



PROYECTO “NUEVAS ESTRATEGIAS TERAPÉUTICAS PARA LOS PNET”

Los tumores supratentoriales primitivos neuroectodérmicos embrionarios (sPNET; supratentorial Primitive Neuroectodermal Embryonic Tumors; grado IV de la OMS) representan un tipo de tumores embrionarios raros y muy agresivos del cerebro, la glándula pineal, y la región supraselar (Reddy, Janss, et al, 2000) Histológicamente estas células no diferenciadas no se distinguen de otros tumores malignos de la infancia, como el meduloblastoma, y tradicionalmente se han tratado con regímenes quimioterapéuticos similares (Reddy, Janss, et al, 2000). El grupo del Dr. Packer ya apuntaba en un trabajo publicado en el 2000 (Reddy, Janss, et al, 2000) que a pesar de ser tratados con el mismo protocolo los resultados para los niños con sPNET eran notablemente peores que para aquellos con meduloblastoma. Estos datos sugerían ya que estos tumores a pesar de ser tratados de igual manera tenían diferencias biológicas significativas. Posteriormente se han descrito algunas de las aberraciones citogenéticas más comunes que incluyen las ganancias en los cromosomas 1q, 7 y 8q y pérdidas en los cromosomas 9, 13q y 19q (Inda, Perot, et al, 2005; Pfister, Remke, et al, 2007). La delección del gen supresor tumoral CDKN2A en 9p21.3 ha sido descrita en múltiples estudios. Tanto la pérdida del cromosoma 13 q (donde se aloja el gen RB) y la delección del gen CDKN2a son de especial interés para la estrategia que proponemos en este trabajo.

Está claro que los abordajes terapéuticos para estos tumores no son suficientes y que los supervivientes de largo tiempo sufren severas secuelas debido a los efectos del tratamiento. Es, por tanto, obvio que el manejo de estas patologías es subóptimo, y que se requieren nuevas terapias que sean más efectivas y cuyos efectos secundarios sean tolerables.

Los adenovirus oncolíticos diseñados para replicarse y destruir a las células tumorales representan una estrategia terapéutica muy prometedora que podría mejorar el pronóstico de los pacientes con estos tumores (Alemany, 2007). El Delta-24-RGD, es un adenovirus replicativo que ha demostrado eficacia en modelos animales (Fueyo, Alemany, et al, 2003), además actualmente acaba de terminar un ensayo clínico fase I/II para gliomas recurrentes en adultos (UT MD Anderson, Houston, TX) y otro de similar características que estamos llevando



a cabo en la Clínica Universidad de Navarra con resultados muy prometedores. **Este ensayo ha demostrado que el tratamiento es seguro y que las toxicidades asociadas han sido leves. En cuanto a eficacia ya empezamos a tener datos que un subgrupo de pacientes se está beneficiando del tratamiento.**

Este adenovirus se caracteriza por una delección de ocho aminoácidos (24 pares de bases) en la proteína E1A, responsable de la unión a la proteína RB. Esta delección le confiere selectividad tumoral y hace que la replicación del virus esté condicionada a la existencia de una vía del RB desregulada, común a todos los tumores y presente en los tumores cerebrales pediátricos (Marino, 2005). En el caso de los sPNETs también se da la circunstancia, como hemos mencionado anteriormente, que el camino de señalización del RB está desregulado. El virus demostró tener un alto poder oncolítico, aunque la capacidad citotóxica no era igual en todas las líneas celulares debido a que no era capaz de infectar con la misma eficiencia los diferentes tipos celulares. La habilidad de los adenovirus para infectar las células tumorales está mediada por la unión al *coxsackie-adenovirus receptor* (CAR). Las células de tumores cerebrales en general expresan pocos niveles de CAR y como resultado son difíciles de infectar. De este modo, el siguiente paso fue modificar el virus para que infectara a través de diferentes receptores. Se insertó un motivo RGD en el *H1 loop* de la fibra para que la infección del virus fuera mediada por las integrinas. Los datos demostraron que el nuevo virus (Delta-24-RGD) tenía un mayor efecto oncolítico que el Delta-24 (Fueyo, et al, 2003). A pesar de que los virus con la modificación RGD demostraron que eran más infectivos y con efecto antitumoral más alto también se encontraron niveles excesivos de la proteína E1A en células normales indicando que podrían tener algo de toxicidad. Una de las estrategias que se han propuesto para controlar los niveles de expresión de la E1A en las células normales es la inserción de promotores dependientes del ciclo celular como el del E2F1.

