



NIVELES SÉRICOS DE MESOTELINA. VALOR PRONÓSTICO EN MESOTELIOMA PLEURAL MALIGNO

J.A. Rodríguez-Portal¹, M. Asensio Cruz¹, E. Arellano Orden¹, A. Díaz Baquero¹, A. León Jiménez², I. Isidro Montes³, P. Cebollero Rivas⁴, C. Diego Roza⁵, F. Rodríguez Panadero¹, E. Rodríguez Becerra¹.

¹Unidad Médico-quirúrgica de Enfermedades Respiratorias. Hospital Universitario Virgen del Rocío. Sevilla. ²Servicio de Neumología y Alergia. Hospital Universitario Puerta del Mar. Cádiz. ³Servicio de Neumología. Instituto Nacional de Silicosis. Oviedo. ⁴Servicio de Neumología. Hospital Virgen del Camino. Pamplona. ⁵Sección de Neumología. Hospital Arquitecto Marcide. Ferrol. La Coruña.

Trabajo financiado con Beca de la Fundación Neumosur (Expte. 9/2006).
Beca de la Consejería de Salud de la Junta de Andalucía (Expte. 187/2006).

Resumen

El mesotelioma pleural maligno (MPM) es un tumor agresivo que surge del epitelio pleural. Se han detectado concentraciones aumentadas de proteínas solubles relacionadas con la mesotelina (SMRP) en suero de pacientes con MPM que se correlacionan con el tamaño tumoral y con la respuesta al tratamiento por lo que podría ser un buen marcador pronóstico de la enfermedad. Esta relación no ha podido ser confirmada en las distintas series publicadas. Hemos estudiado los niveles séricos de SMRP en el momento del diagnóstico y su relación con la supervivencia en el MPM.

Material y métodos: 44 pacientes con MPM y 177 expuestos a amianto sin patología pleuro-pulmonar como grupo control. Se determinó en suero los niveles de SMRP por ELISA (MESOMARK, CIS Bio International, Fujirebio Diagnostics Inc.). Se generaron gráficas de supervivencia mediante el método de Kaplan-Meier y se determinaron las diferencias entre los grupos de pacientes mediante la prueba del orden logarítmico. Para el análisis de la supervivencia se dividieron los MPM en dos grupos según los niveles en suero de SMRP: por encima y por debajo de la mediana en nM/l.

Resultados: la mediana de los niveles de SMRP en el grupo de MPM fue de 0,84 nM/l (RI 25-75% 0,49-1,82). En el grupo control los niveles de SMRP fueron de 0,41 nM/l (RI 0,30-0,65). Estas diferencias eran significativas ($p < 0,001$). Los niveles de SMRP fueron diferentes según el tipo histológico: 0,83 nM/l (RI 0,64-1,27) para el MPM de tipo epitelioide; 0,27 nM/l (RI 0,26-0,51) para el MPM de tipo sarcomatoso y de 0,49 nM/l (RI 0,47-7,13) para el MPM de tipo mixto ($p = 0,32$). La supervivencia mediante curva de Kaplan-Meier para los que tenían valores por encima de la mediana ($> 0,84$ nM/l; $n = 20$) fue de $10,48 \pm 1,9$ meses (IC 95% 6,66-14,26), y para los que tenían valores inferiores a la mediana ($< 0,84$ nM/l; $n = 24$) la supervivencia fue de $18,61 \pm 2,8$ meses (IC 95% 13,06-24,16) $p < 0,029$. Estas diferencias en la supervivencia eran independientes del tipo histológico, edad, sexo y método por el que se llegó al diagnóstico.

Conclusiones: la supervivencia de los pacientes con MPM es inferior en aquellos con mayor concentración de SMRP en el momento del diagnóstico independiente del tipo histológico. Los niveles de SMRP en suero podrían ser un marcador pronóstico para el MPM.

