

UN TRATAMIENTO “A LA CARTA” PARA LOS PACIENTES CON ADENOCARCINOMA PANCREÁTICO

JUAN IOVANNA, NELSON DUSETTI

Centre de Recherche en Cancérologie de Marseille (CRCM), INSERM U1068, CNRS UMR 7258, Aix-Marseille Université and Institut Paoli-Calmettes, Parc Scientifique et Technologique de Luminy, France

Resumen El adenocarcinoma pancreático es una enfermedad heterogénea. Sin dudas la aparición y la acumulación de mutaciones genéticas promueven el desarrollo del adenocarcinoma pancreático. Sin embargo, de manera contra-intuitiva, los análisis genéticos, por más precisos y profundos que sean, no permiten la estratificación de los pacientes para predecir la evolución clínica ni para seleccionar el tratamiento más eficaz para cada paciente. Esto es debido a que la evolución clínica y la sensibilidad a los tratamientos están asociadas con su fenotipo, el que, a su vez, está determinado por la expresión global de los genes, es decir están regulados a nivel transcriptómico. Por lo tanto, la estratificación de esos pacientes debe hacerse a través de la lectura transcriptómica y no a través de su análisis genético. Los datos obtenidos sobre grandes cohortes de pacientes indican que el estudio de un conjunto de transcritos seleccionados podría predecir la evolución clínica y ayudar a decidir el tratamiento más apropiado. Se está avanzando rápidamente hacia una medicina personalizada para esta enfermedad, que de por sí tiene un mal pronóstico, pero que es aún peor si la decisión terapéutica no es la más adaptada a cada paciente. Estamos convencidos de que en un futuro próximo el tratamiento de los cánceres estará precedido por una caracterización transcriptómica extensa con el fin de seleccionar los tratamientos “a la carta” más adecuados.

Palabras clave: cáncer pancreático, transcriptoma, medicina personalizada, expresión génica, bioinformática

Abstract *An “à la carte” treatment for patients with pancreatic adenocarcinoma.* Pancreatic adenocarcinoma is a heterogeneous disease. Undeniably, the appearance and accumulation of genetic mutations promote the development of pancreatic adenocarcinoma. However, counterintuitively, genetic analyzes, no matter how precise and in-depth they may be, do not allow stratification of patients to predict their clinical evolution or to select the most effective treatment in each case. This is due to the fact that the clinical evolution and sensitivity to treatments are associated with the tumoral phenotype, which, in turn, is determined by the global expression of genes that is regulated at the transcriptomic level. Therefore, the stratification of these patients must be done by analysis at the transcriptomic level and not by genetic analysis. The data obtained from large cohorts of patients indicate that studying the transcription of a selected set of genes could predict the clinical outcome and can help to decide about the most appropriate treatment. We are moving very rapidly towards a personalized medicine for this disease, which in itself has a poor prognosis, even worse if the therapeutic decision is not the most adapted to each patient. We are convinced that in the near future the treatment of cancers will be preceded by an extensive transcriptomic characterization in order to select the most suitable “à la carte” treatments.

Key words: pancreatic cancer, transcriptoma, personalized medicine, genetic expression, bioinformatics

PUNTOS CLAVE

- Las mutaciones genéticas presentes en los adenocarcinomas pancreáticos son responsables de la aparición de estos tumores, pero no son responsables de la heterogeneidad tumoral observada en la clínica.
- La heterogeneidad tumoral se justifica por las variaciones en la expresión génica.
- La expresión génica permite predecir la evolución clínica y la selección del tratamiento mejor adaptado a cada paciente.
- En un futuro próximo, el tratamiento de los cánceres pancreáticos, y probablemente de los otros, estará precedido por una caracterización transcriptómica extensa con el fin de seleccionar los tratamientos "a la carta" más adecuados a cada paciente.

