

Investigación en Sarcoma de Ewing

1. Antecedentes del proyecto

El laboratorio de tumores del desarrollo del Hospital Sant Joan de Déu de Barcelona participa desde noviembre de 2010 en el proyecto SIGMA invitado como centro asociado al Children's Hospital de Boston (Dr. Carlos Rodríguez Galindo y Dr. Charles Roberts). El proyecto SIGMA en cáncer está dirigido por el Dr. Todd Golub, del Broad Institute (<http://www.broadinstitute.org>). El objetivo del proyecto SIGMA en cáncer es la secuenciación completa del genoma de diversos tipos tumorales, incluidos algunos de los tumores sólidos infantiles. La tecnología de alto rendimiento del análisis genómico permite descifrar la mayoría de las mutaciones, aberraciones, cambios en el número de copias, y reordenamientos genómicos en su conjunto. Estas tecnologías pueden identificar la diversidad genética presente en los tumores.

En enero de 2011 se inició el análisis del primer tipo de tumor infantil, el sarcoma de Ewing, con 24 casos de sarcoma de Ewing del banco de tumores de nuestro centro y en Junio de 2011 se obtuvieron los primeros datos de secuenciación completa de esas muestras, que constituyen la base de nuestro proyecto. Todas las muestras que pasaron los controles de calidad se secuenciaron mediante una plataforma de secuenciación masiva en paralelo para *whole exome*. Siete de los 24 casos se seleccionaron a posteriori para *whole genome sequencing* y en Noviembre de 2011 se inició la secuenciación completa. En Octubre de 2011 se añadieron 7 muestras que incluyen el tumor en la recaída de 5 de los 24 casos ya secuenciados y 2 tumores crecidos en los animales en el laboratorio del Hospital Sant Joan de Déu. Asimismo, en Octubre de 2011 se decidió añadir el estudio de expresión por microarrays de RNA de los casos a los que se va a estudiar el exoma completo. Estos análisis se completaron en Julio de 2012.

Los resultados preliminares obtenidos de la secuenciación del exoma completo en tumores primarios de sarcoma de Ewing nos muestran la relevancia funcional de algunas vías de señalización. Estos resultados han permitido elaborar un programa de investigación conjunto con el Dr. Enrique de Alava del CSIC en Salamanca y el Dr. Oscar Martínez del IDIBELL en Barcelona para investigar nuevos fármacos diseñados para bloquear las vías de señalización encontradas y relevantes para el tumor.

Objetivo 1 del año 2013. Completar el análisis de la secuenciación completa del sarcoma de Ewing: perfil de mutaciones y análisis funcional:

El estudio del perfil de mutaciones ha sido completamente finalizado y el manuscrito enviado en Diciembre de 2013 a Cancer Discovery. Está en revisión:

*Brian D. Crompton, Chip Stewart, Amaro Taylor-Weiner, Gabriela Alexa, Kyle C. Kurek, Monica L. Calicchio, Adam Kiezun, Scott L. Carter, Sachet A. Shukla, Swapnil S. Mehta, Aaron R. Thorner, Carmen de Torres, Cinzia Lavarino, Mariona Suñol, Aaron McKenna, Andrey Sivachenko, Kristian Cibulskis, Michael S. Lawrence, Lauren Ambrogio, Daniel Auclair, Ivan I. Rosshandler, Angela Schwarz-Cruz y Celis, Miguel N. Rivera, Carlos Rodríguez-Galindo, Mark D. Fleming, Todd R. Golub, Gad Getz, Jaume Mora, and Kimberly Stegmaier. **The Genomic Landscape of Pediatric Ewing Sarcoma.***

Este trabajo representa un hito histórico en el estudio del sarcoma de Ewing y se han podido contestar algunas preguntas de la biología fundamental de esta enfermedad:

1. El sarcoma de Ewing es uno de los tumores secuenciados hasta el momento genéticamente más anodino con sólo la translocación EWS/ETS identificada en todos los casos de manera recurrente.
2. La translocación es el evento genético primario y necesario en sarcoma de Ewing y la translocación recíproca no se expresa
3. El alelo normal de EWS de las células tumorales se expresa, no así los genes ETS (ERG y FLI)
4. La pérdida de STAG2 se encuentra en un 15-20% de casos y ocurre por mutación, reordenamiento, y probablemente otros mecanismos epigenéticos; y se asocia a enfermedad diseminada.

