



MEMÒRIA

25è RETORN SOCIAL DE LA RECERCA
CÀNCER

IMPLEMENTACIÓ DE LA BIÒPSIA LÍQUIDA MÉS ENLLÀ DE LES APLICACIONS ACTUALS: ESTUDI PROSPECTIU DEL VALOR PRONÒSTIC I PREDICTIU DE L'ADN TUMORAL CIRCULANT EN CÀNCER COLORECTAL METASTÀTIC

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. Resum

Malgrat els importants avenços en el tractament del càncer colorectal metastàtic (CCRm), les taxes de supervivència a 5 anys són desoladores. Es necessiten millors biomarcadors pronòstics i predictius de resposta per identificar els pacients de més risc i implementar tractaments personalitzats.

El DNA lliure circulant (cfDNA) al plasma sanguini és una barreja de fragments de DNA normal i derivats del tumor (DNA del tumor circulant, ctDNA en anglès). El procés pel qual les cèl·lules tumorals alliberen ctDNA al torrent sanguini s'anomena *shedding*. La quantitat de cfDNA és substancialment superior en pacients amb càncer que en individus sans; la relació de ctDNA en cfDNA es dedueix de la fracció al·lèlica mutada (FAM), cosa que es pot analitzar mitjançant una biòpsia líquida. Els nostre grup ha demostrat que el valor de la FAM de la mutació *RAS* (FAM-*RAS*) a l'inici del tractament es correlaciona significativament amb la supervivència global (SG). Els malalts amb una FAM baixa tenen millor SG i una tendència a millor supervivència lliure de progressió (SLP), de manera que la FAM-*RAS* en plasma seria un factor pronòstic. Una anàlisi exploratòria va demostrar que en els pacients amb FAM-*RAS* elevada tractats amb fàrmacs antiangiogènics i quimioteràpia passava més temps fins que la malaltia progressava. Per tant, la FAM-*RAS* plasmàtica podria dependre de la qualitat de la vascularització tumoral.

Aquest projecte proposa estudiar el valor pronòstic del ctDNA en pacients amb CCRm tractats en una primera línia de tractament i successives, la seva correlació amb la vascularització tumoral a través de l'avaluació histomorfològica de la vasculatura, així com el valor predictiu de canvis precoços en aquesta per l'efecte de la teràpia antiangiogènica mitjançant una tècnica no invasiva d'última generació en temps real: la biòpsia líquida. Pensem que els resultats aconseguits tindran un impacte directe en l'esperança de vida i la gestió clínica rutinària dels pacients amb CCRm i ens permetrà identificar altres àrees de recerca en tumors que es podrien beneficiar de tractaments antiangiogènics.

2. Resultats

L'objectiu d'aquest projecte és estudiar el valor pronòstic i predictiu de la resposta a teràpies antiangiogèniques del ctDNA, en una població prospectiva de pacients amb CCR, CCRm, la seva vinculació amb l'estat de vascularització tumoral i el valor predictiu de la imatge vascular tumoral de la teràpia antiangiogènica.

Per aquest motiu, es va incloure inicialment una cohort de 185 pacients amb CCRm tractats en primera línia amb quimioteràpia +/- antiangiogènics. Un cop iniciat el projecte, es va decidir explorar la cohort de pacients tractats amb quimioteràpia +/- antiangiogènics en segona línia o posteriors. D'aquesta segona cohort, es van incloure un total de 59 pacients.

Un cop analitzats els valors de la FAM en les dues cohort proposades, els resultats obtinguts conclouen que els valors de la FAM serveixen com a indicadors pronòstics tant en els pacients tractats en primera línia amb quimioteràpia +/- antiangiogènics, com en els tractats en segona línia o posteriors. En tots dos casos, la supervivència global és significativament superior en pacients amb un valor de la FAM baix comparat amb aquells amb un valor de la FAM alt.

Quant a l'objectiu de l'estudi del ctDNA com a biomarcador predictiu de resposta al tractament en primera línia amb antiangiogènics, es va avaluar l'SLP en funció del tractament rebut (quimioteràpia +/- antiangiogènics) i es va concloure que els pacients amb una FAM alta presentaven una millor SLP quan havien estat tractats amb quimioteràpia + antiangiogènics que si havien estat tractats només amb quimioteràpia. D'altra banda, els pacients amb una FAM baixa no van mostrar diferències significatives en el valor d'SLP en funció del tractament amb antiangiogènics o sense. Per tant, es pot concloure que els valors de les FAM tenen un valor predictiu sobre la resposta a fàrmacs antiangiogènics en primera línia.

Durant l'execució del projecte també s'ha avaluat la correlació del valor de la FAM amb la vascularització tumoral a través de l'avaluació histomorfològica de la vasculatura del tumor. Dels 185 pacients inclosos, fins ara s'han analitzat els casos més extrems: els 8 pacients amb el valor de FAM més alt i els 5 amb el valor més baix. La vasculatura en aquestes 13 mostres va mostrar una variabilitat important de l'estructura i densitat dels vasos sanguinis en comparació amb mostres de pacients analitzades durant el

primer any del projecte. Això es pot explicar fàcilment perquè es tracta de casos extrems de valors de la FAM, en comparació amb les mostres de pacients amb fenotips molt més intermedis.

A més, en el marc del projecte hem desenvolupat una nova tècnica per avaluar la permeabilitat dels vasos sanguinis. La permeabilitat pot ser un factor rellevant en l'estructura dels vasos, ja que podria ser un factor important en l'extravasació de DNA tumoral al torrent sanguini, cosa que augmentaria el senyal de la FAM.

