



PROYECTO DE INVESTIGACIÓN CLÍNICA

PRE-PHENIX

DETERMINACIÓN DE ENFERMEDAD MÍNIMA RESIDUAL POR FIRMA DE ctDNA EN PLASMA DE PACIENTES CON CÁNCER DE MAMA AVANZADO HER2-POSITIVO Y EN RESPUESTA CLÍNICO – RADIOLÓGICA TRAS TRATAMIENTO EN PRIMERA LÍNEA DE TRASTUZUMAB-PERTUZUMAB POR UN MÍNIMO DE 4 AÑOS

Equipo de Investigación:

- **Dra. Sara Marín (IP) (Hospital Arnau de Vilanova)**
- Antonio Llombart Cussac (Hospital Arnau de Vilanova)
- Leonor Fernández-Murga (Hospital Arnau de Vilanova)
- Jorge Iranzo (Hospital Arnau de Vilanova)
- José Vidal (Hospital Arnau de Vilanova)
- María Portero (Hospital Arnau de Vilanova)
- Ana Santaballa (Hospital La Fe)
- Ángel Guerrero (FIVO)
- Javier Cortés (IBCC)
- Juan Miguel Cejalvo (Hospital Universitario Clínico, Valencia)
- Eduardo Martínez de Dueña (Hospital Provincial de Castellón)

RESUMEN

El cáncer de mama con sobreexpresión de la proteína HER2 (HER2+) ha evolucionado en las últimas dos décadas de la mano de terapias dirigidas frente a este receptor de membrana. La progresiva introducción de anticuerpos monoclonales frente a HER2 como trastuzumab (T) y pertuzumab (P), de inhibidores de tirosina kinasas como el tucatinib, o de fármacos inmunoconjugados como el trastuzumab-emtansine (T-DM1), y más recientemente de Trastuzumab-deruxtecan, han permitido incrementar de forma extraordinaria la supervivencia global de las pacientes con enfermedad metastática y las tasas de supervivencia en enfermedad precoz. Una paciente con un diagnóstico de enfermedad metastática HER2+ en 2022 tiene unas expectativas de supervivencia superior a los 80 meses frente a los 18 – 24 meses que suponía este diagnóstico en 1995.

Este cambio en la evolución de las terapias frente al cáncer de mama HER2+ también ha propiciado un fenómeno desconocido hasta la fecha en tumores sólidos avanzados. Se ha probado que el tratamiento con trastuzumab mejora en un 50% la supervivencia libre de enfermedad y en un 33%

la supervivencia promedio. Sin embargo, la resistencia terapéutica al trastuzumab ha llegado a ser un problema clínico importante donde el 15% de las pacientes recaen después de la terapia ya que desarrollan diferentes mecanismos de resistencia al fármaco. Esto generó la necesidad de desarrollar nuevos anticuerpos monoclonales dirigidos contra HER2, como el pertuzumab, para establecer terapias combinadas que evitasen estos fenómenos de resistencia.

Un ejemplo de terapia combinada es el “gold-standard” de tratamiento en primera línea de enfermedad HER2+ metastática que incluye trastuzumab y pertuzumab (TP); asociándose un taxano en la inducción inicial. Este esquema, conocido como “CLEOPATRA” en referencia al ensayo clínico que confirmó su eficacia, demostró que la combinación TP con docetaxel conseguía una tasa de supervivencia global a 8 años del 37% y un control medio de la enfermedad de 18 – 20 meses. Sin embargo, el seguimiento tardío de este estudio revela que hasta un 20% de las pacientes se mantienen libres de progresión a los entre los 6-8 años desde la inclusión en el ensayo. Estos resultados se han confirmado en otros estudios como el PERUSE, un ensayo clínico de consolidación y validación del CLEOPATRA, donde alrededor del 30% de los pacientes permanecieron libres de progresión a los 4 años de tratamiento. Aunque la recomendación para estas pacientes es proseguir con la combinación de TP hasta progresión o toxicidad, se ha visto que en algunos casos esporádicos donde se ha interrumpido el tratamiento por motivos diferentes a una progresión, no identifican progresiones de la enfermedad en los años posteriores.