Palabras clave: mesotelioma pleural maligno, marcadores tumorales, mesotelina.

Serum levels of mesothelin. Prognosis value in malignant pleural mesothelioma.

Abstract

Malignant pleural mesothelioma (MPM) is an aggressive tumour that arises from pleural epithelium. Increased concentrations of soluble mesothelin related proteins (SMRP) have been detected in the serum of patients with MPM. These increased concentrations are correlated with the tumour size and with the response to the treatment, which could make it a good marker for the prognosis of the disease. This relationship has not been confirmed in the literature. The serum level of SMRP at the time of diagnosis and its relationship to survival in MPM was studied.

Material and methods: the study included 44 patients with MPM and 177 who had been exposed to asbestos without pleuropulmonary pathology as a control group. The serum levels of SMRP were determined by ELISA (MESOMARK, CIS Bio International, Fujirebio Diagnostics Inc.). Kaplan-Meier survival curves were generated and the differences between the groups of patients were determined by means of the log-rank test. For the survival analysis the MPM patients were divided into two groups according to their serum SMRP levels: above and below the median in nmol/l.

Results: the median SMRP level in the MPM group was 0.84 nmol/l (IR 25-75% 0.49-1.82). In the control group the median SMRP level was 0.41 nmol/l (IR 0.30-0.65). These differences were significant ($p < 0.001$). The SMRP levels differed with histological type: 0.83 nmol/L (IR 0.64-1.27) for epithelial type MPM; 0.27 nmol/L (IR 0.26-0.51) for sarcomatous type MPM and 0.49 nmol/L (IR 0.47-7.13) for mixed type MPM ($p = 0.32$). The survival by means of the Kaplan-Meier curve for patients that had values over the median (> 0.84 nmol/l; $n = 20$) was 10.48 ± 1.9 months (CI 95% 6.66-14.26), and for those that had values less than the median (< 0.84 nmol/l; $n = 24$) the survival was 18.61 ± 2.8 months (CI 95% 13.06-24.16) $p < 0.029$. These differences in survival were independent of the histological type, age, sex and diagnostic method.

Conclusions: the survival time of patients with MPM is shorter in those with greater concentrations of SMRP at the time of the diagnosis independent of the histological type. The levels of SMRP in serum could be a prognostic marker for MPM.

Key words: malignant pleural mesothelioma, tumour markers, mesothelin.

Recibido: 10 de junio de 2010. Aceptado: 25 de octubre de 2010.

Dr. José Antonio Rodríguez Portal.
jarportal@ecua.est

Abreviaturas

- MPM:** mesotelioma pleural maligno
SMRP: proteína soluble relacionada con la mesotelina. (Soluble Mesothelin-Related Protein)
kDA: kilo Dalton
nM/l: nano moles por litro.
RI: rango intercuartílico.

INTRODUCCIÓN

El mesotelioma pleural maligno (MPM) es un tumor altamente agresivo que surge del epitelio pleural. En el 80% de los casos existe una exposición previa al amianto¹. En la mayoría de las ocasiones no es posible un diagnóstico precoz y solo una minoría de pacientes son tributarios de tratamiento quirúrgico por lo que a pesar de los avances en el tratamiento la supervivencia media es de aproximadamente 1 año². El pronóstico del MPM se establece a partir de su estadificación según la extensión tumoral en función de los hallazgos obtenidos durante la cirugía como son la extensión de la afectación pleural, pericárdica o diafragmática así como la afectación linfática regional³. Son muy pocos los pacientes que llegan a ser intervenidos quirúrgicamente y por lo tanto correctamente estadificados. Un biomarcador detectable en suero que fuera útil para monitorizar la progresión de la enfermedad sería de indudable utilidad, sobre todo para la evaluación de nuevos agentes quimioterápicos ya que el seguimiento radiológico no es fiable dada la propensión del tumor a extenderse por la serosa. Además muchos MPM son sometidos a sínfisis pleural, provocando su engrosamiento lo que hace poco exacto el estudio radiológico. Los niveles séricos de proteínas solubles relacionadas con la mesotelina (SMRP) se encuentran notablemente elevados en los pacientes con MPM y se correlacionan directamente con el tamaño tumoral por lo que podrían ser un buen marcador para evaluar la respuesta al tratamiento y para establecer el pronóstico de la enfermedad⁴. Esta posible relación entre los niveles de mesotelina en suero y el pronóstico del MPM no ha podido ser confirmada en las distintas series publicadas⁵.