El adenocarcinoma pancreático es el tipo más común de los cánceres de páncreas y una de las neoplasias malignas más letales debido a su alta capacidad metastásica y su escasa respuesta a los tratamientos disponibles en la actualidad¹. El evento genético más temprano en el pasaje del epitelio sano a la neoplasia intraepitelial pancreática premaligna (PanIN) es la mutación del oncogén *Kras*². La activación mutacional de la proteína KRAS desencadena la activación de diversas cascadas de señalización que promueven de manera perdurable la proliferación celular, la reprogramación metabólica, la antiapoptosis, la evasión de la respuesta inmunitaria y la remodelación del microambiente tumoral. Luego de esto, los reordenamientos cromosómicos, la inactivación genética o las mutaciones en los genes supresores de tumor como *CDKN2A*, *TP53*, *SMAD4* y otros, provocan la progresión de las PanINs de bajo grado a las PanINs de alto grado que de a poco van a conducir infaliblemente al desarrollo del adenocarcinoma pancreático^{3,4}. Una masa tumoral está rodeada por un microambiente complejo y enriquecido en fibroblastos asociados al cáncer, linfocitos T reguladores, células estrelladas, macrófagos, células endoteliales y células madre cancerosas^{5,6}. Estos tipos de células juegan un rol activo en el mantenimiento de un microambiente tumoral que favorece la supervivencia de las células cancerosas promoviendo a su vez el desarrollo y la progresión tumoral.

Durante las últimas décadas, el análisis genético de los tumores pancreáticos permitió la identificación de mutaciones en varios genes que resultan en la desregulación de las vías celulares en las que están implicados. Este hecho puso en claro la total dependencia genética en el proceso de aparición de estos tumores. Además, esto estimuló la idea que las mutaciones de estos genes podrían ser aprovechadas como posibles dianas terapéuticas en el caso que pudieran encontrarse fármacos específicos. Desafortunadamente, después de un período de gran entusiasmo, debemos aceptar que este tipo de

estrategia terapéutica se ha podido aplicar eficazmente sobre un muy pequeño porcentaje de pacientes. En primer lugar, porque esos fármacos no están aún desarrollados y, en segundo lugar, porque la gran mayoría de los genes mutados no son drogables. Se consideran no drogables aquellos genes que son total o parcialmente eliminados y aquellos que codifican para proteínas sin actividad enzimática. En el adenocarcinoma pancreático las mutaciones en los genes *KRAS*, *TP53*, *SMAD4*, *CDKN2A*, *MLL3*, *TGFBR2*, *ARID1A* y *SF3B1* están presentes en la mayoría de los tumores, pero estos genes no son buenas dianas ya que la gran mayoría de ellos no presentan actividad enzimática para poder ser inhibidos o porque su actividad está basada en la interacción proteína-proteína por lo cual su inactivación permanece técnicamente inalcanzable, o al menos muy difícil, por el momento. Para tratar los adenocarcinomas pancreáticos utilizando estos genes como dianas se deberán desarrollar estrategias alternativas mediante el uso, por ejemplo, de estrategias a base de la edición del genoma aprovechando la técnica de la CRISPR-Cas9 con la que probablemente un día podrán corregirse específicamente las mutaciones en los tumores. Esto parece ser prometedor, pero por el momento solo una alternativa aún muy teórica.

El adenocarcinoma pancreático es una enfermedad altamente heterogénea

El adenocarcinoma pancreático es una de las neoplasias malignas humanas más letales y uno de los principales problemas de salud que causa alrededor de 450 000 muertes al año en todo el mundo⁷. El pronóstico es malo en general, con solo el 5% de los pacientes que quedan vivos a los 5 años que siguen al momento del diagnóstico⁷. Lamentablemente, casi todos los ensayos clínicos de fase II y III recientes, implementados en poblaciones no seleccionadas, no mostraron ningún beneficio en la supervivencia de los pacientes⁸⁻¹⁰. Una característica singular de esta enfermedad es su particular heterogeneidad que se ve reflejada en sus diversos patrones de evolución, con una supervivencia que puede variar de 2 a 3 meses a más de 5 años después del diagnóstico, o de su inconstante respuesta a las terapias. Esto podría explicarse por el hecho de que cada adenocarcinoma pancreático está controlado por la combinación de varias alteraciones de las vías intracelulares, aunque diferentes entre los pacientes, que resultarán en una susceptibilidad variable a las drogas, al desarrollo más o menos rápido de las metástasis y por tanto, de su supervivencia¹¹⁻¹³. Desafortunadamente, hasta el momento no se han propuesto tratamientos que tengan en cuenta esta heterogeneidad molecular entre los tumores. De hecho, las drogas que se administran a los que padecen un adenocarcinoma pancreático, se las elige de acuerdo a su estado general

