

Barcelona, Marzo 2022

Resumen de actividad. Anualidad 2021 - 2022 del proyecto:

Estudio de los mecanismos de quimioresistencia asociados a los neuroblastomas de alto riesgo. Búsqueda de nuevas opciones terapéuticas para los neuroblastoma en recaída/refractarios

A. Background/Antecedentes/Resumen del Proyecto inicial

El **Neuroblastoma** (NB) es el tumor sólido extracraneal más frecuente de la infancia. Clínicamente el NB se caracteriza por una marcada heterogeneidad genética y biológica que se manifiesta en una evolución clínica variable, mostrando en ocasiones una maduración espontánea (sin ningún tratamiento) y en otras, una progresión agresiva y resistente al tratamiento. Más del 50% de los pacientes debutan con enfermedad diseminada. El tratamiento de estos pacientes requiere la combinación de quimioterapia, radioterapia, cirugía e inmunoterapia. Sin embargo, un porcentaje de los pacientes que inicialmente responde a la quimioterapia está en riesgo de desarrollar **enfermedad resistente al tratamiento**.

La aparición de la **resistencia a los fármacos antineoplásicos** es la principal causa del fracaso de la quimioterapia en el tratamiento del NB. La resistencia de las células tumorales es independiente de la localización de las metástasis y es más dependiente de las características moleculares del tumor. Durante la progresión tumoral, proceso dinámico y cambiante, se establecen cambios constantes en las redes moleculares que alteran las propiedades de la célula, así como del medio ambiente tumoral. A raíz de este proceso, las células neoplásicas pueden adquirir nuevas capacidades que proporcionan una ventaja selectiva de crecimiento tumoral y resistencia a fármacos. Pese a los esfuerzos realizados en la identificación de vías y mecanismos moleculares, en NB todavía se desconocen las bases genéticas de la resistencia a la quimioterapia. Por lo tanto, es primordial avanzar en el conocimiento de biología subyacente a la respuesta a los fármacos antineoplásicos para poder desarrollar nuevas estrategias terapéuticas, más dirigidas y selectivas.

En el presente proyecto nos proponemos desarrollar un modelo *in vitro* de resistencia a quimioterapia utilizando líneas celulares de NB. Dicho modelo nos permitirá identificar y estudiar mecanismos genéticos que puedan ser responsables de la resistencia a los tratamientos. El proyecto tendrá como prioridad la búsqueda de fármacos que modulen estas rutas moleculares y permitan aumentar la sensibilidad de las células resistentes. El objetivo principal es abrir nuevas vías terapéuticas, más efectivas y específicas, contra el NB.

B. Anualidad 2021

En el laboratorio hemos generado líneas celulares de NB con resistencia a tratamiento con quimioterápicos para estudiar las vías moleculares implicadas en los procesos de resistencia a esta terapia que se da en la clínica actual. Concretamente, hemos expuesto a concentraciones crecientes de agentes antineoplásicos (doxorubicina, cisplatino y vincristina) tres líneas celulares de NB con diferentes características genéticas (*TP53* y *MYCN*, entre otros). Solo aquellas células que presentan propiedades específicas para poder sobrevivir a concentraciones elevadas de fármaco se han seleccionado y considerado **quimioresistentes**. Hemos analizado los cambios de expresión de genes en las células tumorales antes y después del tratamiento mediante tecnología de *microchip de ARN*. Los resultados muestran que cada uno de los agentes quimioterápicos altera la expresión de un conjunto de genes al que llamamos **perfil genético**. Estos genes están asociados a rutas moleculares que regulan mecanismos de control de la célula. Actualmente, estamos estudiando y validando los genes que pueden jugar un papel clave en la **resistencia inducida por la quimioterapia**. Algunos de estos genes han sido descritos en tumores no neuroblásticos vinculados con procesos de resistencia a tratamiento, lo que corrobora nuestro modelo de estudio y nuestros resultados preliminares. Además, mediante condiciones de ensayos experimentales *in vitro*, hemos visto que las células quimioresistentes tienen una función más agresiva si las comparamos con las no tratadas.

C. Anualidad 2022

Basándonos en nuestros resultados preliminares, nos proponemos tres objetivos principales: 1) profundizar en los mecanismos genéticos involucrados en los cambios de expresión de genes inducidos por el tratamiento; 2) identificar nuevas vías moleculares y/o dianas terapéuticas que puedan ser moduladas farmacológicamente y 3) identificar fármacos que modulen estas vías moleculares y permitan aumentar la sensibilidad de las células resistentes.

Para llevar a cabo nuestros objetivos, estamos realizando análisis genómicos para identificar las alteraciones que afectan los mecanismos de regulación génica, como la metilación del DNA (mecanismo epigenético), la conformación del DNA (cromatina) y la activación de las regiones reguladoras del genoma (dominios funcionales del DNA). Asimismo, estamos realizando estudios de secuenciación masiva (NGS) del DNA de las células quimioresistentes, con el fin de identificar mutaciones potencialmente adquiridas como consecuencia de la exposición prolongada a citotóxicos.

En el contexto de dianas terapéuticas y estudios de sensibilidad a fármacos, estamos realizando un test masivo automatizado de fármacos mediante tecnología robotizada. Dicha tecnología permite testar, en las células quimioresistentes, más de 2400 fármacos aprobados por la FDA en muy poco tiempo y de forma muy precisa. Nuestro objetivo es encontrar fármacos que afecten la viabilidad de las células resistentes a la quimioterapia, y que nos permitan realizar estudios para investigar nuevas opciones terapéuticas para estos tumores. Estos estudios se realizan en colaboración con la plataforma de Drug Screening ubicada en el IRB-PCB (Barcelona).

Responsable del Proyecto: Dra. Marta García López

Director del proyecto: Dra. Cinzia Lavarino

Contacto:

clavarino@sjdhospitalbarcelona.org

mgarcial@fsjd.org