De esta forma, la posibilidad de interrumpir el tratamiento con TP tras un intervalo prolongado de control de enfermedad se plantea como una posibilidad razonable. En otras patologías tumorales como son el mieloma y leucemias agudas, ya se viene estudiando desde hace años la posibilidad de identificar la presencia o ausencia de enfermedad mínima residual (MRD) por técnicas de biología molecular con aplicación clínica.

La identificación del ADN tumoral circulante (ctDNA) en sangre, clásicamente conocido como biopsia líquida, se basa en la detección del ADN circulante que liberan las células tumorales al torrente sanguíneo y que puede ser aislado directamente a partir de una muestra de plasma. En el contexto de la enfermedad tumoral, el uso de ctDNA es particularmente útil para pacientes con tumores en los que es difícil realizar una biopsia, aquellos con contraindicaciones para procedimientos invasivos o donde se han agotado las muestras de tejido tumoral ya que únicamente con una muestra de sangre podría detectarse tanto la presencia de ADN tumoral como mutaciones específicas tumorales, variantes estructurales, alteraciones de número de copias y características epigenéticas. Además, recientemente su aplicación se ha ampliado para incluir la evaluación de la respuesta temprana a la terapia (respuesta molecular) y en los escenarios de etapa temprana, detección de enfermedad residual mínima y recurrencia en enfermedad temprana.

GuardantRevealTM es una prueba revolucionaria de biopsia líquida que detecta ctDNA para la evaluación de la MRD en cáncer colorrectal (CCR), mama y pulmón en etapas precoces. Además de la detección de MRD, GuardantRevealTM también permite monitorizar la recurrencia en pacientes previamente diagnosticados y ha sido aprobada en EE. UU. para pacientes con CCR en estadios II III en los tres meses posteriores a la cirugía, permitiendo guiar la decisión sobre la necesidad o no de quimioterapia adyuvante. Sin embargo, recientemente la empresa Guardant Health ha lanzado una nueva tecnología, GuardanINFINITYTM, que mejora la proporcionada por GuardantRevealTM ya que ofrece un panel más amplio de genes (+800), metilación (15MB), además de aumentar la

especificidad en un 97% (frente a un 5% del test Reveal) a la vez que mantiene la sensibilidad del 91%.

FINALIDAD DEL PROYECTO

Mediante este estudio se pretende explorar la prevalencia de enfermedad mínima residual (MRD) mediante el test GuardantINFINITY™ en pacientes con cáncer de mama avanzado (CMA) en curso de tratamiento en primera línea con un esquema trastuzumab + pertuzumab (TP) por un mínimo de 4 años y sin criterios de progresión clínica radiológica.

Objetivo principal:

- Evaluar la prevalencia de enfermedad mínima residual (MRD) por ctDNA en pacientes con CMA HER2+ y en respuesta clínica radiológica por un mínimo de 4 años

Objetivos secundarios

- Correlacionar la positividad o negatividad del test con parámetros clínicos y biológicos de las pacientes.
- Evaluar la sensibilidad del test (contrastar el resultado de dos tomas de muestras diferentes)

CRITERIOS DE INCLUSIÓN:

- Pacientes >18 años
- Diagnóstico de Cáncer de Mama estadio IV y fenotipo HER2-positivo (IHC 3+ o FISH-positivo)
- En curso de mantenimiento con trastuzumab o trastuzumab – pertuzumab (intravenoso (IV) o subcutáneo (SC)) por un mínimo de 70 dosis (48 meses) en el contexto de una primera línea de tratamiento para enfermedad avanzada tras esquemas “CLEOPATRA” o similar (inducción requerida con trastuzumab y pertuzumab). Las pacientes pueden estar recibiendo terapia hormonal y/o terapia de remodelación ósea concomitante.
- Son incluíbles pacientes con estadio NED tras cirugía, ablación o radioterapia
- Estudio radiológico de la enfermedad metastática donde no se muestre evidencia de la progresión de la enfermedad en los últimos 12 meses (TAC o PET/TAC) así como estudio mamográfico (si procede)
- Ausencia de otro diagnóstico tumoral en los últimos 5 años
- Sin sospecha de progresión clínica, radiológica o biológica en el momento de la inclusión
- Consentimiento informado por parte de la paciente

CRITERIOS DE EXCLUSIÓN:

- Pacientes con ECOG 2 o superior
- Esperanza de vida inferior a 3 meses

MATERIALES Y MÉTODOS

Se trata de un estudio transversal experimental en el que se incluirán unas 43 pacientes de 5 hospitales diferentes de la Comunidad Valenciana, Madrid y Cataluña. A cada paciente se le realizará un análisis bioquímico básico inicial en cada hospital además de solicitarles la firma del consentimiento informado para la obtención de las muestras de sangre.

