

PROYECTO:

**ESTUDIO DE LA BIOLOGÍA DE LOS GLIOMAS DE BAJO GRADO EN
PACIENTES EN EDAD PEDIÁTRICA CON NEUROFIBROMATOSIS TIPO 1**

Investigador principal

Alvaro Lassaletta Atienza

Servicio de Oncología Pediátrica

Hospital Infantil Universitario Niño Jesús

Madrid, España

Investigadores colaboradores

Por determinar

ANTECEDENTES Y JUSTIFICACIÓN

La neurofibromatosis 1 (NF1), causada por una mutación germinal heterocigótica en el gen NF1 localizado en el brazo largo del cromosoma 17, se asocia a distintos tipos de cáncer. Los tumores más frecuentes localizados en el sistema nervioso central en estos pacientes son los gliomas de bajo grado (LGG), la mayoría del subtipo histológico astrocitoma pilocítico. Los LGG comprenden la mayoría de tumores intracraneales en los pacientes pediátricos con NF1 (1,2,3). Los LGG en niños con NF1 pueden considerarse un subgrupo específico dentro de los LGG en pacientes pediátricos y precisan de una serie de consideraciones especiales a la hora de programar el tratamiento y el diagnóstico. Un paciente con NF-1 tiene una probabilidad en torno al 20% de desarrollar un LGG (4,5,6). Debido a las características radiológicas típicas de los LGG en pacientes con NF1, estos pacientes suelen diagnosticarse exclusivamente con pruebas de imagen y muchas veces no se realiza una biopsia o resección de la tumoración (7). Estos diagnósticos exclusivamente radiológicos a veces derivan en los siguientes problemas: 1) el aumento de pruebas de screening que identifican “gliomas” en pacientes completamente asintomáticos en base a los hallazgos de RM (muchos de estos pacientes nunca desarrollarán lesiones sintomáticas); 2) la ausencia de crecimiento con el tiempo de muchos de estos “gliomas” radiológicos que se traduciría en la duda de si estos “gliomas” eran verdaderas neoplasias; 3) la dificultad en poder diferenciar verdaderos gliomas con tejido hamartomatoso o displásico típico de la NF1; y 4) la falta de tejido tumoral que pueda ser utilizado para estudios biológicos.

Desde hace décadas conocemos que la mayoría de LGG asociados a NF1 se localizan en las vías ópticas, afectando a uno o a los dos nervios ópticos, al quiasma óptico o a otras estructuras diencefálicas (5,7). Los gliomas del nervio óptico, normalmente se diagnostican durante los 3-4 primeros años de vida. No está claro si estas lesiones son de origen congénito o se desarrollan tras el nacimiento. Los gliomas del nervio óptico no son los únicos LGG que se desarrollan en niños o adultos con NF1. Otras estructuras de la línea media, incluyendo el tronco cerebral, también pueden presentar LGG. En los pacientes con NF1 que desarrollan LGG del tronco cerebral o del cuerpo

calloso, el diagnóstico suele ser más tardío en la infancia tardía o en la adolescencia (8). Similarmente a los gliomas de nervio óptico, la historia natural de los gliomas localizados fuera de las vías ópticas es errática, con algunos tumores que crecen durante periodos cortos de tiempo y luego regresan espontáneamente y otros que presentan crecimiento con importante sintomatología (especialmente los tumores que afectan al tronco cerebral). El mecanismo que está detrás de estos periodos de crecimiento-regresión espontánea en los LGG en los pacientes con NF1 es todavía desconocido. El descubrimiento de por qué estos tumores pueden presentar regresión espontánea sería de máxima importancia para el tratamiento de los mismos. La mayor morbilidad en los niños con NF1 y LGG es la pérdida de visión (9). Sin embargo, el mecanismo de la pérdida de visión en estos pacientes no está del todo definido. Clínicamente, pacientes con pequeñas lesiones pueden perder la totalidad de la visión, mientras que otros con lesiones de gran tamaño mantienen la agudeza visual.

Muchos de los pacientes con NF1 y LGG no precisan de tratamiento ya sea porque están asintomáticos o porque tengan estabilidad en sus síntomas clínicos. Incluso lesiones que progresan lentamente desde el punto de vista radiológico a veces no precisan tratamiento ya que después de cierto tiempo, estas lesiones pueden estabilizarse e incluso regresar espontáneamente (10,11,12). En aquellos pacientes que precisen tratamiento, este a veces se administra durante un tiempo limitado. Los gliomas de nervio óptico, normalmente aumentan de tamaño hasta los 5 ó 6 años de edad y posteriormente se frena su crecimiento por circunstancias todavía desconocidas. Debido a la localización de estos gliomas en las vías ópticas, la cirugía no es una opción terapéutica y la mayoría de las veces no se requiere para el diagnóstico. Debido a los riesgos de complicaciones vasculares y al riesgo de desarrollar transformación maligna e incluso segundos tumores, la radioterapia no se suele utilizar en el tratamiento de estos tumores, así que la mayoría de los pacientes que requieren tratamiento son tratados con quimioterapia. Existen muchos regímenes utilizados en el tratamiento de los LGG en pacientes pediátricos. En niños con NF-1, tanto la combinación de vincristina + carboplatino y la monoterapia con vinblastina han demostrado que

