



Proyecto CRIS de Cáncer de Colon: Programa de Excelencia 2019

Investigadora Principal: Dra. Clara Montagut Viladot
Centro: Instituto Hospital del Mar de Investigaciones Médicas (IMIM), Barcelona



Introducción

En la actualidad el cáncer colorrectal representa un importante problema de salud pública. Se trata del cáncer más frecuente en España con más de 44.000 casos al año y es el segundo que más muertes causa (11.000 pacientes anuales) solamente por detrás del de pulmón. De los pacientes diagnosticados de este tipo de cáncer, los que presentan metástasis son los que tienen un peor pronóstico.

Un importante grupo de pacientes con enfermedad metastásica presenta tumores que dependen de una proteína denominada Epidermal Growth Factor Receptor, o EGFR. Esta proteína, que se encuentra en la superficie de gran cantidad de células, permite a las células tumorales mantener su ritmo de crecimiento y multiplicación. Por esta razón, uno de los tratamientos más eficaces para los tumores de colon metastásicos

consiste en un tipo de fármacos que atacan EGFR como el denominado cetuximab. No obstante, no todos los pacientes responden a estos tratamientos, y los que sí lo hacen, tarde o temprano desarrollan resistencia.

Por esta razón este proyecto pone su foco en estos mecanismos de resistencia, para perfeccionar los tratamientos contra EGFR. Para ello se realizarán análisis de las células tumorales en diferentes etapas de los tumores de pacientes, se profundizará en el papel del sistema inmunitario en estos procesos, y se desarrollarán nuevas estrategias terapéuticas para combatir estas resistencias.



El proyecto

El objetivo de este proyecto consiste en comprender mejor los mecanismos de resistencia a los tratamientos anti-EGFR de los tumores colorrectales metastásicos. Para conseguirlo, se abordarán los siguientes puntos:

1. Estudio del ADN tumoral circulante (ct-DNA) en pacientes tratados con cetuximab:

Uno de los hallazgos más interesantes de la última década consiste en haber sido capaces de detectar restos de ADN de los tumores en la sangre de los pacientes (circulating tumor DNA o ctDNA). Este descubrimiento tiene inmensas aplicaciones en el diagnóstico y seguimiento de los pacientes, ya que mediante muestras de sangre es posible hacerse una idea bastante exacta de lo que está ocurriendo en los tumores de los pacientes. Incluso permite hacerse una mejor idea de las diferentes poblaciones de células tumorales que hay presentes en el tumor que haciendo una biopsia.

Es por esto por lo que la integración de los análisis de ese DNA circulante podría dar importantes pistas sobre si el paciente está desarrollando una resistencia a tratamientos anti-EGFR o si los tratamientos siguen siendo efectivos. Estos análisis podrían ser vitales para orientar las decisiones sobre si continuar con el tratamiento o buscar alternativas que puedan ser más eficaces contra la enfermedad de cada paciente.

Para el desarrollo de este proyecto es imprescindible recopilar muestras de pacientes de varios ensayos clínicos, en los que se trata a los pacientes con terapia anti-EGFR y se realizarán análisis periódicos de ct-DNA. Los ensayos y los tratamientos son los siguientes:

- **Ensayo CITRIC:** 66 Pacientes de cáncer de colon metastásico, que no responden a otros tratamientos, tratados de nuevo con cetuximab + irinotecan.
- **Ensayo PLATFORM-B:** 100 Pacientes de cáncer de colon metastásico tratados con cetuximab, y se les hace un análisis genético desde biopsias líquidas, para escoger mejor los siguientes tratamientos.
- **Ensayo CR_SEQUENCE:** Pacientes de cáncer de colon metastásico tratados con dos regímenes



diferentes de quimioterapia y terapias dirigidas:

- Quimio FOLFOX (Ácido Folínico, Fluorouracilo y Oxaliplatino) + panitumumab (anti EGF) seguido de QUIMIO FOLFIRI (Folinato Cálcico, Fluorouracilo, Irinotecan) con Bevacizumab (que combate los vasos sanguíneos)
- Quimio FOLFOX (Ácido Folínico, Fluorouracilo y Oxaliplatino) + Bevacizumab seguido de QUIMIO FOLFIRI (Folinato Cálcico, Fluorouracilo, Irinotecan) con panitumumab