Objetivo 2 del año 2013. Optimización preclínica de fármacos que puedan inhibir las vías identificadas como relevantes en la biología del sarcoma de Ewing. Diseño de estudios de Fase I para pacientes con sarcoma de Ewing.

Objetivos específicos:

1. Generación de modelos preclínicos en animales inmunodeprimidos (xenografts): actualmente contamos con 5 modelos estables en ratón obtenidos durante los últimos dos años. De los 5 modelos, 2 fueron generados a partir de biopsias al diagnóstico (tumores no tratados) y 3 a partir de biopsias de los tumores en recaída post-tratamiento.
2. Selección preclínica de fármacos y regímenes: en este año se han evaluado en líneas y en tumores de pacientes diversos fármacos para analizar la conveniencia de proceder con los modelos animales. Entre estos fármacos incluimos: dasatinib, eribulina... y estamos evaluando la actividad de nab-paclitaxel (abraxane).

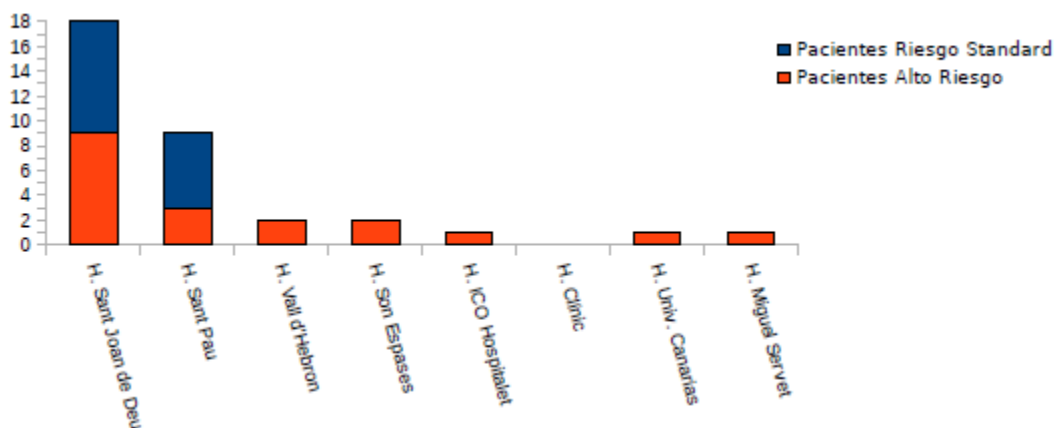
Objetivo 3 del año 2013. Finalización del ensayo clínico GEIS 21: ensayo de fase II, abierto, no controlado, multicéntrico y prospectivo, de quimioterapia intensiva, cirugía y radioterapia en sarcoma de Ewing de niños y adultos jóvenes. Nº EudraCT: 2009-016027-62 Promotor: Grupo Español de Investigación en Sarcomas (GEIS). Coordinador: Dr. Jaume Mora.

La solicitud de aprobación del ensayo se envió a la AEMPS el día 5 de Noviembre de 2009 y se obtuvo la aprobación el **11 de Febrero de 2010**. El dictamen favorable del CEIC de referencia se obtuvo en fecha **18 de Enero de 2010**. Centros participantes: H. Sant Joan de Deu, H. Clínic, H. Sant Pau, H. Vall d'Hebrón, ICO Hospitalet. Inclusión del primer paciente: 12 de Abril de 2010. Dr. Jaume Mora, Hospital Sant Joan de Deu. En este momento se han reclutado **34 pacientes** de los 43 previstos. El 15 de Junio de 2010 se aprobó la enmienda de ampliación de centros presentada el pasado mes de Mayo de 2010. Los centros ampliados son: H. Univ. Canarias, H. La Fe, H. Son Espases, H. Miguel Servet, H. Virgen del Rocío, H. Niño Jesús. En Diciembre de 2011 se otorga una Beca del Ministerio para poder gestionar el estudio y proporcionar la medicación en los centros participantes. El 15 de Abril de 2012 se aprobó la **enmienda relevante nº2** presentada el pasado mes de Marzo de 2012 informando de las nuevas condiciones de administración del Cardioxane, exclusivamente a mayores de 18 años y se ha dado de baja a los centros: H. La Fe de Valencia, H. Niño Jesús de

