

Cáncer

➤ **Artículo original:** Mammalian SWI/SNF chromatin remodeling complexes promote tyrosine kinase inhibitor resistance in EGFR-mutant lung cancer.
de Miguel F.J., Gentile C. et al. *Cancer Cell*. 2023.

Combatiendo la resistencia en el cáncer de pulmón

Fernando de Miguel

La complejidad biológica tan característica del cáncer hace que cada tumor pueda ser considerado casi como una enfermedad distinta y única. Por ello, en los últimos veinte años, han cobrado mucha relevancia la **medicina personalizada y las terapias dirigidas**, dos conceptos que necesariamente han de ir de la mano.

La medicina personalizada consiste precisamente en tratar cada tumor de manera única y distintiva, en lugar de usar tratamientos más genéricos. Para esto, es necesario conocer de la forma más precisa posible que alteraciones, mutaciones o desequilibrios sufren las células que conforman ese cáncer y que son las que le permiten crecer sin control alguno. De esta forma, podemos aplicar tratamientos dirigidos frente esas alteraciones concretas con el objetivo de limitar mucho su crecimiento, y en el mejor de los casos, inhibirlo por completo. Esto es lo que se conoce como terapias dirigidas¹.

En el cáncer de pulmón con mutaciones en el gen *EGFR*, las cuales permiten a las células crecer sin control, este tipo de terapias se llevan utilizando desde hace veinte años alargando la vida de los pacientes. Una de las terapias más recientes es el uso de la molécula pequeña conocida como *osimertinib*, aprobada desde 2018. Aunque este fármaco es muy efectivo durante cierto tiempo, acaba perdiendo eficacia debido a que los tumores encuentran vías alternativas y generan resistencia al bloqueo de *EGFR*. El problema reside en que cerca del 50% de los tumores se vuelven resistentes por mecanismos que desconocemos casi por completo². En nuestro estudio publicado en *Cancer Cell*, generamos modelos tumorales resistentes a osimertinib que nos llevan a descubrir uno de estos mecanismos y probamos terapias adicionales que ayudan a revertir la resistencia³.

En profundidad...

Para encontrar nuevos mecanismos de resistencia, recurrimos a modelos celulares de tumores de pulmón con la mutación en el gen *EGFR* y los sometemos al fármaco *osimertinib*. Tras la exposición continuada, las células terminan por desarrollar resistencia y proliferar libremente incluso cuando el fármaco está presente. De manera similar, generamos modelos animales resistentes conocidos como PDXs (*Patient-Derived Xenografts*). Estos modelos se consiguen mediante la inyección de células cancerosas de tumores de pacientes en ratones inmunosuprimidos, para evitar el rechazo inmunológico por tratarse de tejido de otra especie. Tras la formación de los tumores, los ratones son tratados con *osimertinib*. Inicialmente los tumores responden, pero al

igual que pasa en los seres humanos, terminan por desarrollar resistencia y vuelven a crecer.

Una vez establecidos los tumores resistentes, tenemos la posibilidad de extraer y secuenciar su **ADN** y **ARN**, y compararlo con los tumores originales de los que derivan y que si responden al tratamiento. El ADN es el material genético, nos dice si las células han adquirido alguna mutación que les permita escapar del efecto del fármaco. El ARN es la molécula intermedia que transmite la información contenida en el ADN para generar la proteína, que es la que finalmente realiza la acción en la célula. Secuenciar todo el ARN de una célula, lo que se conoce como *transcriptoma*, nos permite saber que genes aumentan o disminuyen su expresión y en que procesos celulares pueden estar involucrados..