y su capacidad a tolerarlas, más que al subtipo tumoral. En ningún caso se ha estudiado si las características moleculares del tumor pueden predecir su respuesta a los tratamientos. Por ejemplo, la respuesta objetiva de los tratados con FOLFIRINOX es del 31.6% y es del 9.4% en aquellos tratados con gemcitabina, lo que significa que alrededor del 70% y del 90%, respectivamente, de los pacientes no responden^{14, 15}. Pero, ¿quiénes son estos pacientes? ¿Cómo podrían ser identificados? Parece entonces indiscutible que, para aumentar la eficacia del tratamiento, los sujetos deberían ser seleccionados para recibir el fármaco o la combinación de fármacos más eficaces para cada uno.

El transcriptoma del adenocarcinoma pancreático se correlaciona con la evolución clínica y puede predecir la respuesta a los fármacos

La acumulación progresiva de mutaciones genéticas induce el desarrollo del adenocarcinoma pancreático, pero el análisis genético de los tumores (mutaciones, amplificaciones o deleciones) no ayuda a predecir la evolución de los pacientes ni a seleccionar tratamientos específicos para cada uno. Este hecho demuestra que el comportamiento de cada adenocarcinoma pancreático está regulado en un nivel post-genético. En otras palabras, el fenotipo de los adenocarcinomas pancreáticos es extremadamente heterogéneo a pesar de que solo un pequeño número de mutaciones controlan la transformación maligna. Por lo tanto, debemos asumir que estas diferencias están controladas a nivel epigenético, transcriptómico y a nivel de la traducción y post-traduccionales de las proteínas. Por lo tanto, en términos prácticos, para estratificar los adenocarcinomas pancreáticos se debe caracterizar el nivel de la expresión de los ARNs o de las proteínas y sus modificaciones post-traduccionales. Fue en este contexto que surgió la hipótesis según la cual nosotros postulamos que el transcriptoma de los adenocarcinomas pancreáticos puede ser informativo sobre la predicción de la evolución clínica y también podría ser informativo acerca de la quimio-sensibilidad de las células tumorales a los diferentes fármacos.

El transcriptoma tumoral predice la evolución del adenocarcinoma pancreático

Durante mucho tiempo se ha intentado identificar marcadores biológicos que pudieran estratificar los adenocarcinomas pancreáticos con la intención de poner a disposición de la medicina ciertas herramientas que pudieran guiar mejor los tratamientos personalizados, más allá de las mutaciones genéticas conocidas. Durante los últimos

años se han propuesto diferentes subtipos moleculares para los adenocarcinomas pancreáticos: Collisson y col. definieron los subtipos clásico, cuasi-mesenquimatoso y *exocrino-like*¹⁶; Moffitt y col. definieron los subtipos *basal-like* y clásico, normal y con estroma activado¹⁷; y el Consorcio Internacional del Genoma del Cáncer definió los subtipos escamoso o *basal-like*, progenitor pancreático o clásico, *exocrino-like* e inmunogénico¹⁸. Si uno resume, estos autores postularon que hay dos grupos de tumores, uno con mejor pronóstico (llamados por cada uno respectivamente clásico, *exocrino-like* y progenitor pancreático) que otro (llamados respectivamente cuasi-mesenquimatoso, escamoso o *basal-like*). Estos autores reivindicaron básicamente un sistema binario de clasificación, con alguna excepción que no encontraba su lugar ni en uno ni en otro grupo. Al contrario, utilizando una estrategia basada en la producción masiva de xenoinjertos derivados directamente de pacientes, lo que nos permitió concentrar los estudios sobre las células epiteliales transformadas, y un algoritmo complejo basado en la inteligencia artificial, hemos podido demostrar que los adenocarcinomas pancreáticos pueden estratificarse con mayor precisión en un gradiente continuo y que este gradiente molecular se correlaciona perfectamente con la evolución clínica de los pacientes¹⁹. Por ejemplo, en un estudio univariado de correlación entre el gradiente molecular y la supervivencia de los pacientes la significación estadística de esta correlación fue de $p = 1.29 \times 10^{-4}$ en una cohorte de 267 pacientes resecados y de $p = 4.97 \times 10^{-7}$ en otra cohorte de 309 pacientes resecados¹⁹. Más allá de las divergencias en cuanto a la terminología empleada en esta clasificación, el concepto que debe retenerse es la existencia de una enorme heterogeneidad entre estos tumores. Lo que se desprende de esto es que si los tumores son heterogéneos los tratamientos debieran adaptarse a cada subtipo, lo que por el momento se hace raramente.