Para testar la prevalencia de enfermedad mínima residual (MRD) en pacientes HER2+ de cáncer de mama metastático se empleará la prueba GuardantINFINITY™ de la empresa Guardant Health.

Una limitación inherente a las técnicas de análisis de ctDNA es la proporción de ADN libre que se deriva de las células tumorales en el torrente sanguíneo. Esta proporción, o fracción tumoral circulante (ctF), es estimada por mutaciones somáticas que están muy asociadas con la progresión y el pronóstico del tumor y que son normalmente muy bajas en tumores pequeños y localizados pero que aumentan cuando el tumor crece y metastatiza. La firma epigenómica GuardantReveal™ ha demostrado medir con precisión la ctF utilizando análisis ortogonales para mutaciones somáticas y permite la estimación de ctF incluso en casos sin mutaciones específicas detectables. En la prueba mejorada del GuardantINFINITY™, perfiles genómicos y epigenómicos son combinados para crear firmas moleculares distintas. En esta prueba, la integración de firmas de metilación específicas de tumor con un perfil genómico ampliado consigue capturar las complejidades ocultas de cada muestra tumoral de forma que se consigue obtener información adicional sobre la recurrencia, la respuesta o la progresión del tumor.

Por otro lado, desde el Hospital Arnau de Vilanova se realizarán análisis de Células Tumorales Circulantes (CTC) y de biomarcadores tumorales (Ca 15-3) para la confirmación de los resultados de enfermedad tumoral residual que se obtendrán con el test de Guardant. Este análisis se realizará únicamente en las muestras extraídas en la primera extracción de sangre a las pacientes.

Para evaluar la sensibilidad del test GuardantINFINITY™ a cada paciente se le extraerán 2 muestras de sangre en 2 ocasiones diferentes, en un intervalo de 3 a 9 semanas.

- Extracción basal: test de Guardant para el análisis de ctDNA; análisis las CTC y Ca 15-3 como marcadores tumorales
- Segundo punto de extracción (entre 3-9 semanas desde la extracción basal): test de Guardant para el análisis de ctDNA

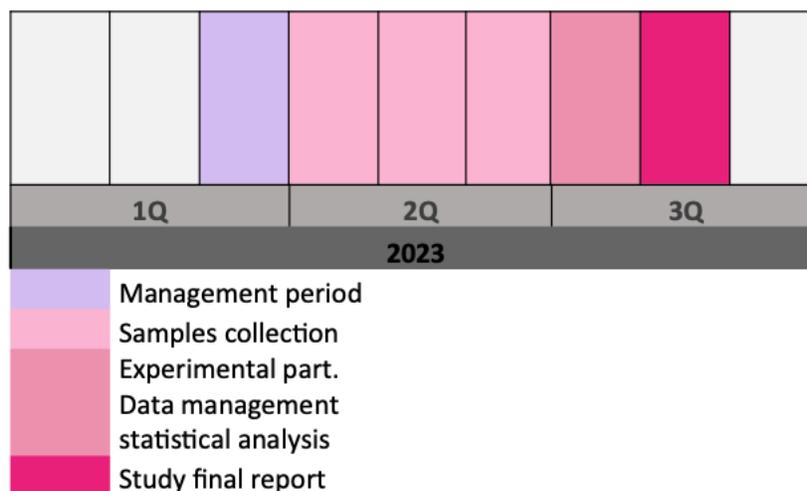
Nº muestras	Extracción basal	Segundo punto extracción
GuardantINFINITY™	43	43
Análisis Hospital Arnau Vilanova	43	-
Biobanco	43	43

Todas las muestras destinadas al análisis de ctDNA con la prueba GuardantINFINITY™ serán recolectadas en el kit de recogida facilitado por Guardant Health y serán enviadas en el mismo momento de la extracción a sus instalaciones en Redwood City, California. El resto de muestras serán almacenadas en el biobanco del Hospital Arnau de Vilanova una vez finalizado el estudio.