Presentamos un estudio en el que analizamos la utilidad de la determinación de los niveles de SMRP en el momento del diagnóstico como marcador pronóstico en el MPM.

MATERIAL Y MÉTODOS

Desde enero de 2006 hasta diciembre de 2008 realizamos un estudio multicéntrico, prospectivo, de cohortes. Fueron incluidos todos los pacientes diagnosticados de MPM durante el periodo de estudio que no fueran candidatos a tratamiento quirúrgico (estadios III y IV de la clasificación TNM). En todos los casos se obtuvo información del seguimiento clínico hasta el fallecimiento así como del tratamiento recibido. El diagnóstico se realizó mediante el estudio de biopsias obtenidas por videotoroscopia, toracotomía o biopsia pleural guiada por TAC. A todas las muestras se les hizo tinción de hematoxilina-eosina así como estudio inmunohistoquímico: citoqueratina, calretinina y antígeno carcinoembrionario. Los MPM se clasificaron en epitelioide, sarcomatoso o mixto. El grupo control se obtuvo también de forma prospectiva de las consultas monográficas de seguimiento de personas expuestas a amianto. A todos ellos se les realizaron pruebas funcionales (espirometría, volúmenes y difusión) y estudio radiológico mediante TCAR. Se incluyeron como grupo control solo aquellos en los que no existía ninguna alteración radiológica o funcional.

A todos los pacientes se les hicieron determinaciones en suero de SMRP por duplicado, doble ciego, mediante técnica de ELISA (MESOMARK, CIS Bio International, Fujirebio Diagnostics Inc.) según las instrucciones del fabricante⁶. En el grupo de MPM la determinación se hizo simultáneamente a la toma de biopsia para el diagnóstico. Se centrifugaron las muestras durante 10 minutos a 2.000 g y el sobrenadante resultante se almacenó a -80°C hasta el momento del análisis. Los resultados se expresan en nM/l. Los valores de SMRP se expresan como mediana y rango intercuartílico (RI). Las comparaciones entre grupos se realizaron mediante tests no paramétricos (Mann-Whitney) para variables con distribución no normal y mediante test paramétricos (t de Student) para los datos que siguieran una distribución normal. Se consideró significativo un valor de $p < 0,05$.

Se generaron gráficas de supervivencia mediante el método de Kaplan-Meier y se determinaron las diferencias entre los grupos de pacientes mediante la prueba del orden logarítmico. Para el análisis de la supervivencia se dividieron los pacientes con MPM en dos grupos según los niveles en suero de SMRP: por encima y por debajo de la mediana en nM/l. El estudio estadístico se ha realizado con el paquete SSPS versión 15, Inc Chicago, IL.

A todos los participantes se les solicitó su consentimiento informado por escrito para la participación en el estudio. Este trabajo fue aprobado por el Comité Ético de nuestro Hospital.

RESULTADOS

Hemos estudiado a 177 postexpuestos a amianto sin enfermedad pleuro-pulmonar y 44 pacientes con mesotelioma pleural maligno. El método por el que se llegó al diagnóstico fue en 30 casos (70%) por videotoroscopia, en 11 casos (25%) por biopsia pleural con aguja guiada por TAC y en 3 casos (5%) por toracotomía. Todos los casos diagnosticados por toracoscopia fueron sometidos a talcaje. En 35 casos fueron tratados con quimioterapia (23 con cisplatino y 12 con combinación cisplatino más pemetrexed). El resto recibió tratamiento paliativo.

