

Javier Bravo Merchán

Carlos Ruiz Fabra

José María Tapia Rodríguez

**TERAPIA AGNÓSTICA: INHIBIDORES NTRK EN
ONCOLOGÍA**

TRABAJO FIN DE GRADO

Dirigido por el Dr. Josep Gumà Padró

Grado de Medicina



UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

Reus

2022

ÍNDICE

INHIBIDORES DE NTRK EN ONCOLOGÍA	2
1. INTRODUCCIÓN	4
1.1. <i>BIOLOGÍA</i>	4
1.2. <i>MUTACIONES</i>	6
1.3. <i>PREVALENCIA</i>	6
1.4. <i>DETECCIÓN</i>	8
1.5. <i>INMUNOHISTOQUÍMICA</i>	9
1.6. <i>FISH</i>	10
1.7. <i>RT-PCR</i>	11
1.8. <i>NGS</i>	11
1.9. <i>INHIBIDORES NTRK EN LA PRÁCTICA CLÍNICA</i>	15
2. LAROTRECTINIB.....	16
2.1. <i>SEGURIDAD DEL LAROTRECTINIB EN POBLACIÓN PEDIÁTRICA</i>	16
2.2. <i>SEGURIDAD DEL LAROTRECTINIB EN POBLACIÓN ADULTA</i>	18
2.3. <i>EFICACIA DEL LAROTRECTINIB</i>	19
2.4. <i>AMPLIACIÓN DE ESTUDIOS PREVIOS SOBRE LA EFICACIA DEL LAROTRECTINIB</i>	21
2.5. <i>EFICACIA DEL LAROTRECTINIB EN PACIENTES PREVIAVENTE TRATADOS CON OTRAS TERAPIAS</i>	22
2.6. <i>USO DEL LAROTRECTINIB COMO TERAPIA NEOADYUVANTE EN NIÑOS CON SARCOMA LOCALMENTE AVANZADO</i>	22
2.7. <i>TRATAMIENTO CON LAROTRECTINIB EN PACIENTES CON TUMOR DE GLÁNDULA SALIVAL FUSIÓN NTRK POSITIVO</i>	25
3. ENTRECTINIB	28
3.1. <i>POTENCIAL DEL ENTRECTINIB PARA TRATAR TUMORES CON FUSIONES NTRK</i>	28
3.2. <i>EFECTIVIDAD DEL ENTRECTINIB CONTRA TUMORES NTRK</i>	30
4. COMPARATIVA LAROTRECTINIB Y ENTRECTINIB	34
5. CONCLUSIONES	35
6. BIBLIOGRAFÍA	36

INHIBIDORES DE NTRK EN ONCOLOGÍA

Abstract

Agnostic therapy is a new strategy to treat cancer, which consists of using drugs against specific mutations regardless of the histology and location of the tumor.

In this review we will focus on gene fusions involving NTRK1, NTRK2, or NTRK3 that are found in a wide range of pediatric and adult malignancies. NTRK fusions are abundant (frequency greater than 90%) in rare tumors, such as mammary analog secretory carcinoma of the salivary gland, or congenital infantile fibrosarcoma. However, they are rare (frequency less than 1%) in more prevalent tumors such as non-small cell lung cancer, breast cancer or colorectal cancer.

Selective inhibitors for these fusions have shown great activity against NTRK fusion-positive solid tumors. Two of the most studied drugs are Larotrectinib and Entrectinib.

In this systematic review we will describe the prevalence, diagnosis of NTRK fusions, as well as the safety and efficacy of Larotrectinib and Entrectinib.

Abstract

La terapia agnóstica es una nueva estrategia para tratar el cáncer, la cual consiste en emplear fármacos contra mutaciones específicas independientemente de la histología y localización del tumor.

En esta revisión nos centraremos en las fusiones de genes que involucran NTRK1, NTRK2, o NTRK3 que se encuentran en una amplia gama de tumores malignos pediátricos y adultos. Las fusiones NTRK son abundantes (frecuencia mayor al 90%) en tumores poco comunes, como el carcinoma secretor análogo mamario de glándula salival, o el fibrosarcoma congénito infantil. Sin embargo, son poco habituales (frecuencia menor al 1%) en tumores más prevalentes como el cáncer de pulmón no microcítico, cáncer de mama o cáncer colorrectal.