en los pacientes con LGG y NF1, los resultados son mejores que en los pacientes con LGG que no tienen NF1. Con supervivencias superando el 95% a largo plazo, la supervivencia libre de progresión se ha demostrado mayor en los pacientes con NF1 (13, 14, 15, 16). En un estudio de la Sociedad Internacional de Oncología Pediátrica (SIOP) de 108 pacientes pediátricos con NF1 y LGG, 43 fueron observados sin tratamiento y 55 recibieron quimioterapia (17). La supervivencia global a los 12 años fue del 96% y la supervivencia libre de progresión a los 5 años fue del 73% (significativamente mayor que en niños sin NF1). Este estudio demostró también que la localización fuera de las vías ópticas, disminuye algo la supervivencia. Resultados similares se encontraron en el estudio norteamericano del Children's Oncology Group (COG) (18) en 131 pacientes pediátricos con NF1 y LGG. La supervivencia global fue del 98%. La supervivencia libre de enfermedad a los 5 años fue de casi el 70% comparada con el 39% en los pacientes sin NF1. Además los pacientes con NF1 tuvieron una mejor respuesta radiológica que aquellos sin NF1. En este estudio, 3 pacientes con NF1 desarrollaron segundos tumores. Los tres habían recaído de sus gliomas y en los tres se utilizó temozolomida como tratamiento de segunda línea, subrayándose la posible implicación del tratamiento con alquilantes en estos segundos tumores y la advertencia de intentar evitarlos en pacientes con NF1. La vinblastina semanal en monoterapia también ha demostrado una buena eficacia en estos pacientes manteniendo una buena calidad de vida durante su administración (16). En 13 pacientes con NF1 y gliomas de las vías ópticas, la supervivencia global fue del 100% y la supervivencia libre de progresión a los 5 años fue del 85%. A pesar de estos resultados, el mayor problema aun no resuelto en los niños con NF1 y LGG es que un porcentaje no desdeñable presenta pérdida de agudeza visual a pesar de la estabilización del tumor en los estudios radiológicos (9).

La experiencia hasta ahora con la quimioterapia se debe tener en cuenta cuando incorporemos los nuevos agentes biológicos al arsenal terapéutico en estos pacientes. Dados los excelentes resultados de la quimioterapia en la supervivencia global y la supervivencia libre de progresión de estos pacientes, la valoración de la efectividad de los nuevos agentes biológicos debe focalizarse en la mejoría funcional de los pacientes (por ejemplo: la agudeza

visual). Aunque anecdótica, ha habido respuesta en la agudeza visual de algunos pacientes refractarios a quimioterapias convencionales con bevacizumab (19, 20, 21).

El conocimiento de la neurobiología de los gliomas relacionados con la NF1 es muy pequeño debido a: 1) el pequeño número de pacientes con LGG y NF1 en los que se realiza cirugía; 2) cuando se realiza cirugía, las biopsias que se toman son normalmente de un material muy escaso; y 3) el material congelado disponible para estudios es muy limitado (22). La mayoría del conocimiento actual se ha desarrollado a partir de modelos en ratones. Se ha descrito que la inactivación bialélica del gen NF1 está presente en los LGG asociados a NF1 y que esta inactivación se acompaña de una actividad en la vía de señalización RAS-MAPK. Además, ratones modificados genéticamente utilizando inactivación condicional bialélica del gen NF1 han desarrollado LGG similares a los de los pacientes con NF1. Mientras que en los LGG del subtipo astrocitoma pilocítico de pacientes sin NF1 se ha demostrado una hiperactividad de la señalización RAS, los modelos de ratón han sugerido que la vía mTOR puede ser de gran importancia en los tumores con NF1. Un estudio con rapamicina (inhibidor de mTOR) combinado con erlotinib (inhibidor de EGFR) demostró cierta actividad en gliomas de pacientes con NF1. Seis de nueve pacientes estabilizaron el crecimiento tumoral aunque sólo uno obtuvo una respuesta parcial (23). Comparando la experiencia en humanos con LGG sobre todo de localizaciones en la vía óptica, los modelos de ratón han demostrado que estos tumores sólo se activan en periodos de desarrollo determinados. Siguiendo esta idea, tres estudios recientes demuestran que tratamientos cortos profilácticos con inhibidores de MEK durante el periodo neonatal en los ratones, mejora los defectos gliales del cuerpo calloso y del cerebelo aportando beneficios a largo plazo de las funciones motoras. Es por ello que los inhibidores de MEK durante estas etapas del desarrollo podrían ser eficaces en controlar e incluso prevenir el desarrollo de LGG así como otras patologías asociadas a la NF1 en el sistema nervioso central. Los inhibidores de MEK se están investigando en pacientes pediátricos con LGG y NF1 y los resultados preliminares son muy prometedores ya que se han visto respuestas a estos tratamientos (24).