2. Análisis de las poblaciones de células NK en pacientes tratados con anti-EGFR.

Las células Natural Killer (NK) son la primera línea de respuesta frente a los tumores, ya que son especialistas en detectar y eliminar cualquier célula con características anormales. Se ha determinado que la presencia de diferentes tipos y estados de células Natural Killer puede estar asociada con el pronóstico de los pacientes. Por ejemplo, la presencia de NK en la zona del tumor suele estar asociada con un mejor pronóstico. Sin embargo, la detección de células NK envejecidas o inactivas en sangre, podría estar asociada con un peor pronóstico.

El segundo objetivo de este proyecto consiste en estudiar las poblaciones de células NK en sangre de pacientes de varios ensayos clínicos (como el CITRIC) y cohortes de pacientes, antes y después de ser tratados con terapias contra EGFR

3. Nuevas estrategias para combatir las resistencias a tratamientos anti-EGFR.

Para abordar el problema de las resistencias a tratamientos con cetuximab, en este proyecto se estudiarán preclínicamente (en laboratorio) tres estrategias que se están desarrollando en la actualidad. Una de ellas consiste en utilizar otros tratamientos contra EGFR (como el Pan004) que atacan EGFR de una manera distinta al cetuximab. Otra de las estrategias consiste en utilizar 6 anticuerpos diferentes a la vez para atacar a EGFR, de manera que aunque el tumor cambie ligeramente su EGFR, siempre haya un anticuerpo que pueda atacarlo. Finalmente, otra de las estrategias se basa en retirar un tiempo el tratamiento contra EGFR, permitiendo que crezcan otras células además de las resistentes y, con un poco de suerte, desplacen a las resistentes; pasado un tiempo se vuelve a utilizar tratamiento anti-EGFR, que en esta segunda vuelta debería ser más eficaz.

Globalmente se trata de un proyecto que aborda los tumores de colon metastásicos desde varios enfoques diferentes para lograr por fin tratarlos de manera eficaz.

Avances recientes

El proyecto avanza a muy buena velocidad, cumpliendo todos y cada uno de los hitos que se planificaron, y el grupo de la Dra. Montagut ha conseguido varios logros muy relevantes dentro de los objetivos del proyecto.

OBJETIVO 1 - Estudio del ADN tumoral circulante (ct-DNA) en pacientes tratados con cetuximab:

- **Ensayo CITRIC.** Este ensayo, en el que participan 11 hospitales de toda España, se centra en pacientes que han recibido una terapia anti-EGFR, se han vuelto resistentes, luego han recibido otra terapia diferente y tampoco les ha funcionado. El estudio se basa en realizar un análisis del ADN tumoral circulante por la sangre (ct-DNA) de estos pacientes y en función de las poblaciones, mutaciones y características de los restos de ADN de células tumorales, se decide si se vuelve a aplicar un tratamiento contra EGFR o se buscan otras alternativas. La relevancia de CITRIC es grande: Por un lado, puede ser clave para constatar la eficacia del análisis



del ADN circulante por la sangre para tomar decisiones clínicas en el tratamiento del cáncer de colon metastásico. Por otro lado, puede proporcionar grandes resultados a la hora de validar la estrategia de volver a tratar con anti-EGFR a pacientes que han recibido otras terapias tras una primera terapia con anti-EGFR.

Este estudio se inició en 2021, el reclutamiento se completó y los datos de eficacia y supervivencia han sido muy relevantes. El objetivo del grupo es publicar los resultados antes de que acabe 2025, y poder demostrar si esta estrategia de retratamiento puede ser eficaz en combinación con los estudios realizados en ese ADN tumoral circulante. Además, están trabajando con muestras recogidas durante el ensayo para hacer análisis avanzados, incluyendo secuenciación y estudios inmunológicos, con parte del análisis llevándose a cabo en colaboración con un laboratorio alemán de referencia.