La edad media del grupo control fue de 52±10 años (rango 46-74) con predominio de los varones (170 hombres y 6 mujeres). El tiempo medio de exposición al amianto en este grupo fue de 12±10 años. Los niveles de SMRP fueron de 0,41 nM/l (RI 25-75% 0,30-0,65). En el grupo de MPM la edad fue de 64±11 años (rango 37-86) con predominio masculino (39 hombres y 5 mujeres). La mediana de los niveles de SMRP en el grupo de MPM fue de 0,84 nM/l (rango intercuartílico 25-75% 0,49-1,82). Los niveles de SMRP eran significativamente diferentes entre ambos grupos de estudio ($p < 0,001$). La supervivencia global para todos los pacientes con MPM fue de 14,59±1,89 meses (rango 10,87-18,30) ($n=44$). Cuando analizamos la supervivencia de todos los MPM mediante curva de Kaplan-Meier en función de los niveles de SMRP al diagnóstico encontramos que para los que inicialmente tenían valores por encima de la mediana ($> 0,84$ nM/l; $n=20$), la supervivencia fue de 10,48±1,9 meses (IC 95% 6,66-14,26) y para los que tenían valores inferiores a la mediana ($< 0,84$ nM/l; $n=24$), la supervivencia fue de 18,61±2,8 meses (IC

95% 13,06-24,16) $p < 0,029$. (tabla 1, figura 1). La supervivencia fue diferente en función del tipo histológico. Para el MPM epitelioide la supervivencia fue de 12,02±2,42 meses; para el sarcomatoso fue de tan solo 2±0,83 meses y de 4±1,37 meses para la variedad mixta ($p < 0,002$). (figura 2).

Estos niveles de SMRP fueron diferentes según el tipo histológico de mesotelioma, así fue de 0,83 nM/l (RI 0,64-1,27) para el MPM de tipo epitelioide; 0,27 nM/l (RI 0,26-0,51) para el MPM de tipo sarcomatoso y de 0,49 nM/l (RI 0,47-7,13) para el MPM de tipo mixto; sin embargo, estas diferencias no alcanzaron la significación estadística, encontrando una mayor dispersión de los valores en el grupo de MPM de tipo mixto ($p = 0,32$). (tabla 2).

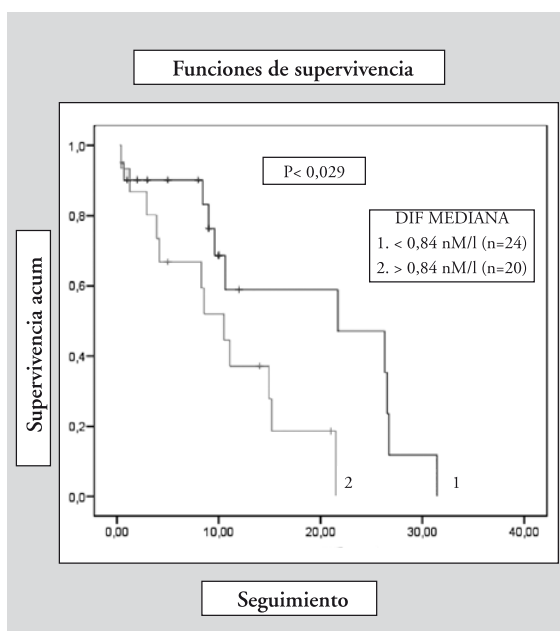


Figura 1. Curva de supervivencia de Kaplan-Meier en función de los niveles de SMRP al diagnóstico ($n=44$).

Tabla 1. Supervivencia en meses de todos los MPM y según los niveles de SMRP en el momento del diagnóstico.