Racional: En los últimos años ha habido muy pocos avances significativos en el tratamiento de tumores cerebrales pediátricos y en los sPNET en particular, sobre todo en aquellos con peor pronóstico. Dificultades en la identificación de nuevas estrategias terapéuticas incluyen la heterogeneidad de estos tumores la frecuencia de los mismos y sobre todo la falta de estudios preclínicos y clínicos diseñados especialmente para ellos. Todos estos problemas han dado



lugar a una gran escasez de tratamientos efectivos para estos niños. ***Está claro que el desarrollo de nuevas terapias para tumores del SNC es modesto y los resultados terapéuticos muy pobres. Por lo tanto la implementación de adenovirus oncolíticos podría constituir un cambio de paradigma en el tratamiento de estos tumores.***

HIPÓTESIS

El manejo terapéutico de los tumores cerebrales infantiles de alto grado y específicamente los sPNET es subóptimo y se requieren nuevas estrategias terapéuticas que sean más efectivas pero que también tengan unos efectos secundarios asumibles. Los tratamientos actuales dejan unas secuelas cognitivas y hormonales devastadoras para estos niños que las hacen inaceptables sobre todo para los grupos de los menores de 2 años. El objetivo a largo plazo de nuestro laboratorio es mejorar la supervivencia y la calidad de vida de niños con tumores cerebrales de alto grado y específicamente con sPNET. El objetivo concreto de este proyecto es por un lado generar herramientas que permitan el estudio de estos tumores tanto a nivel genómico como biológico y de aplicaciones terapéuticas diseñadas específicamente para ellos. Por otro lado es evaluar la eficacia antitumoral del virus Delta-24-RGD. Nuestra racional se basa en que nuestro grupo ya ha demostrado la seguridad de este agente en la clínica y en algunos pacientes beneficio clínico. Esperamos poder generar evidencia preclínicas sólidas que nos permitan realizar un ensayo clínico en sPNETs.

Hipotetizamos que el Delta-24-RGD puede constituir una alternativa al abordaje terapéutico de los sPNET. Esta terapia nos permitirá reducir la dosis de quimioterapia y/o evitar la radioterapia por lo tanto resultando en una mejora significativa del pronóstico y calidad de vida de los niños con sPNET.



Objetivos específicos:

Contrastaremos la hipótesis de central de este proyecto e intentaremos alcanzar el objetivo final de esta aplicación mediante los siguientes objetivos:

Objetivo 1. Generar líneas celulares a partir de tejidos obtenidos de pacientes que presenten sPNET y desarrollar modelos murinos relevantes que permitan el estudio de la enfermedad. Existen muy pocas líneas celulares y modelos murinos relevantes que permitan estudiar este tipo de tumores. Por ello un objetivo muy importante es generar las herramientas necesarias que nos permitan llevar a cabo tanto estudios de la biología del tumor como estudios de búsqueda de nuevas terapias.

Objetivo 2. Evaluar el efecto antitumoral como agente único del Delta-24-RGD in vitro e in vivo. Hipotetizamos que el Delta-24-RGD administrado localmente en el tumor demostrará tener un efecto antitumoral significativo en los sPNET ya que presentan aberraciones en la ruta del RB. Para responder a esta pregunta realizaremos estudios in vivo e in vitro utilizando líneas establecidas comerciales y las establecidas en el objetivo 1.

Bibliografía

Alemaný, R. (2007). Cancer selective adenoviruses. *Mol. Aspects Med.* 1, 42-58.

Fueyo, J., Alemaný, R., Gomez-Manzano, C., Fuller, G.N., Khan, A., Conrad, C.A., Liu, T.J., Jiang, H., Lemoine, M.G., Suzuki, K. *et al.* (2003). Preclinical characterization of the antiangioma activity of a tropism-enhanced adenovirus targeted to the retinoblastoma pathway. *J. Natl. Cancer Inst.* 9, 652-660.

Inda, M.M., Perot, C., Guillaud-Bataille, M., Danglot, G., Rey, J.A., Bello, M.J., Fan, X., Eberhart, C., Zazpe, I., Portillo, E. *et al.* (2005). Genetic heterogeneity in supratentorial and infratentorial primitive neuroectodermal tumours of the central nervous system. *Histopathology* 6, 631-637.

Pfister, S., Remke, M., Toedt, G., Werft, W., Benner, A., Mendorzyk, F., Wittmann, A., Devens, F., von Hoff, K., Rutkowski, S. *et al.* (2007). Supratentorial primitive neuroectodermal tumors of



the central nervous system frequently harbor deletions of the CDKN2A locus and other genomic aberrations distinct from medulloblastomas. *Genes Chromosomes Cancer* 9, 839-851.

Reddy, A.T., Janss, A.J., Phillips, P.C., Weiss, H.L., and Packer, R.J. (2000). Outcome for children with supratentorial primitive neuroectodermal tumors treated with surgery, radiation, and chemotherapy. *Cancer* 9, 2189-2193.