBI, Tc-99m-tetrofosmin and Tc-99m-Q12 into human breast cancer cell lines. *Eur J Nucl Med Mol I* 23(10):1361-1366.

171. Rodrigues M, Chehne F, Kalinowska W et al. Uptake of Tc-99m-MIBI and Tc-99m-tetrofosmin into malignant versus nonmalignant breast cell lines. *J Nucl Med* 2000; 41(9):1495-1499.
172. Spanu A, Ginesu F, Pirina P et al. The usefulness of Tc-99m-tetrofosmin SPECT in the detection of intrathoracic malignant lesions. *International J Oncol* 2003; 22(3):639-649.
173. Tatsumi M, Yutani K, Nishimura T. Evaluation of lung cancer by Tc-99m-tetrofosmin SPECT: Comparison with [F-18]FDG-PET. *JCAT* 2000; 24(4):574-580.
174. Atasever T, Gokcora N, Vural G et al. Evaluation of malignant and benign lung lesions with Tc-99(m)-tetrofosmin. *Nucl Med Commun* 1996; 17(7):577-582.
175. Tabuenca MJ, Vargas JA, Castejón R, et al. Study of pulmonary lesions with (99m)Tc-Tetrafosmin and chest spect. Determination of uptake related factors, diagnostic value and prognosis. *Rev Esp Med Nucl* 2002; 21:99-108.
176. Buccheri G, Biggi A, Ferrigno D et al. (TC)-T-99m-tetrofosmin scintigraphy in lung carcinoma staging and follow-up evaluations. *Cancer* 2002; 94(6):1796-1807.
177. Schillaci O, Spanu A, Scopinaro F et al. Mediastinal lymph node involvement in non-small cell lung cancer: Evaluation with Tc-99m-tetrofosmin SPECT and comparison with CT. *J Nucl Med* 2003; 44(8):1219-1224.
178. Shiun SC, Sun SS, Hsu NY et al. Detecting mediastinal lymph node metastases in non-small-cell lung cancer using a combination of technetium-99m tetrofosmin chest single photon emission computed tomography and chest computed tomography. *Cancer Investigation* 2002; 20(3):311-317.
179. Chen WS, Dahlheimer JL, Piwnica-Worms DR. Tc-99m-tetrofosmin is transported by the multidrug resistance (MDR1) P-glycoprotein and the multidrug resistance-associated protein (MRP), but not related gene family members. *J Nucl Med* 1999; 40(5):230P.
180. Chen WS, Luker KE, Dahlheimer JL et al. Effects of MDR1 and MDR3 P-glycoproteins, MRP1, and BCRP/MXR/ABCP on the transport of Tc-99m-Tetrofosmin. *Biochem Pharmacol* 2000; 60(3):413-426.
181. Riddick DS, Lee C, Ramji S et al. Cancer chemotherapy and drug metabolism. *Drug Metab Dispos* 2005; 33(8):1083-1096.
182. Morrow CS, Peklak-Scott C, Bishwokarma B et al. Multidrug resistance protein 1 (MRP1, ABCC1) mediates resistance to mitoxantrone via glutathione-dependent drug efflux. *Mol Pharmacol* 2006; 69(4):1499-1505.

183. Leslie EM, Deeley RG, Cole SPC. Multidrug resistance proteins: role of P-glycoprotein, MRP1, MRP2, and BCRP (ABCG2) in tissue defense. *Toxicol Appl Pharm* 2005; 204(3):216-237.
184. Morrow CS CK. Mechanisms of antineoplastic drug resistance. In: De Vita V, Hellman S, Rosenberg SA, eds. *Cancer: principles and practice of oncology*. Philadelphia: JB Lippincott, 1993 p 340. 2006.
185. DelVecchio S, Ciarmiello A, Pace L et al. Fractional retention of technetium-99m-sestamibi as an index of P-glycoprotein expression in untreated breast cancer patients. *J Nucl Med* 1997; 38(9):1348-1351.
186. Shih CM, Shiau YC, Wang JJ et al. Using technetium-99m tetrofosmin chest imaging to predict taxol-based chemotherapy response in non-small cell lung cancer but not related to lung resistance protein expression. *Lung* 2003; 181(2):103-111.
187. Fojo AT, Ueda K, Slamon DJ et al. Expression of A Multidrug-Resistance Gene in Human-Tumors and Tissues. *Proc Natl Acad Sci USA* 1987; 84(1):265-269.
188. Duffaud F, Therasse P. New guidelines to evaluate the response to treatment in solid tumors. *B Cancer* 2000; 87(12):881-886.
189. Higashi K, Clavo AC, Wahl RL. Does Fdg Uptake Measure Proliferative Activity of Human Cancer-Cells - Invitro Comparison with Dna Flow-Cytometry and Tritiated-Thymidine Uptake. *J Nucl Med* 1993; 34(3):414-419.
190. Weber WA, Petersen V, Schmidt B et al. Positron emission tomography in non-small-cell lung cancer: Prediction of response to chemotherapy by quantitative assessment of glucose use. *J Clin Oncol* 2003; 21(14):2651-2657.
191. Cortes J, Rodriguez J, Diaz-Gonzalez JA et al. Comparison of unidimensional and bidimensional measurements in metastatic non-small cell lung cancer. *Brit J Cancer* 2002; 87(2):158-160.
192. O'Brien MER, Splinter T, Smit EF et al. Carboplatin and paclitaxol (Taxol) as an induction regimen for patients with biopsy-proven stage IIIA N2 non-small cell lung cancer: an EORTC phase II study (EORTC 08958). *Eur J Cancer* 2003; 39(10):1416-1422.
193. Abdeldayem HM, Scott A, Macapinlac H et al. Tracer Imaging in Lung-Cancer. *Eur J Nucl Med Mol I* 1994; 21(1):57-81.
194. Strauss LG, Conti PS. The Applications of Pet in Clinical Oncology. *J Nucl Med* 1991; 32(4):623-648.

195. Kubota K, Yamada S, Ishiwata K et al. Positron Emission Tomography for Treatment Evaluation and Recurrence Detection Compared with Ct in Long-Term Follow-Up Cases of Lung-Cancer. Clin Nucl Med 1992; 17(11):877-881.

196. Maini CL, Tofani A, Sciuto R et al. Technetium-99m-MIBI scintigraphy in the assessment of neoadjuvant chemotherapy in breast carcinoma. J Nucl Med 1997; 38(10):1546-1551.

197. Ginsberg MS. Epidemiology of lung cancer. Semin Roentgenol 2005; 40(2):83-89.

198. Brundage MD, Davies D, Mackillop WJ. Prognostic factors in non-small cell lung cancer - A decade of progress. Chest 2002; 122(3):1037-1057.