Además, podemos emparejar esta información con la del acceso a la **cromatina**. El ADN dentro del núcleo de una célula tiene regiones sumamente comprimidas en lo que se conoce como heterocromatina para ocupar menos espacio e impedir la expresión de determinados genes cuando no son necesarios. Mediante la técnica de *ATAC-seq*, (*Assay for Transposase-Accessible Chromatin with sequencing*), podemos secuenciar aquellas regiones del ADN que son accesibles, están desempaquetadas, y por tanto son susceptibles de ser expresadas. Por contraposición podemos deducir aquellas que no son accesibles y no pueden ser expresadas. Estos procesos de acceso al ADN están controlados por mecanismos *epigenéticos* que remodelan la cromatina según que funciones celulares tengan que ser activadas o reprimidas.

Analizando toda esta información observamos que muchos genes sobre-expresados en células resistentes son regulados por un factor epigenético llamado *SMARCA4*. Este factor es parte clave de un complejo proteínico llamado mSWI/SNF que utiliza parte de la energía celular para remodelar la cromatina. Además, utilizando otra novedosa técnica de secuenciación llamada CUT&RUN (*Cleavage Under Targets and Release Using Nuclease*) comprobamos que *SMARCA4* estaba físicamente unido al ADN en las regiones que son accesibles y altamente expresadas en células resistentes. Estos resultados sugieren por tanto que el papel de *SMARCA4* es importante para la adquisición de resistencia a *osimertinib*.

Mediante experimentos de inhibición genética de *SMARCA4*, en los que solo neutralizamos la acción de este factor, observamos que tras inhibir *SMARCA4* y tratar las células resistentes con *osimertinib*, estas disminuyen considerablemente su crecimiento tanto en placas de cultivo, como en un modelo animal PDX (*Figura 1A*).

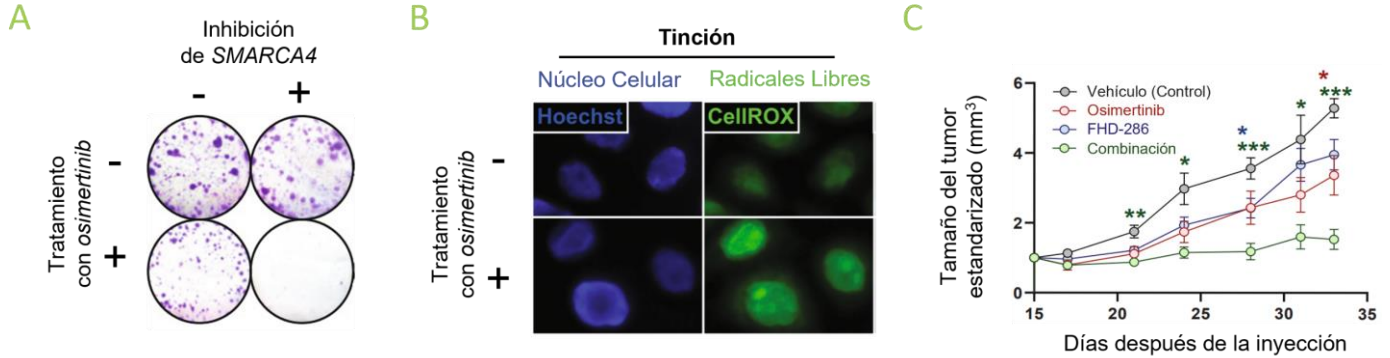


Figura 1. A. Colonias de células resistentes crecidas en placas de cultivos y teñidas con cristal violeta. Al inhibir SMARCA4 y tratar con osimertinib apenas quedan células. B. Tinción del núcleo y de radicales libres con fluorescencia de células con *EGFR* mutante. Tras el tratamiento hay un aumento de radicales libres. C. Curvas de crecimiento de los tumores PDX después de ser tratados con el disolvente del fármaco como control (Vehículo), Osimertinib, FHD-286 (inhibidor de SMARCA4) y la combinación de osimertinib y FHD-286. La combinación es el tratamiento más efectivo. Figuras modificadas de ©de Miguel F.J., Gentile C. et al. *Cancer Cell*. 2023³.