Inhibidores selectivos para estas fusiones han demostrado una gran actividad contra tumores sólidos positivos para fusión NTRK. Dos de los fármacos más estudiados son el Larotrectinib y Entrectinib.

En esta revisión sistemática describiremos la prevalencia, diagnóstico de las fusiones NTRK, así como la seguridad y eficacia de Larotrectinib y Entrectinib.

Materiales y métodos

Se ha realizado una revisión sistemática de artículos sobre tumores con mutaciones NTRK. También se han consultado revisiones sistemáticas y estudios científicos sobre el tema a tratar.

Se han extraído los artículos que hemos considerado más relevantes de los recogidos en el UptoDate (última actualización 30/05/2022) para explicar la fisiopatología, prevalencia y métodos de detección de fusiones NTRK.

Para recoger información sobre la eficacia del Larotrectinib y Entrectinib hemos llevado a cabo una búsqueda en PubMed de ensayos clínicos que incluyeran los términos ``NTRK`` y ``Larotrectinib`` o ``Entrectinib`` respectivamente. En relación a Larotrectinib obtuvimos 9 artículos, de los cuales descartamos dos case-report y uno porque se centraba en la calidad de vida de los pacientes y no en la eficacia del tratamiento. En cuanto al Entrectinib obtuvimos 6 artículos, de los cuales descartamos un case-report y dos porque se centraban en la farmacocinética del Entrectinib. Los artículos de esta revisión en relación a la eficacia de ambos fármacos aparecen en orden cronológico de publicación.

1. INTRODUCCIÓN

1.1. BIOLOGÍA

Un receptor de tirosin quinasa es un receptor celular asociado a una vía de señalización intracelular. Se caracteriza por presentar actividad enzimática intrínseca o asociada y por poseer como ligandos a la insulina, un factor de crecimiento epidérmico, un factor de crecimiento de fibroblastos, neurotrofinas y otros factores tróficos.

Cada receptor está constituido por un dominio N-terminal extracelular de unión al ligando, una única hélice alfa transmembrana y un dominio citosólico C-terminal con actividad tirosina quinasa. La unión del ligando, por ejemplo un factor de crecimiento, al dominio extracelular activa el dominio quinasa citosólico, dando lugar a la fosforilación del propio receptor y de las proteínas intracelulares que propagan la señal iniciada por el ligando.

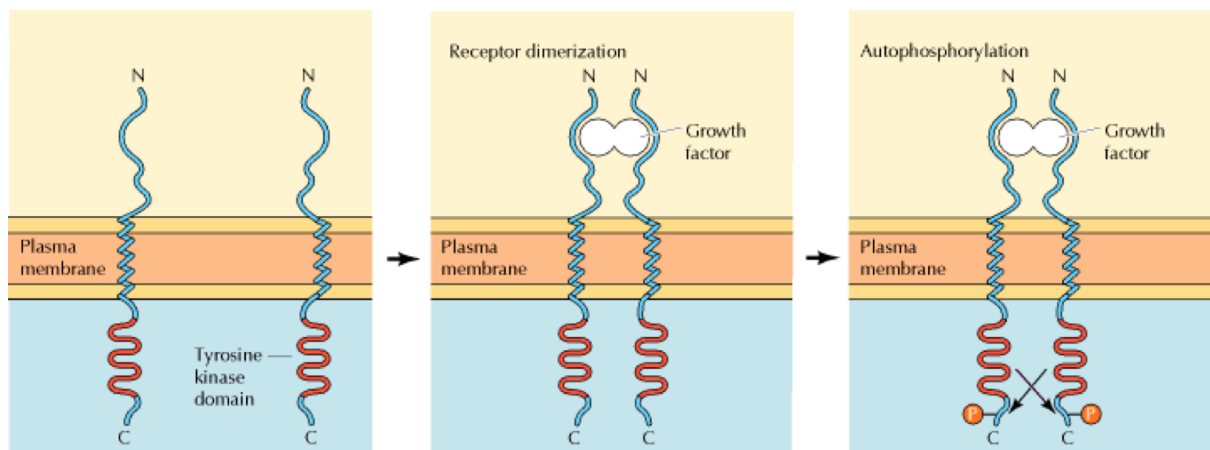


Figura 1.- Dimerización y autofosforilación de los receptores de proteína tirosin quinasa.

Cooper G. The cell: a molecular approach. 8th ed. New York: Oxford University Press; 2019.

