



# MEMORIA

25.º RETORNO SOCIAL DE LA INVESTIGACIÓN  
CÁNCER

## IMPLEMENTACIÓN DE LA BIOPSIA LÍQUIDA MÁS ALLÁ DE LAS APLICACIONES ACTUALES: ESTUDIO PROSPECTIVO DEL VALOR PRONÓSTICO Y PREDICTIVO DEL ADN TUMORAL CIRCULANTE EN CÁNCER COLORRECTAL MESTATÁSICO

**Dra. Elena Élez Fernández**

VHIO Vall d'Hebron Institut d'Investigació Oncològica

**Dra. Cristina Santos Vivas**

Institut Català d'Oncologia - IDIBELL Institut d'Investigació Biomèdica de Bellvitge

## 1. Resumen

A pesar de los importantes avances en el tratamiento del cáncer colorrectal metastásico (CCRm), las tasas de supervivencia a 5 años siguen siendo desoladoras. Se necesitan mejores biomarcadores pronósticos y predictivos de respuesta para identificar a los pacientes con mayor riesgo e implementar tratamientos personalizados.

El ADN libre circulante (cfDNA) en el plasma sanguíneo es una mezcla de fragmentos de ADN normales y derivados del tumor (ADN tumoral circulante, ctDNA en inglés). El proceso por el cual las células tumorales liberan ctDNA en el torrente sanguíneo se conoce como *shedding*. La cantidad de cfDNA es sustancialmente mayor en pacientes con cáncer que en individuos sanos; la proporción de ctDNA en cfDNA se deduce de la fracción alélica mutada (FAM), y esto se puede analizar mediante una biopsia líquida. Nuestro grupo ha demostrado que el valor de la FAM de la mutación *RAS* (FAM-*RAS*) al inicio del tratamiento se correlaciona significativamente con la supervivencia global (SG). Los pacientes con una FAM baja tienen una mejor SG y tienden a tener una mejor supervivencia libre de progresión (SLP), por lo que FAM-*RAS* en plasma sería un factor pronóstico.

Un análisis exploratorio demostró que en los pacientes con FAM-*RAS* elevada tratados con fármacos antiangiogénicos y quimioterapia había más tiempo hasta la progresión de la enfermedad. Por lo tanto, la FAM-*RAS* plasmática podría depender de la calidad de la vascularización tumoral.

Este proyecto propone estudiar el valor pronóstico del ctDNA en pacientes con CCRm tratados en una primera línea de tratamiento y posteriores, su correlación con la vascularización tumoral a través de la evaluación histomorfológica de la vasculatura, así como el valor predictivo de los cambios precoces en la misma por el efecto de la terapia antiangiogénica mediante una técnica no invasiva de última generación en tiempo real: la biopsia líquida. Creemos que los resultados obtenidos impactarán directamente en la esperanza de vida y en el manejo clínico rutinario de los pacientes con CCRm, y nos permitirán identificar otras áreas de investigación en tumores que podrían beneficiarse de tratamientos antiangiogénicos.

## 2. Resultados

El objetivo de este proyecto es estudiar el valor pronóstico y predictivo de la respuesta a terapias antiangiogénicas del ctDNA en una población prospectiva de pacientes con CCRm, su vinculación con el estado de vascularización tumoral y el valor predictivo de la imagen vascular tumoral de la terapia antiangiogénica.

Por este motivo, se incluyó inicialmente una cohorte de 185 pacientes con CCRm tratados en primera línea con quimioterapia +/- antiangiogénicos. Una vez iniciado el proyecto, se decidió explorar la cohorte de pacientes tratados con quimioterapia +/- antiangiogénicos en segunda línea o líneas posteriores. De esta segunda cohorte se incluyeron un total de 59 pacientes.

Una vez analizados los valores de la FAM en las dos cohortes propuestas, los resultados obtenidos concluyeron que los valores de la FAM sirven como indicadores pronósticos tanto en los pacientes tratados en primera línea con quimioterapia +/- antiangiogénicos, como en los tratados en segunda línea o más. En ambos casos, la supervivencia global es significativamente superior en los pacientes con un valor de la FAM bajo comparado con aquellos con un valor de la FAM alto.