Por otro lado, se recogerá información de la historia clínica de las pacientes incluidas características clínicas y biológicas del tumor y terapias previas recibidas. Además, se solicitará información sobre el tejido tumoral de cada paciente y sobre los bloques de anatomía patológica disponibles. Toda la información será anonimizada.

Al ser este un estudio exploratorio, independientemente del resultado del test, la paciente no verá modificado su tratamiento actual.

CRONOGRAMA



PRESUPUESTO

PRESUPUESTO	
Protocol design and Patient Information Sheet	12.096 €
Clinical Operations	
- Site Selection	
- Regulatory set-up	
- Project Management	25.473 €
- Medical Management	
- Biosamples management	
- eCRF design and DB set up	
Data Management	15.711 €
ECRF design and DB set up	7.006 €
Statistics	22.277 €
CSR & Publications	7.541 €
Direct Costs	90.104 €
Overheads (20%)	18.021 €
Total	108.125 €

BIBLIOGRAFÍA

1. Miles D, Ciruelos E, Schneeweiss A, et al. Final results from the PERUSE study of firstline pertuzumab plus trastuzumab plus a taxane for HER2-positive locally recurrent or metastatic breast cancer, with a multivariable approach to guide prognostication. *Ann Oncol.* 2021;32:1245-1255. doi: 10.1016/j.annonc.2021.06.024. Epub 2021 Jul 2.
2. Goutsouliak, K. et al. Towards personalized treatment for early stage HER2-positive breast cancer. *Nat Rev Clin Oncol* 17, 233–250 (2020) doi: 10.1038/s41571-019-0299-9
3. Dawood S, Broglio K, Gonzalez-Angulo AM, Buzdar AU, Hortobagyi GN, Giordano SH. Trends in survival over the past two decades among white and black patients with newly diagnosed stage IV breast cancer. *J Clin Oncol.* 2008;26(30):4891-4898. doi:10.1200/JCO.2007.14.1168
4. Lord, SJ et al. De novo and recurrent metastatic breast cancer – A systematic review of population-level changes in survival since 1995. *eClinicalMedicine*, Volume 44, 101282. doi: 10.1016/j.eclinm.2022.101282
5. Swain SM, Miles D, Kim SB, et al. Pertuzumab, trastuzumab, and docetaxel for HER2-positive metastatic breast cancer (CLEOPATRA): end-of-study results from a doubleblind, randomised, placebo-controlled, phase 3 study. *Lancet Oncol.* 2020;21:519-530. doi: 10.1016/S1470-2045(19)30863-0. Epub 2020 Mar 12.
6. Hopkins AM, Rowland A, McKinnon RA, Sorich MJ. Predictors of Long-Term Disease Control and Survival for HER2-Positive Advanced Breast Cancer Patients Treated With Pertuzumab, Trastuzumab, and Docetaxel. *Front Oncol.* 2019;9:789. doi: 10.3389/fonc.2019.00789.

7. Parikh AR; Van Seventer EE; Siravegna G, et al. Clinical Cancer Research: Minimal Residual Disease Detection using a Plasma-Only Circulating Tumor DNA Assay in Colorectal Cancer Patients. *Clin Cancer Res* (2021) 27 (20): 5586–5594. [hWps://doi.org/ 10.1158/1078-0432.CCR-21-0410](https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-21-0410)
8. Vidal J, Casadevall D, Bellosillo B, et al. Clinical Cancer Research: Clinical impact of presurgery circulating tumor DNA after total neoadjuvant treatment in locally advanced rectal cancer: a biomarker study from the GEMCAD1402 Trial. *Clin Cancer Res* (2021) 27 (10): 2890–2898. [hWps://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-20-4769](https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-20-4769)
9. Schwarzenbach H, Hoon DS, Pantel K. Cell-free nucleic acids as biomarkers in cancer patients. *Nat Rev Cancer*. 2011 Jun;11(6):426-37. doi: 10.1038/nrc3066. Epub 2011 May 12. PMID: 21562580.