- Por su parte, el **ensayo PLATFORM-B** ya ha concluido. Esto significa que ya se incorporaron los 100 pacientes, recibieron su tratamiento y fueron vigilados gracias a las biopsias líquidas. En este estudio se analiza la relevancia del análisis del ct-DNA durante el seguimiento periódico de los pacientes en su tratamiento, y a la hora de tomar decisiones terapéuticas.

Las muestras que se han recogido durante este ensayo han proporcionado datos muy importantes: Gracias al análisis del DNA del tumor que hay en la sangre, a través de las biopsias líquidas de los pacientes, se puede predecir de manera bastante temprana si el paciente está respondiendo adecuadamente al tratamiento. Esto es fundamental para poder tomar decisiones médicas a tiempo, es decir, saber si es mejor mantener o cambiar la terapia que está recibiendo el paciente. Se trata de un resultado de un gran valor, que permitirá reaccionar más rápidamente y evitar prolongar tratamientos ineficaces en los pacientes.

Uno de los hallazgos más relevantes es que los **el riesgo de resistencia a las terapias contra EGFR** puede detectarse incluso con análisis poco profundos (*shallow sequencing*), observando alteraciones como cambios en bloques enteros de los cromosomas. Han identificado **al menos cuatro tipos distintos de mecanismos de resistencia**, lo que podría explicar por qué no todos los pacientes responden igual y orientar futuras terapias. Además, se están intentando caracterizar nuevas mutaciones asociadas a la respuesta o resistencia a los tratamientos.

Un aspecto a destacar del análisis de las muestras del ensayo PLATFORM-B, es que ha permitido ver que algunas de las pistas que permiten saber cómo evolucionarán las células tumorales y qué terapias funcionarán mejor, ya están presentes en las muestras de los pacientes recogidas en las primeras etapas del tratamiento. Esto significa que, una vez iniciamos el tratamiento de un paciente, si vamos extrayendo sangre y analizando molecularmente las células, podemos ver muy rápidamente si la terapia le hará efecto o si debemos cambiar de tratamiento.

- Por otro lado, el **ensayo CR_SEQUENCE** ha terminado de incorporar a sus más de 400 pacientes y se está finalizando el seguimiento de los mismos, que se había fijado en unos 2 años. Durante este tiempo se les han recogido muestras de manera periódica, para hacer un análisis en profundidad, y entender el efecto de las distintas terapias en los pacientes con cáncer de colon metastásico.

Además, han estado analizando la utilidad de la biopsia líquida en otros tumores agresivos, como el cáncer de recto o el colangiocarcinoma, un tumor en las vías que llevan la bilis de la vesícula biliar al intestino. Los resultados muestran que a partir de muestras de sangre y estudiando el ADN de restos de células tumorales (ctDNA), se puede predecir con bastante fiabilidad el pronóstico de los pacientes. La relevancia de estos estudios queda respaldada por una publicación en la importante revista *Clinical Cancer Research*.

Uno de los grandes hitos de este proyecto se ha producido con la publicación de unos datos extraordinarios con gran potencial para mejorar los cribados de cáncer de colon en la población general. El equipo de la Dra. Montagut ha puesto a punto un innovador método de análisis del ADN de restos de células tumorales (y otras moléculas) que pueden quedar en la sangre. Combinando este método con la detección de sangre en heces, se puede detectar con altísima sensibilidad el cáncer de colon en estos pacientes, de manera muy poco invasiva



(una muestra de heces y unas muestras de sangre). Los datos muestran que este test es capaz de detectar un 84% de los pacientes con tumores en fases tempranas, y más de un 94% de efectividad en pacientes con tumores avanzados.

Este tipo de análisis, por tanto, se erige como una posibilidad poco invasiva, accesible y efectiva para incrementar la eficacia de los cribados poblacionales de cáncer de colon. Los resultados han sido publicados en la prestigiosa revista médica *Annals of Oncology*, una de las más importantes del mundo. Además, dada la relevancia de esta publicación, este artículo ha sido portada de esta revista.