La experiencia hasta ahora sugiere que los pacientes con NF1 y LGG podrían ser candidatos al tratamiento con dianas moleculares, pero para ello, debemos conocer más sobre su biología y alteraciones moleculares.

OBJETIVO

- Conocer la biología de los gliomas de bajo grado en pacientes pediátricos con neurofibromatosis tipo 1 para poder así determinar las alteraciones moleculares más frecuentes y la posibilidad posterior de administrar tratamientos dirigidos molecularmente a estos pacientes

ESTRATEGIA

- Realizar una recogida retrospectiva tanto en hospitales nacionales como internacionales del máximo número de muestras de gliomas de bajo grado de pacientes pediátricos con Neurofibromatosis tipo 1 que hayan sido biopsiados.

- Las muestras se analizarán para las siguientes alteraciones moleculares: mutación BRAF V600E, fusión BRAF KIAA1549, mutaciones IDH, alteraciones en CDKN2A, mutaciones en H3.3K27, alteraciones en FGFR, alteraciones en NTRK2, reordenamientos en MYB y MYBL1, mutaciones KRAS así como otras alteraciones de la vía de señalización RAS-MAPK.

- Si existieran muestras congeladas y hubiera suficiente muestra, se realizaría secuenciación de última generación (NGS).

- Se recogerán datos clínicos de los pacientes en los que se obtenga muestra tumoral (anónimos) incluyendo subtipo histológico, edad al diagnóstico, síntomas clínicos, localización, causa de la biopsia, tratamiento recibido, respuesta al tratamiento, recaída, estado del paciente y seguimiento.

- El número estimado de muestras es difícil de determinar a priori, pero se espera sea aproximadamente de 50 casos. El número de muestras congeladas no esperamos que sea mayor de 5-8 muestras.

REFERENCIAS

1. Wallace MR, Marchuk DA, Andersen LB, et al. Type 1 neurofibromatosis gene: identification of a large transcript disrupted in three NF1 patients. *Science* 1990; 62:187-92
2. Viskochil D, Buchberg AM, Xu G, et al. Deletions and a translocation interrupt a cloned gene at the neurofibromatosis type 1 locus. *Cell* 1990;62:187-92
3. Evans DG, Howard E, Giblin C, et al. Birth incidence and prevalence of tumor-prone syndromes: estimates from a UK family genetic register service. *Am J Med Genet A* 2010;152A(2):327-32
4. Rodriguez FJ, Perry A, Gutmann DH, et al. Gliomas in neurofibromatosis type 1: a clinic pathologic study of 100 patients. *J Neuropathol Exp Neurol* 2008;67:240-9
5. Lewis RA, Gerson LP, Axelson KA, et al. von Recklinghausen neurofibromatosis. II Incidence of optic gliomata. *Ophthalmology* 1984;91:929-35
6. Duat...
7. Listernick R, Ferner RE, Liu GT, Gutmann DH. Optic pathway gliomas in neurofibromatosis 1: controversies and recommendations. *Ann Neurol* 2007;61:189-98
8. Fried I, Hawkins C, Scheinmann K, Tsangaris E, Hesselson L, Bartels U, et al. Favorable outcome with conservative treatment for children with low grade brainstem tumors. *Pediatric Blood & Cancer*, 2012;58(4):556-560.
9. Fisher MJ, Loguidice M, Gutmann DH, et al. Visual outcomes in children with neurofibromatosis type 1-associated optic pathway glioma following chemotherapy: a multicenter retrospective analysis. *Neuro Oncol* 2012;14:790-7
10. Packer RJ, Savino PJ, Bilanuik LR, et al: Chiasmatic gliomas of childhood: a reappraisal of natural history and effectiveness of cranial irradiation. *Childs Brain* 1983;10: 393-403.
11. Perilongo G, Moras P, Carollo C, et al., Spontaneous partial regression of low-grade glioma in children with neurofibromatosis-1:a real possibility. *J Child Neurol* 1999;14:352-6.
12. Schmandt S, Packer RJ, Vezina L, Jane J. Spontaneous regression of low-grade astrocytomas in childhood. *Pediatr Neurosurg* 100;32:132-6
13. Packer RJ, Ater J, Allen J, et al. Carboplatin and vincristine chemotherapy for children with newly diagnosed progressive low-grade gliomas. *J Neurosurg* 1997;86:747-54
14. Bouffet E, Jakacki R, Goldman S, et al. Phase II study of weekly vinblastine in recurrent or refractory pediatric low-grade glioma. *Journal of Clinical Oncology*, 2012;30(12):1358-1363.