En cuanto al objetivo del estudio del ctDNA como biomarcador predictivo de respuesta al tratamiento en primera línea con antiangiogénicos, se evaluó la SLP en función del tratamiento recibido (quimioterapia +/- antiangiogénicos) y se concluyó que los pacientes con una FAM alta presentaban una mejor SLP cuando habían sido tratados con quimioterapia + antiangiogénicos que si solo habían sido tratados con quimioterapia. Por otro lado, los pacientes con una FAM baja no mostraron diferencias significativas en el valor de SLP en función del tratamiento con o sin antiangiogénicos. Por lo tanto, se puede concluir que los valores de las FAM tienen un valor predictivo sobre la respuesta a fármacos antiangiogénicos en primera línea.

Durante la ejecución del proyecto también se ha evaluado la correlación del valor de la FAM con la vascularización tumoral a través de la evaluación histomorfológica de la vasculatura del tumor. De los 185 pacientes incluidos, se han analizado a día de hoy los casos más extremos: los 8 pacientes con el valor de FAM más alto y los 5 con el valor más bajo. La vasculatura en estas 13 muestras mostró una importante

variabilidad en la estructura y densidad de los vasos sanguíneos en comparación con muestras de pacientes analizadas durante el primer año del proyecto. Esto puede explicarse fácilmente porque se trataba de casos extremos de valores de FAM, en comparación con las muestras de pacientes con fenotipos mucho más intermedios. Además, en el marco del proyecto, hemos desarrollado una nueva técnica para evaluar la permeabilidad de los vasos sanguíneos. La permeabilidad puede ser un factor relevante en la estructura de los vasos, puesto que podría ser un factor importante en la extravasación de ADN tumoral en el torrente sanguíneo, lo que aumentaría la señal de la FAM. Metodológicamente, esta técnica se basa en la identificación de la permeabilidad de los vasos mediante la detección de eritrocitos extravasados. La evaluación estadística inicial de los casos "extremos" mediante esta nueva técnica ha obtenido resultados prometedores, que deben confirmarse y validarse en la serie completa de 185 pacientes (esta validación que está en curso).

Uno de los subobjetivos del proyecto era evaluar parámetros derivados de imágenes de resonancia magnética multiparamétrica (mpMRI) en CCR y como biomarcadores predictivos de respuesta a terapias antiangiogénicas. Para alcanzar este subobjetivo, se propuso un estudio prospectivo con 20 pacientes a los que se les haría MRI para realizar esta evaluación. Desafortunadamente, la inclusión de pacientes prospectivos no fue posible y se decidió estudiar las imágenes retrospectivas de CTscans de la cohorte del proyecto. Se seleccionaron 63 pacientes de los incluidos en el proyecto, con metástasis hepática tratados con quimioterapia +/- antiangiogénicos. Los resultados indican que los fenotipos basados en la TC radiológica pueden proporcionar información válida sobre las características del tumor, incluida la vasculatura, que se asocia a la respuesta a bevacizumab y niveles más altos de FAM en el ADN tumoral circulante. Por último, durante el segundo año de proyecto se inició una nueva línea de investigación basada en modelos de animales derivados de xenoinjertos de pacientes (PDX) para evaluar la posible concordancia entre el estado de vascularización tumoral y el valor de la FAM. En este sentido, se ha trabajado en el desarrollo de modelos de PDX capaces de liberar ctDNA en sangre. Se ha conseguido generar dos modelos de PDX, uno con capacidad de liberar ctDNA en sangre (G13D) y otro sin esa capacidad (G12D). Esta nueva herramienta nos permitirá obtener más información sobre el proceso de *shedding* y evaluar, mediante un enfoque diferente, el valor pronóstico de la FAM de *RAS*. Actualmente se están realizando una serie de experimentos funcionales con estos modelos tratados con quimioterapia +/- antiangiogénicos.