Mediana Smrp	Supervivencia
Global	14,56±1,8 meses
> 0,84	10,46±1,5 meses
< 0,84	18,6±2,8 meses

Tabla 2. Niveles de SMRP según el tipo histológico.

	Mediana	Percentil 25	Percentil 75
SMRP:nM Epitelioide	0,83 nM/l	0,571	1,409
Sarcomatoso	0,27 nM/l	0,257	1,231
Mixto	0,49 nM/l	0,468	18,642

P= 0,32

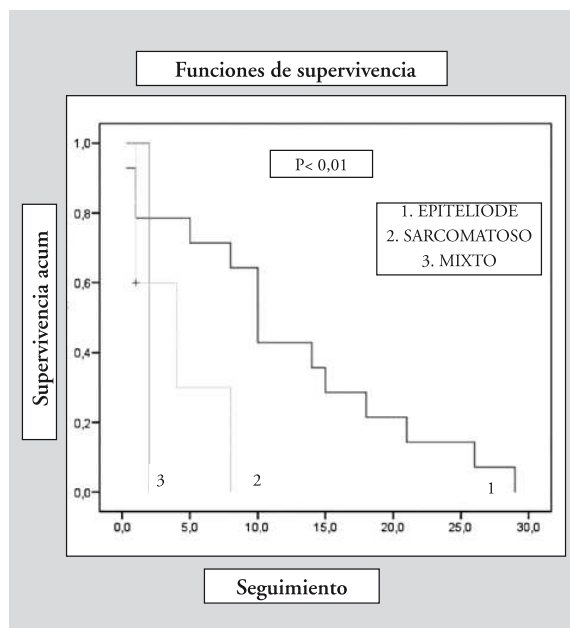


Figura 2. Curva de supervivencia de Kaplan-Meier en función de los niveles de SMRP al diagnóstico (n=44).

DISCUSIÓN

Los niveles de SMRP se encuentran elevados en los pacientes con MPM en comparación con las personas expuestas al amianto sin patología pleuro-pulmonar. En el MPM, los niveles séricos de SMRP en el momento del diagnóstico tienen valor para determinar el pronóstico en cuanto a la supervivencia. En el grupo con niveles de SMRP inferiores a la mediana, la supervivencia alcanzada fue 8,11 meses superior a la que tuvieron los pacientes con niveles de SMRP más elevados. Es de destacar, que los niveles de SMRP se encuentran elevados en los mesoteliomas de tipo epitelial y no lo están en los tumores de tipo sarcomatoso. En algunas series, solo algunos pacientes con MPM de tipo mixto tienen niveles elevados de SMRP, probablemente reflejando la proporción de componente epitelial que exista en estos tumores⁷. Mediante técnicas de inmunohistoquímica se ha comprobado que aquellos mesoteliomas que expresan en menor cuantía mesotelina en su superficie tienen peor pronóstico, es posible que sea debido a que los de estirpe sarcomatosa, que tienen peor respuesta al tratamiento, no expresan esta proteína⁸. Nosotros hemos encontrado también estas diferencias, siendo los niveles de mesotelina superiores en los tumores epiteliales con respecto a los sarcomatosos, estando en una situación intermedia los de tipo mixto. El peor pronóstico presentado por el

grupo de MPM sarcomatoso ha sido corroborado por otros autores⁹.