Finalmente, dentro del estudio de la biopsia líquida, se ha iniciado un ambicioso estudio, **SAGITTARIUS**, con centros en España, Italia y Alemania, que busca personalizar el tratamiento después de la operación, en función de los resultados de la biopsia líquida: si es negativa, se le hace simplemente seguimiento al paciente; si es positiva, tratamiento adaptado al perfil molecular del tumor. Ya han incluido más de 100 pacientes de los 700 previstos y además, esperan contar con un estudio Farmacoeconómico dentro de este ensayo que permita demostrar el coste/beneficio de la implementación de la biopsia líquida en la cartera de servicios sanitarios, al ahorrar muchos tratamientos innecesarios.

OBJETIVO 2 - Análisis de las poblaciones de células NK en pacientes tratados con anti-EGFR.

Con la colaboración de tres hospitales de Barcelona, se están recopilando muestras de pacientes de cáncer de colon metastásico en diferentes momentos de su enfermedad. El objetivo de este estudio es estudiar el estado de las células Natural Killer en estos pacientes, esenciales en la respuesta inmunitaria frente al tumor. De hecho, el equipo ha podido comprobar que si el paciente tiene células Natural Killer con determinadas características (como ciertas moléculas de su superficie), los pacientes tienen menor riesgo de que la enfermedad avance. En la misma línea, se ha observado que la presencia de células Natural Killer con otras características en su superficie puede estar asociado a mal pronóstico. También han observado que la presencia en la sangre de células Natural Killer con características de agotamiento o envejecimiento (senescencia) pueden estar asociadas a un peor pronóstico del paciente. Estos resultados pueden tener una gran relevancia a la hora de predecir el pronóstico de los pacientes y escoger los tratamientos de manera más adecuada para cada paciente.

Por otro lado, el equipo de la Dra. Montagut ya ha iniciado el estudio de las NKs y otras poblaciones del sistema inmunitario de las muestras que provienen del ensayo CITRIC, y han observado el papel clave de una molécula, TGFb en la respuesta frente al cáncer. Parece que esta molécula podría ejercer un efecto inmunosupresor sobre las células Natural Killer, evitando que se activen y que ataquen de manera efectiva al tumor. Pradójicamente, TGFb parece tener, a la vez efectos beneficiosos sobre las células epiteliales, evitando que la enfermedad progrese. Por tanto, el grupo de la Dr. Montagut ha ideado una estrategia para evitar el apagado inmunitario que produce esta molécula, pero sin perder sus efectos beneficiosos sobre otras células: Mediante un inhibidor del receptor de TGFb en las células Natural Killer, las investigadoras han logrado incrementar su efecto inmunitario contra el tumor, con resultados muy positivos, que han sido publicados recientemente en la revista *Nature Immunology*.

OBJETIVO 3 - Nuevas estrategias para combatir las resistencias a tratamientos anti-EGFR.

Para poder estudiar en profundidad las diferentes estrategias de tratamientos para células resistentes a las terapias contra EGFR, el equipo de la Dra. Montagut está recopilando un gran número de muestras de tejido de colon que son capaces de crecer en cultivos en 3 dimensiones. Se trata de una manera muy moderna de tener modelos de laboratorio de tumores de pacientes, que crecen de manera muy parecida a los tumores reales, manteniendo gran parte de su complejidad y estructura. De esta forma, pueden probar fácilmente diferentes terapias en el laboratorio, analizar cómo responden las células y estudiar mejor las resistencias.



Próximos pasos

El equipo de la Dra. Montagut está comenzando también un nuevo e ilusionante proyecto, centrado en pacientes con **carcinomatosis peritoneal**, una forma muy agresiva de cáncer de colon que afecta al peritoneo y que requiere cirugías extremadamente complejas. El Hospital del Mar es uno de los centros de referencia para este tipo de intervenciones, lo que les permite **recoger gran cantidad de muestras de pacientes operados cada semana**.

Con estas muestras, están ya construyendo un biobanco con más de 50 casos, con tejido tumoral y muestras de sangre antes y después de cirugía. El objetivo: aplicar estrategias de biopsia líquida para evaluar si, tras la cirugía, queda enfermedad residual no detectable por otras técnicas, y poder así intervenir precozmente.