Metodològicament, aquesta tècnica es basa en la identificació de la permeabilitat dels vasos mitjançant la detecció d'eritròcits extravasats.

L'avaluació estadística inicial dels casos "extrems" mitjançant aquesta nova tècnica ha obtingut resultats prometedors, que s'han de confirmar i validar en la sèrie completa de 185 pacients (aquesta validació està en curs).

Un dels subobjectius del projecte era avaluar paràmetres derivats d'imatges de ressonància magnètica multiparamètrica (mpMRI) en CCR i com a biomarcadors predictius de resposta a teràpies antiangiogèniques. Per assolir aquest subobjectiu, es va proposar un estudi prospectiu amb 20 pacients als quals es faria MRI per fer aquesta avaluació. Malauradament, la inclusió de pacients prospectius no va ser possible i es va decidir estudiar les imatges retrospectives de CTscans de la cohort del projecte. Dels pacients inclosos al projecte, se'n van seleccionar 63 amb metàstasi hepàtica tractats amb quimioteràpia +/- antiangiogènics. Els resultats indiquen que els fenotips basats en la TC radiològica poden proporcionar informació vàlida sobre les característiques del tumor, inclosa la vasculatura, que s'associa a la resposta a bevacizumab i a nivells més alts de FAM en el DNA tumoral circulant.

Finalment, durant el segon any de projecte es va iniciar una nova línia de recerca basada en models animals derivats de xenoempelt de pacient (PDX) per avaluar la possible concordança entre l'estat de vascularització tumoral i el valor de la FAM. En aquest sentit, s'ha treballat en el desenvolupament de models de PDX capaços d'alliberar ctDNA en sang. S'ha aconseguit generar 2 models de PDX, l'un amb capacitat d'alliberar ctDNA a la sang (G13D) i l'altre sense aquesta capacitat (G12D). Aquesta nova eina ens permetrà obtenir més informació sobre el procés de *shedding* i

avaluar, mitjançant un enfocament diferent, el valor pronòstic de la FAM de *RAS*. Actualment s'estan fent una sèrie d'experiments funcionals amb aquests models tractats amb quimioteràpia +/- antiangiogènics.

3. Rellevància i possibles implicacions futures

La formació de nous vasos sanguinis o angiogènesi té un paper crucial en la progressió del càncer, cosa que converteix la inhibició d'aquest procés en una via terapèutica prometedora. S'ha demostrat la importància de la inhibició de l'angiogènesi per aturar l'avanç del tumor, amb diverses dianes antiangiogèniques identificades en el tractament del càncer. Tanmateix, la implementació d'aquestes teràpies presenta desafiaments clínics, incloent-hi efectes secundaris i costos financers. Per tant, cal identificar urgentment biomarcadors capaços de predir les respostes dels pacients a la teràpia antiangiogènica, cosa que permetria optimitzar els resultats del tractament i l'assignació de recursos.

Estudis anteriors han demostrat una correlació entre la FAM de *RAS* en el DNA tumoral circulant i el pronòstic en pacients amb CCRm. A partir d'aquesta base, el nostre estudi tenia com a objectiu estendre aquestes troballes a la població *RASwt*. Els resultats van demostrar que els nivells de FAM de gens *driver* al ctDNA podrien servir com a biomarcadors pronòstics per als pacients amb CCRm, potencialment de manera independent del perfil mutacional del tumor. Aquesta observació podria ajudar els oncòlegs a seleccionar els pacients amb un pronòstic més favorable i proporcionar eines de pronòstic addicionals per a la pràctica clínica diària.

A més, aquests resultats s'han observat en pacients tractats tant en primera línia com en posteriors; per tant, ha actuat com a biomarcador fiable al llarg de la història oncològica del pacient.

En aquest estudi, l'anàlisi de la FAM del ctDNA proporciona informació predictiva valuosa. Els resultats indiquen que els pacients amb nivells alts de la FAM tendeixen a tenir una millor supervivència sense progressió amb el fàrmac antiangiogènic bevacizumab, en comparació amb els pacients amb una FAM alta tractats sense bevacizumab. Per contra, els pacients amb una FAM baixa no van mostrar diferències

en l'SLP independentment del tractament amb bevacizumab. Tot i que es necessiten més dades prospectives, la incorporació de l'anàlisi del ctDNA a la pràctica clínica habitual permet als metges prendre decisions més informades sobre la selecció de pacients per al tractament amb bevacizumab o no.

En resum, el nostre estudi subratlla la rellevància clínica de la FAM com a biomarcador pronòstic en el CCRm i destaca el seu paper potencial com a biomarcador predictiu per al tractament antiangiogènic. Aquestes troballes tenen implicacions per a la medicina personalitzada i poden obrir el camí a assajos controlats aleatoritzats per validar aquests resultats.

A més, el desenvolupament de noves eines, com la generada per avaluar la permeabilitat dels vasos sanguinis, o els models amb capacitat d'alliberar cfDNA, ens permetrà obtenir més informació sobre el procés de *shedding* i avaluar, mitjançant un enfocament diferent, el valor pronòstic de la FAM-RAS.

4. Bibliografia científica generada

Publicacions en congressos científics

Presentació d'un pòster a l'American Society of Clinical Oncology (ASCO) 2022, Chicago (EUA), 3-7 de juny.

Autors: Saoudi Gonzalez N, Ros Montañá 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, Taberero 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

Presentació d'un pòster a l'ISREC-SCCL Symposium 2023, Lausana (Suïssa), 21-24 d'agost.

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