Aunque no sabemos cual es la función exacta de estas proteínas, de las que se han descrito tres variantes¹⁰, recientemente se ha sugerido que las SMRP son moléculas que se liberan a la circulación sistémica a partir de células mesoteliales que la "sobre-expresan" en su superficie debido a su transformación neoplásica¹¹. Este hallazgo ha despertado gran interés por las SMRP como biomarcador diagnóstico en el mesotelioma pleural. Robinson et al⁴ determinaron los niveles de SMRP en un grupo de 44 pacientes con MPM y en otro de 160 pacientes con distintas enfermedades pulmonares, encontrando una buena sensibilidad (84%) y especificidad (casi 100%) como biomarcador para el diagnóstico de mesotelioma. Estos resultados han sido confirmados por otros autores^{12,13,14}. Además, los niveles de SMRP se encuentran más elevados en los pacientes con mayor volumen tumoral⁴. Se ha comprobado que en pacientes con carcinoma ovárico que también expresan mesotelina, la cirugía supone un descenso dramático de los niveles de SMRP, mientras que se mantienen estables en aquellos pacientes que no responden al tratamiento con quimioterapia¹³. Ha sido posible comprobar cómo los niveles de SMRP se mantienen elevados en aquellos pacientes con mesotelioma pleural que tienen recurrencias o progresión de la enfermedad. Además, los que tenían niveles por encima de 3,5 nM, sobrevivían una media de 8,4 meses y los que tenían valores por debajo de 3,5 nM sobrevivían 17,1 meses¹⁵. Cuando se analiza la respuesta al tratamiento con β -interferón los niveles elevados se asocian a progresión de la enfermedad, mientras que una caída de los niveles de SMRP se asocia a respuesta al tratamiento¹⁶. Estos datos sugieren que la mesotelina podría ser un marcador que sirviera para monitorizar la respuesta al tratamiento y para determinar el pronóstico de la enfermedad. Esta hipótesis no ha sido confirmada plenamente. Creaney et al¹⁷ analizaron la supervivencia de 52 mesoteliomas en función de los niveles de SMRP en líquido pleural. Utilizaron como punto de corte una concentración de 26 nM/l. La supervivencia mediana fue de 14 meses para los pacientes con concentraciones de mesotelina elevadas en el derrame (n=27) y de 8 meses para aquellos con concentraciones bajas (n= 25), pero estas diferencias no fueron significativas. Grigoriu et al¹⁸, en su primer trabajo, en el que analizaron a 60 pacientes con MPM, tampoco encontraron relación entre los niveles de mesotelina en suero o en líquido pleural en el momento del diagnóstico y la supervivencia de su grupo

de mesoteliomas. Sin embargo, estos mismos autores, cuando hicieron el análisis en una serie más amplia de pacientes en la que se incluyó un 60% más de mesoteliomas pleurales, la concentración de mesotelina en suero en el momento del diagnóstico fue un factor pronóstico independiente del tipo histológico y con mayor poder de predicción que el estadiaje radiológico¹⁹. Otros autores, utilizando como punto de corte una concentración de SMRP de 1 nM/l en suero en 44 pacientes con MPM, en los que no se especifica la estirpe histológica, encuentran que la media de supervivencia fue de 11,7 meses superior en los que tenían concentraciones inferiores a ese punto de corte²⁰. Es evidente la disparidad de diseño de los distintos trabajos en los que se analizan distintas concentraciones en suero y en líquido pleural. Además, los puntos de corte de la concentración de SMRP a partir de la cual se hace el análisis no son uniformes.

En cualquier caso, estos datos que presentamos apoyan la posibilidad de utilizar la mesotelina en suero como marcador pronóstico en pacientes con mesotelioma pleural maligno, aunque son necesarios estudios multicéntricos con una amplia muestra de pacientes y similar metodología para poder definir correctamente este punto y aclarar que valor de SMRP debe tomarse como punto de referencia.