15. Ater, J, Zhou T, Holmes E, et al. Treatment of progressive hypothalamic/optic pathway gliomas in children with neurofibromatosis type 1: a report from the Children's Oncology Group (COG). Proceedings of the Children's Tumor Foundation Conference, p28, 2011
16. Lassaletta JCO 2016
17. Gnekow AK, Falkenstein F, von Hornstein S, Zwiener I, Berkefeld S, Bison B, et al. Long-term follow-up of the multicenter, multidisciplinary treatment study HIT-LGG-1996 for low-grade glioma in children and adolescents of the German Speaking Society of Pediatric Oncology and Hematology. *Neuro Oncol.* 2012;14(10):1265-84. Epub 2012/09/04.
18. Ater, J, Zhou T, Holmes E, et al. Treatment of progressive hypothalamic/optic pathway gliomas in children with neurofibromatosis type 1: a report from the Children's Oncology Group (COG). Proceedings of the Children's Tumor Foundation Conference, p28, 2011
19. Gururangan S, Fangusaro J, Poussaint TY, McLendon RE, Onar-Thomas A, Wu S, et al. Efficacy of bevacizumab plus irinotecan in children with recurrent low-grade gliomas--a Pediatric Brain Tumor Consortium study. *Neuro-oncology.* 2014;16(2):310-7. Epub 2013/12/07.
20. Hwang EI, Jakacki RI, Fisher MJ, Kilburn LB, Horn M, Vezina G, et al. Long-term efficacy and toxicity of bevacizumab-based therapy in children with recurrent low-grade gliomas. *Pediatric blood & cancer.* 2013;60(5):776-82. Epub 2012/09/15.
21. Packer RJ, Jakacki R, Horn M, et al. Objective response of multiply recurrent low-grade gliomas to bevicizumab and irinotecan. *Ped Blood and Cancer* 2009;52:791-795.
22. Korf B, Widemann B, Acosta MT, and Packer RJ: Translational/Clinical Studies in Children and Adults with Neurofibromatosis Type 1, Neurofibromatosis Type 1: Molecular and Cellular Biology. Upadhyaya M, and Cooper DN (eds), Springer-Verlag, Berlin, Heidleberg, 2012; 625-658
23. Poulikakos PI, Zhang C, Bollag G, et al. RAF inhibitors transactivate RAF dimers and ERK signalling in cells with wild-type BRAF. *Nature* 2010;464(7287):427-430.
24. Banerjee A, Jakacki R, Onar-Thomas A, Wu S, Nicolaidis TP, Turner D, et al. A phase 1 study of AZD6244 in children with recurrent or refractory low-grade gliomas: A Pediatric Brain Tumor Consortium report. In: *Oncology JoC*, editor. ASCO; 2014; Chicago: Journal of Clinical Oncology; 2014. p. abstr 10065.

PRESUPUESTO PRELIMINAR

Descripción	Coste (Euros)	Total (Euros)
Costes de envío de las muestras:	a) Nacionales: 20 envíos parafina x 11 Euros: 5 envíos con hielo seco x 22 Euros: b) Europa: 15 envíos parafina x 45,37 Euros: 3 envíos con hielo seco x 56,37 Euros: c) USA: 7 envíos parafina x 52 Euros: 3 envíos con hielo seco x 63 Euros:	242 € 110 € 680,55 € 169,11 € 364 € 189 €
	Subtotal gastos envío	1754,66€
Presupuesto anatomía patológica:	- BRAF V600E IMH: 35 Euros x 50 muestras - BRAF KIAA1549: 100 Euros x 50 muestras - IDH1 IMH: 50 Euros x 20 muestras - EGFR1 IMH: 50 Euros x 20 muestras - CDKN2A IMH: 50 Euros x 30 muestras - KRAS (SANGER): 150 Euros x 30 muestras - H3.3K27 IMH: 50 Euros x 50 muestras - NTRK2 IMH: 50 Euros x 20 muestras - MYB IMH: 50 Euros x 20 muestras	1750 € 5000 € 1000 € 1000 € 1500 € 4500 € 2500 € 1000 € 1000 €
	Subtotal gastos anatomía patológica	19.250 €
Estudios de biología molecular: - Secuenciación de última generación (NGS)	NGS: 1200 Euros x 5 muestras	6000 €
	Subtotal gastos biología molecular	6000 €
Gastos de viaje para presentación en congresos	Europeo Americano	1000 € 2500 €
	Subtotal gastos congresos	3500 €
Gastos de publicación	Envío a revista internacional	300 €
	Subtotal gastos publicación	300 €
TOTAL:		30.804,7 €