El primer paso del proceso de señalización en la mayoría de los receptores es la dimerización del receptor inducida por el propio ligando que conduce a la autofosforilación del receptor ya que las cadenas polipeptídicas se autofosforilan de manera cruzada. En primer lugar, la fosforilación de los residuos de tirosina quinasa del dominio catalítico es un mecanismo de regulación ya que incrementa la actividad de la propia proteína. En segundo lugar, la fosforilación de los residuos supone la generación de sitios de unión específicos para otras proteínas intracitoplasmáticas, a través cuales se transmite la señal al interior celular.

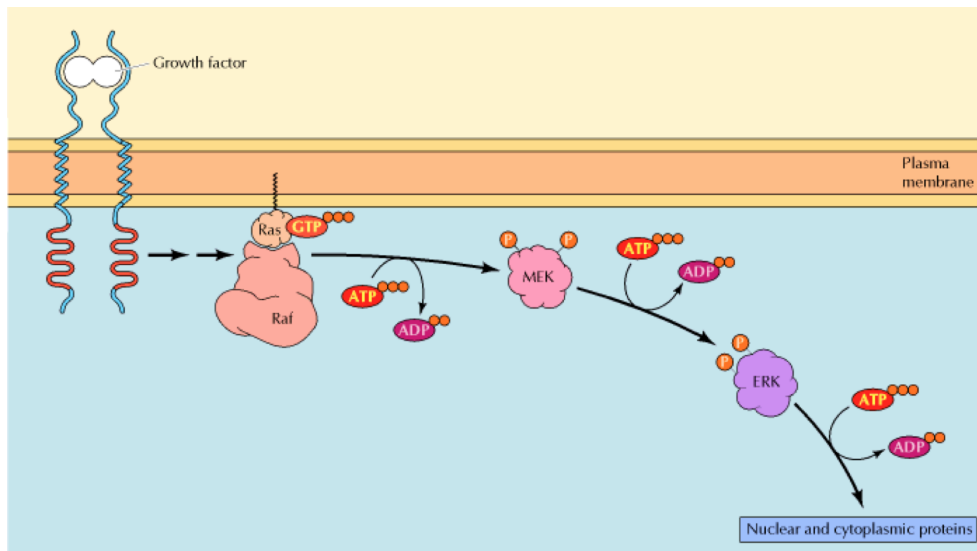


Figura 2.- Activación de las quinasas MEK y ERK

Cooper G. The cell : a molecular approach. 8th ed. New York: Oxford University Press; 2019.

La familia de genes NTRK, (neurotrophic, tyrosine receptor kinase), NTRK1, NTRK2, y NTRK3 codifican los tres receptores con actividad tirosina quinasa TRK (tropomyosin-related kinase) TRKA, TRKB, y TRKC respectivamente. Su función es la de supervivencia y diferenciación celular en el sistema nervioso central y sistema nervioso periférico durante la embriogénesis, aunque también juegan un papel fundamental en la sensación de dolor, memoria, homeostasis y propiocepción. Se localizan en el cromosoma 1 (1q21-q22) (gen NTRK1), en el cromosoma 9 (q22.1) (gen NTRK2) y en el cromosoma 15 (q25) (gen NTRK3). Y respecto a su estructura molecular cabe destacar que, tanto el TRKA, TRKB y TRKC muestran una estructura similar compuesta por tres receptores ricos en leucina flanqueados por dos clusters de cisteína y dos dominios semejantes a los de la inmunoglobulina. Estos últimos se cree que tienen relación con el lugar de unión al ligando.

Los TRK sirven como receptores de señal para neurotrofinas. El factor de crecimiento cerebral (NGF), el factor de crecimiento (BDGF) y la neurotrofina 3 (NT3) son factores neurotróficos que activan la TrkA, TrkB y la TrkC, respectivamente. La unión ligando-receptor provoca una dimerización en el receptor y la consecuente fosforilación del dominio quinasa. Una vez se activa el dominio quinasa se promueve la proliferación, diferenciación y supervivencia celular a través la activación de las rutas de señales de transducción intracelular. Más concretamente, la unión del NGF al receptor TrkA causa la activación de la ruta Ras/ MAPK (proteína quinasa activada por mitógeno), que desemboca en un aumento de la proliferación y crecimiento celular

a través de ERK (quinasas reguladas por señales extracelulares). También se activan otras rutas como la PLC γ (fosfolipasa C- γ) y la PI3K. Por su parte, la unión del NT3 al receptor TrkC causa la activación preferente de la ruta PI3/ AKT evitando la apoptosis e incrementando la supervivencia celular mientras que el TrkB transduce la señal BDGF vía Ras-ERK, PI3K y PLC γ , favoreciendo la diferenciación y supervivencia neuronal.