Madrid. En el mes de Mayo de 2013 se aprobó la **enmienda nº 3** de ampliación del H. Ramón y Cajal y baja del H. Virgen de la Victoria, presentada el mes de Febrero de 2013. En el mes de Octubre de 2013 se ha aprobado la **enmienda nº 4** informando del cambio de laboratorio de revisión centralizada: H. Virgen del Rocío.

El 14 de Noviembre de 2013 se realizó en el HSJD la III Reunión de Investigadores para comentar los puntos más relevantes del estudio así como los problemas que se están encontrando los centros para el reclutamiento de pacientes y la exposición de dudas. Se ha recibido solicitud de aprobación a la prórroga de la Beca solicitada al Ministerio para poder finalizar la inclusión de 43 pacientes a lo largo del 2014.

CENTRO	IP	Nº Centro	Fecha Apertura	Pacientes Reclutados
H. Sant Joan de Deu	Dr. Jaume Mora	01	30/03/2010	18
H. Clínic	Dr. Joan Aurel	02	28/04/2010	0
H. Sant Pau	Dr. Antonio López Pousa	03	23/04/2010	9
H. Vall Hebrón	Dra. Claudia Valverde	04	28/10/2010	2
ICO Hospitalet	Dr. Xavier García del Muro	05	29/02/2012	1
H. Universitario Canarias	Dra. Fina Cruz	06	03/05/2011	1
H. Son Espases	Dr. Javier Martín	07	05/05/2011	2
H. Miguel Servet	Dr. Javier Martínez Trufero	08	16/05/2011	1
H. Ramón y Cajal	Dra. M ^a Ángeles Vaz	10	02/07/2012	0
TOTAL				34



Falta reclutar 9 pacientes (8 de riesgo estándar y 1 de alto riesgo) para finalizar el reclutamiento previsto de 43 pacientes en total (22 de riesgo estándar y 21 de alto riesgo).

Resultados del año 2013:

1. Memorial Pablo Ugarte Workshop en investigación de Sarcoma de Ewing. 7 de Marzo de 2013. Primera reunión internacional en sarcoma de Ewing celebrada en España con éxito de participación e interacción de los ponentes. Resultado de la interacción son los proyectos generados en colaboración de nuestro grupo con el grupo de Beth Lawlor en Michigan, del grupo del Dr. Oscar Martínez con la Dra. Paloma Hoban Giangrande de Iowa.
2. Proyecto ganador de la convocatoria 2013 de la Fundación Científica de la AECC, Grupos cooperativos estables: validación y traslación clínica de nuevas dianas terapéuticas a partir de genómica integrativa y análisis epigenómico del sarcoma de Ewing". Coordinador Dr. Enrique de Alava. Grupos Investigadores: Dr. Jaume Mora del HSJD y Dr. Oscar Martínez del Idibell. Período 2013-2017.

Objetivos específicos para el año 2014:

1. Finalizar el reclutamiento del ensayo clínico GEIS 21
2. Comprobar la relevancia oncogénica (no asociada a EWS-FLI1) de los genes de los complejos Polycomb Repressor Complex (PRC) 1 y 2. Objetivos del programa conjunto de investigación cooperativa
3. Continuar con la optimización preclínica de fármacos que puedan inhibir las vías identificadas como relevantes en la biología del sarcoma de Ewing.
4. Diseño del estudio de Fase II para pacientes con recaída de sarcoma de Ewing con nab-paclitaxel + gemcitabina.