BIBLIOGRAFÍA

- Ruth S, Baas P, Zoetmulder F. Surgical treatment of malignant pleural mesothelioma. *Chest* 2003; 123: 551-61.
- Kazan-Allen L. Asbestos and mesothelioma: Worldwide trends. *Lung Cancer* 2005; 49 (suppl 1): S3-8.
- Treasure T, Sedrakyan A. Pleural Mesothelioma: little evidence, still time to do trials. *Lancet* 2004; 364: 1183-85.
- Robinson BW, Creaney J, Lake R, Nowak A, Musk AW, de Klerk N, et al. Mesothelin-family proteins and diagnosis of mesothelioma. *Lancet* 2003; 362: 1612-16.
- Grigoriu BD, Scherpereel A. *Thorax* 2008; 63: 87-88 (Letter).
- Pass H, Wolaniuk D, Wali A, Thiel A, Hellstrom I, Hellstrom K, et al. Soluble mesothelin related peptides: a potential biomarker for malignant pleural mesothelioma (abstract). *J Clin Oncol* 2005; 23: 9532.
- Scherpereel A, Gary Lee YC. Biomarkers for mesothelioma. *Curr Opin Pul Med* 2007; 13: 339-43.
- Roe OD, Creaney J, Lundgren S, Larsson E, Sandeck H, Boffetta P, et al. Mesothelin-related predictive and prognostic factors in malignant mesothelioma: a nested case-control study. *Lung Cancer*. 2008 Aug; 61(2): 235-43.
- Peto J, Decarli A, La Vecchia C, Levi F, Negri E. The European mesothelioma epidemic. *Br J Cancer* 1999; 79: 666-72.
- Maeda M, Hino O. Molecular tumor markers for asbestos-related mesothelioma: serum diagnostic markers. *Pathol Int* 2006; 56: 649-54.
- Hellstrom I, Raycraft J, Kanan S, Sardesai NY, Verch T, Yang Y, et al. Mesothelin variant 1 is released from tumor cells as a diagnostic marker. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2006; 15: 1014-20.
- Scherpereel A, Grigoriu B, Conti Gey T, Grégoire M, Copin MC, et al. Soluble Mesothelin-related peptides in the diagnosis of malignant pleural mesothelioma. *Am J Respir Crit Care Med* 2006; 173: 1155-60.
- Hassan R, Remaley AT, Sampson ML et al. Detection and quantitation of serum mesothelin, a tumor marker for patients with mesothelioma and ovarian cancer. *Clin Cancer Res* 2006; 12: 447-53.
- Rodríguez Portal JA, Rodríguez Becerra E, Rodríguez Martínez D, Alfageme Michavila I, Quero Martínez A, Diego Roza C, et al. Serum Levels of Soluble Mesothelin-Related Peptides in Malignant and nonmalignant Asbestos-Related Pleural Disease: Relation with Past Asbestos Exposure. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2009; 18(2): 646-50.
- Schneider J, Hoffmann H, Dienemann H, Herth FJ, Meister M, Muley T. Diagnostic and prognostic value of soluble mesothelin-related proteins in patients with malignant pleural mesothelioma in comparison with benign asbestosis and lung cancer. *J Thorac Oncol*. 2008 Nov; 3(11): 1317-24.
- Grigoriu BD, Chahine B, Vachani A, Gey T, Conti M, Stermann DH, et al. Kinetics of soluble mesothelin in patients with malignant pleural mesothelioma during treatment. *Am J Respir Crit Care Med*. 2009 May 15; 179(10): 950-4.
- Creaney J, Yeoman D, Naumoff LK, Hof M, Segal A, Musk AW et al. Soluble mesothelin in effusions: a useful tool for the diagnosis of malignant mesothelioma. *Thorax* 2007; 62: 569-76.
- Grigoriu BD, Scherpereel A. Diagnostic value of soluble mesothelin in malignant mesothelioma. *Thorax* 2008; 63: 87-88.
- Grigoriu BD, Scherpereel A, Devos P, Chahine B, Letourneux M, Lebailly P, et al. Utility of osteopontin and serum mesothelin in malignant pleural mesothelioma diagnosis and prognosis assessment. *Clin Cancer Res* 2007; 13: 2928-35.
- Cristaudo A, Foddìs R, Vivaldi A, Guglielmi G, Dipalma N, Filiberti R, et al. Clinical significance of serum mesothelin in patients with mesothelioma and lung cancer. *Clin Cancer Res* 2007; 13: 5076-81.