De esta manera demostramos la participación de *SMARCA4* en dos procesos celulares que resultan clave para la resistencia a *osimertinib*. Por un lado, muchos de los genes expuestos por *SMARCA4* participan en la **proliferación celular**, algo indispensable en las células tumorales que buscan la división continua. Por otro lado, observamos que uno de los efectos del fármaco *osimertinib* es la generación de **estrés oxidativo**. Esto consiste en la acumulación de unas moléculas llamadas radicales libres que pueden causar daños en las células y los tejidos (**Figura 1B**). En este caso, *SMARCA4* facilita la activación de un programa genético que neutraliza estos radicales, lo que permite a la célula tolerar el fármaco. Con estos experimentos vemos que bloqueando la acción de *SMARCA4*, podemos revertir la resistencia generada a *osimertinib* y limitar el crecimiento de las células tumorales resistentes.

Por este motivo, utilizamos una combinación de *osimertinib* y el inhibidor de *SMARCA4* **FHD-286**. El uso de estos dos fármacos redujo la expresión de los genes que permiten a las células seguir proliferando y escapar del estrés oxidativo; y por ende, disminuyó de manera considerable el crecimiento de los tumores resistentes tanto en placas de cultivo como en un modelo PDX (**Figura 1C**).

En conclusión...

Nuestro estudio tiene varios aspectos relevantes y una limitación que debe ser abordada antes de trasladar estos tratamientos a la práctica clínica. En primer lugar, nuestro trabajo es pionero en descubrir un **mecanismo de resistencia epigenético**, que no está causado por alteración directa del ADN, a *osimertinib*. Además, muchas de las vías moleculares que distintos tumores utilizan para crecer son las mismas, de modo que es probable que el mecanismo orquestado por *SMARCA4* se encuentre en otros tipos tumorales o en células resistentes a otras terapias. Por último, demostramos que la **combinación** adecuada de estos dos fármacos puede ser útil para tratar algunos tumores resistentes. Sin embargo, la limitación del estudio se manifiesta en la **selección de los pacientes** que pudieran beneficiarse de la combinación, ya que de momento desconocemos el criterio apropiado que permita pronosticar si un tumor responderá o no al tratamiento. No obstante, este trabajo abre una nueva vía de estudio que merece ser explorada, ya que apenas se han aprobado terapias para este tipo de tumores resistentes muy frecuentes en los últimos cinco años.

Referencias:

1. Terapias Dirigidas. American Cancer Society. <https://www.cancer.org/content/dam/CRC/PDF/Public/9452.00.pdf>
2. Zeng Y, et al. Resistance mechanisms to osimertinib and emerging therapeutic strategies in nonsmall cell lung cancer. *Curr Opin Oncol* **2022**, Jan 1;34(1):54-65.
3. de Miguel FJ, Gentile C, et al. Mammalian SWI/SNF chromatin remodeling complexes promote tyrosine kinase inhibitor resistance in EGFR-mutant lung cancer. *Cancer Cell* **2023**, Aug 14;41(8):1516-1534.e9. Figuras modificadas y utilizadas de acuerdo con las políticas editoriales de *Cell Press*.

Conflictos de interés

El autor de este artículo ha participado en el estudio descrito y es el primer autor del artículo original.

Sobre el autor

Fernando de Miguel es licenciado en Bioquímica y doctor en Biomedicina por la Universidad de Navarra y el CIMA. Trabajó como Investigador Postdoctoral en la Universidad de Yale, en donde efectuó este estudio. Actualmente es Investigador Senior en TYRA Biosciences, Inc. y miembro activo en diversos programas de ECUSA.

Contacto: ✉ fdemiquelsdp@gmail.com 🐦 [@fdemiquelsdp](https://twitter.com/fdemiquelsdp) 🌐 www.fernandodemiquel.com

ECUSA News&Views Editors-in-Chief:

Antonio Cembellín Prieto, B.S. Fernando de Miguel, Ph.D.