### 3. Relevancia y posibles implicaciones futuras

La formación de nuevos vasos sanguíneos o angiogénesis desempeña un papel crucial en la progresión del cáncer, lo que convierte la inhibición de este proceso en una vía terapéutica prometedora. Se ha demostrado la importancia de la inhibición de la angiogénesis para detener el avance del tumor, con diversas dianas antiangiogénicas identificadas en el tratamiento del cáncer. Sin embargo, la implementación de estas terapias presenta desafíos clínicos, incluyendo efectos secundarios y costes financieros. Por lo tanto, es necesario identificar urgentemente biomarcadores capaces de predecir las respuestas de los pacientes a la terapia antiangiogénica, con el objetivo de optimizar los resultados del tratamiento y la asignación de recursos.

Estudios anteriores han demostrado una correlación entre la FAM-RAS en el ADN tumoral circulante y el pronóstico en pacientes con CCRm. Sobre esta base, nuestro estudio tenía como objetivo extender estos hallazgos a la población *RASwt*. Los resultados demostraron que los niveles de FAM de genes *driver* en el ctDNA podrían servir como biomarcadores pronósticos para los pacientes con CCRm, potencialmente de forma independiente del perfil mutacional del tumor. Esta observación podría ayudar a los oncólogos a seleccionar a pacientes con un pronóstico más favorable y proporcionar herramientas de pronóstico adicionales para la práctica clínica diaria. Además, estos resultados se han observado en pacientes tratados tanto en primera línea como posteriores, por lo tanto, ha actuado como biomarcador fiable a lo largo de la historia oncológica del paciente.

En este estudio, el análisis de la FAM del ctDNA proporciona información predictiva valiosa. Los resultados indican que los pacientes con altos niveles de FAM tienden a tener una mejor SLP con el fármaco antiangiogénico bevacizumab, en comparación con aquellos con una FAM alta tratados sin bevacizumab. Por el contrario, los pacientes con una FAM baja no mostraron diferencias en la SLP independientemente del tratamiento con bevacizumab. Aunque se necesitan más datos prospectivos, la incorporación del análisis del ctDNA en la práctica clínica habitual permite a los médicos tomar decisiones más informadas sobre la selección de pacientes para el tratamiento o no con bevacizumab.

En resumen, nuestro estudio subraya la relevancia clínica de la FAM como biomarcador pronóstico en el CCRm y destaca su papel potencial como biomarcador predictivo para el tratamiento antiangiogénico. Estos hallazgos tienen implicaciones para la medicina personalizada y pueden abrir el camino a ensayos controlados aleatorizados para validar estos resultados.

Además, el desarrollo de nuevas herramientas, como la generada para evaluar la permeabilidad de los vasos sanguíneos, o los modelos con capacidad de liberar ctDNA, nos permitirá obtener más información sobre el proceso de *shedding* y evaluar mediante un enfoque distinto el valor pronóstico de la FAM-RAS.

#### 4. Bibliografía científica generada

##### **Publicaciones en congresos científicos**

- Presentación de un póster en la American Society of Clinical Oncology (ASCO) 2022; Chicago (EE. UU.), 3-7 de junio.

Autores: Saoudi Gonzalez N, Ros Montaña J, Martini G, Comas R, Garcia A, Baraibar I, Salva F, Cabellos L, Castillo G, Navarro Garces V, Perez-Lopez R, Palmer HG, Vivancos A, Tabernero J, Élez E.

*Impact of circulating tumour DNA (ctDNA) mutant allele fraction in response to anti angiogenic therapy in RAS-mutant metastatic colorectal cancer (mCRC): Clinical data in the first-line setting and correlation in patient-derived xenograft (PDX) models.*

Journal of Clinical Oncology, 40:16\_suppl.

[https://doi.org/10.1200/JCO.2022.40.16\\_suppl.3560](https://doi.org/10.1200/JCO.2022.40.16_suppl.3560)

- Presentación de un póster en el ISREC-SCCL Symposium 2023, Lausana (Suiza), 21-24 de agosto.

Autores: Peix F, Pons R, Martínez M, Casanovas O.