La utilización del transcriptoma como herramienta de estratificación de tumores ha sido utilizado en otro tipo de tumores (próstata, mama y colon), de los cuales varios están en utilización clínica como por ejemplo: PAM50²⁰, MammaPrint²¹ Oncotype Dx[®] Breast²² o el Oncotype Dx[®] Colon²³. Esto presagia que con el tiempo las decisiones terapéuticas para el adenocarcinoma pancreático podrán ser ayudadas con los análisis transcriptómicos de los tumores.

El transcriptoma tumoral predice la quimio-sensibilidad del adenocarcinoma pancreático

La práctica oncológica se enfrenta continuamente al desafío de hacer coincidir el régimen terapéutico adecuado con el individuo adecuado, y tratar de equilibrar los riesgos con los beneficios esperados para lograr el resultado

más favorable. Depender de los perfiles moleculares de los tumores para personalizar los tratamientos es importante en oncología, ya que hasta ahora se centraba principalmente en la identificación de mutaciones o translocaciones genómicas raras. Más importante que predecir los riesgos de recurrencia, es decir la resistencia que será adquirida a lo largo del tratamiento, es que se prediga la sensibilidad a la quimioterapia, o sea las terapias sin dianas específicas. En la literatura no se habían comunicado indicadores de sensibilidad a los tratamientos. Solo nuestros trabajos recientes sobre el adenocarcinoma pancreático informan ese tipo de resultados²⁴. A partir de allí se abre la puerta a un nuevo tipo de medicina para el tratamiento del adenocarcinoma pancreático. Un tipo de medicina “a la carta”, es decir adaptada a cada uno de los pacientes. Nosotros hemos definido un conjunto de transcriptos capaces de predecir la sensibilidad a la gemcitabina para pacientes con adenocarcinoma pancreático como prueba de concepto²⁴. Es importante destacar que la estrategia para identificar esos marcadores moleculares capaces de definir la sensibilidad a los tratamientos necesita en primer lugar, obtener numerosas muestras tumorales de pacientes bajo forma de modelos de estudio *in vitro* (organoides, cultivos primarios de células cancerosas) e *in vivo* (xenoinjertos); en segundo lugar, establecer para cada uno de estos modelos un *ranking* de sensibilidad a la droga quimioterapéutica estudiada; en tercer lugar, tener a disposición todas las características transcriptómicas de esos modelos; y por último, buscar la mejor correlación entre la expresión del conjunto de genes y la sensibilidad de esos modelos y desarrollar un algoritmo basado en la inteligencia artificial, que permita comparar la expresión de un nuevo paciente a los datos de la base de referencia. La aplicación de esta estrategia permitió desarrollar un algoritmo, denominado GemPred, capaz de predecir la respuesta al tratamiento por gemcitabina²⁴. Este algoritmo fue primero probado en una cohorte monocéntrica y luego validado en un estudio multicéntrico con un gran número de pacientes. En ese estudio GemPred fue capaz de estratificar los pacientes y predecir su respuesta al tratamiento. Por ejemplo, los pacientes definidos como respondedores al tratamiento sobrevivieron 91,3 meses en promedio mientras que los definidos como no respondedores solo 33 meses²⁴.

Indudablemente se podrán realizar estudios similares y establecer nuevos marcadores con otras drogas para

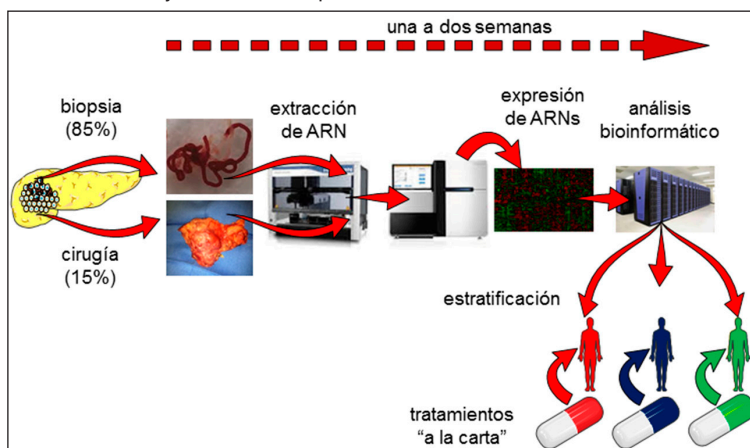
el adenocarcinoma pancreático, pero probablemente se podrá aplicar la misma estrategia (o por lo menos una similar) para predecir los tratamientos más apropiados para quienes padezcan otros tipos de tumores difíciles de tratar y con alta heterogeneidad.

Conclusiones y perspectivas

La identificación de las alteraciones genéticas en el adenocarcinoma pancreático es claramente ineficaz para orientar un enfoque terapéutico para estos pacientes. El análisis transcriptómico total o parcial del adenocarcinoma pancreático parece ser una estrategia prometedora para revelar el fenotipo molecular de esta enfermedad, precisar su probable evolución clínica y ayudar a definir la mejor opción terapéutica. Es importante destacar que la obtención de los predictores moleculares de ARN es de fácil aplicación y de relativo bajo costo. Esto es particularmente beneficioso en los tumores no operables, que representan alrededor del 85% de los adenocarcinomas pancreáticos. Actualmente, en los pacientes no operables se toma una biopsia por eco-endoscopia con el objetivo de confirmar el diagnóstico antes de comenzar cualquier tratamiento quimioterapéutico. Estas biopsias representan una fuente valiosa de células cancerosas, que sirven como fuente de macromoléculas tumorales tales como ARN. A su vez, este ARN se puede utilizar para medir la expresión de conjuntos de ARN de interés para definir un fenotipo particular. Es importante destacar que todas estas manipulaciones toman entre una o dos semanas de trabajo adicionales. Es muy probable que, en un futuro próximo, el tratamiento de este tipo de cáncer, y quizás también de otros, vaya precedido de una caracterización molecular extensa de las células cancerosas con el fin de seleccionar el tratamiento más apropiado, entrando al tan esperado enfoque de la medicina “a la carta” para el tratamiento de pacientes con adenocarcinoma pancreático (ver Figura 1). El adenocarcinoma pancreático es sin duda una de las enfermedades malignas que más urgentemente necesita este tipo de enfoque, ya que el tratamiento con medicamentos estándar es en gran parte ineficaz.

Conflicto de intereses: Ninguno para declarar

Fig. 1.– Representación esquemática del procedimiento para predecir el mejor tratamiento para cada paciente con un adenocarcinoma pancreático. Las muestras de tejido tumoral pueden ser obtenidas a partir de muestras quirúrgicas (alrededor del 15% de los casos) o de biopsias (alrededor del 85% de los casos). Esas muestras servirán como fuente para extraer el ARN total. El ARN obtenido se utiliza para estudiar la expresión génica global por secuenciación del ARN. Los datos de expresión obtenidos se procesan gracias a los algoritmos establecidos y cada paciente nuevo será estratificado y seleccionado para un tratamiento “a la carta”



Bibliografía

1. Siegel R, Naishadham D, Jemal A. Cancer statistics, 2013. *CA Cancer J Clin* 2013; 63: 11-30.
2. Deramautd T, Rustgi AK. Mutant KRAS in the initiation of pancreatic cancer. *Biochim Biophys Acta* 2005; 1756: 97-101.
3. Feldmann G, Beaty R, Hruban RH, et al. Molecular genetics of pancreatic intraepithelial neoplasia. *J Hepatobiliary Pancreat Surg* 2007; 14: 224-32.
4. Furukawa T, Sunamura M, Horii A. Molecular mechanisms of pancreatic carcinogenesis. *Cancer Sci* 2006; 97: 1-7.
5. Pillarisetty VG. The pancreatic cancer microenvironment: an immunologic battleground. *Oncoimmunology* 2014; 3: e950171.
6. Carr RM, Fernandez-Zapico ME. Pancreatic cancer micro-environment, to target or not to target? *EMBO Mol Med* 2016; 8: 80-2.
7. Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2016. *CA Cancer J Clin* 2016; 66:7-30.
8. Kindler HL, Ioka T, Richel DJ, et al. Axitinib plus gemcitabine versus placebo plus gemcitabine in patients with advanced pancreatic adenocarcinoma: a double-blind randomised phase 3 study. *Lancet Oncol* 2011; 12: 256-62.
9. Moore MJ, Goldstein D, Hamm J, et al. Erlotinib plus gemcitabine compared with gemcitabine alone in patients with advanced pancreatic cancer: a phase III trial of the National Cancer Institute of Canada Clinical Trials Group. *J Clin Oncol* 2007; 25: 1960-6.
10. Van Cutsem E, Vervenne WL, Bennis J, et al. Phase III trial of bevacizumab in combination with gemcitabine and erlotinib in patients with metastatic pancreatic cancer. *J Clin Oncol* 2009; 27: 2231-7.
11. Costello E, Greenhalf W, Neoptolemos JP. New biomarkers and targets in pancreatic cancer and their application to treatment. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2012; 9: 435-44.
12. Iovanna J, Mallmann MC, Gonçalves A, et al. Current knowledge on pancreatic cancer. *Front Oncol* 2012; 2: 6.
13. Vincent A, Herman J, Schulick R, et al. Pancreatic cancer. *Lancet* 2011; 378: 607-20.
14. Burris HA, Moore MJ, Andersen J, et al. Improvements in survival and clinical benefit with gemcitabine as first-line therapy for patients with advanced pancreas cancer: a randomized trial. *J Clin Oncol* 1997; 15: 2403-13.
15. Conroy T, Desseigne F, Ychou M, et al. FOLFIRINOX versus gemcitabine for metastatic pancreatic cancer. *N Engl J Med* 2011; 364: 1817-25.
16. Collisson EA, Sadanandam A, Olson P, et al. Subtypes of pancreatic ductal adenocarcinoma and their differing responses to therapy. *Nat Med* 2011; 17: 500-3.
17. Moffitt RA, Marayati R, Flate EL, et al. Virtual microdissection identifies distinct tumor- and stroma-specific subtypes of pancreatic ductal adenocarcinoma. *Nat Genet* 2015; 47: 1168-78.
18. Bailey P, Chang DK, Nones K, et al. Genomic analyses identify molecular subtypes of pancreatic cancer. *Nature* 2016; 531: 47-52.
19. Nicolle R, Blum Y, Duconseil P, et al. Establishment of a pancreatic adenocarcinoma molecular gradient (PAMG) that predicts the clinical outcome of pancreatic cancer. *EBioMedicine* 2020; 57: 102858.
20. Parker JS, Mullins M, Cheang MCU, et al. Supervised risk predictor of breast cancer based on intrinsic subtypes. *J Clin Oncol* 2009; 27: 1160-7.
21. Vijver MJ van de, He YD, Veer LJ van't, et al. A gene-expression signature as a predictor of survival in breast cancer. *N Engl J Med* 2002; 347: 1999-2009.
22. Sparano JA, Gray RJ, Makower DF, et al. Adjuvant Chemotherapy Guided by a 21-Gene Expression Assay in Breast Cancer. *N Engl J Med* 2018; 379: 111-21.
23. O'Connell MJ, Lavery I, Yothers G, et al. Relationship between tumor gene expression and recurrence in four independent studies of patients with stage II/III colon cancer treated with surgery alone or surgery plus adjuvant fluorouracil plus leucovorin. *J Clin Oncol* 2010; 28: 3937-44.
24. Nicolle R, Gayet O, Duconseil P, et al. A transcriptomic signature to predict adjuvant gemcitabine sensitivity in pancreatic adenocarcinoma. *Ann Oncol* 2021; 32: 250-60.