La importancia de los NTRK es que son genes propensos a la reorganización, es decir, a generar fusiones por reordenamiento intra e intercromosómicos y con ello generar genes de fusión. Estos pueden producir proteínas TRK también de fusión, es decir, anómalas, que hagan estimular de forma constitutiva las vías anteriores mencionadas y conlleven a la formación y crecimiento de células tumorales^[1].

1.2. MUTACIONES

La fusión de genes del NTRK representa la principal alteración molecular con potencial oncogénico. Estas fusiones surgen de reordenamientos intracromosómicos o intercromosómicos que colocan la región 3' del NTRK que contiene el dominio quinasa con la región 5' del gen parejo. Las proteínas de fusión quiméricas promueven la génesis tumoral mediante la activación intracelular libre de ligandos de rutas biológicas y la señalización de cascadas de transducción que controlan la supervivencia, la apoptosis, la proliferación y la progresión del ciclo celular.

Ensayos preclínicos han demostrado que las fusiones oncogénicas quiméricas pueden conducir a una delección parcial o completa del dominio semejante a inmunoglobulina, que inhibe las rutas biológicas en ausencia de los ligandos activadores^{[1][2]}.

1.3. PREVALENCIA

La distribución de las fusiones de NTRK sigue dos patrones generales. El primero engloba cánceres raros con abundantes fusiones NTRK (frecuencia estimada mayor al 90% en algunas series) como el carcinoma secretor análogo mamario (MASC) de la glándula salival, el fibrosarcoma congénito infantil, el nefroma mesoblástico congénito y el carcinoma de mama secretor. El segundo incluye cánceres comunes con una frecuencia baja o intermedia de

fusiones de NTRK (frecuencia estimada menor del 1%) como el cáncer de pulmón no microcítico, el cáncer de mama no secretor, el cáncer colorrectal, el cáncer de páncreas, o el cáncer renal.

Un estudio llevado a cabo por la Universidad de Minesota con 295.000 pacientes procedentes de la base de datos de FoundationCore mostró que; dentro de los tumores sólidos con fusiones NTRK los más frecuentes son el carcinoma de glándula salival, el carcinoma de tiroides y el sarcoma de tejido blando (figura 4). Este mismo estudio puso en evidencia la existencia de variaciones respecto a la edad, siendo más frecuente en el grupo de 0-5 años y disminuyendo progresivamente hasta que se estabiliza a partir de los 30 (figura 3). En adultos (grupo de edad mayor de 18 años) el cáncer con fusión NTRK más prevalente es el carcinoma de glándula salival (figura 5), mientras que en el de menores de 18, el tumor fibroso solitario^[3] (figura 6).

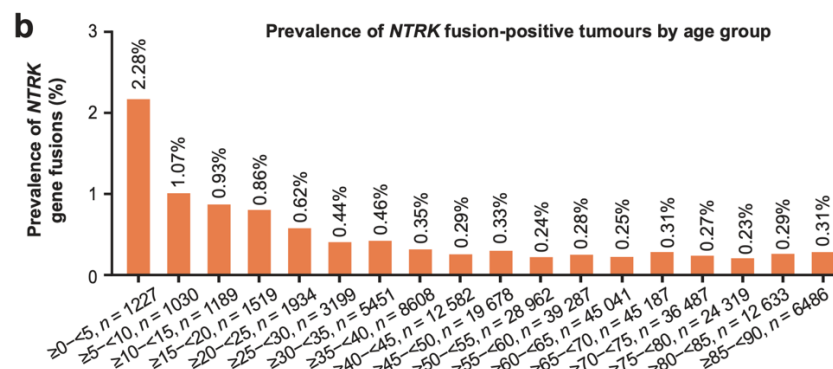


Figura 3.- Prevalencia de las fusiones NTRK por grupo de edad.

Westphalen C, Krebs M, Le Tourneau C, Sokol E, Maund S, Wilson T et al. Genomic context of NTRK1/2/3 fusion-positive tumours from a large real-world population. npj Precision Oncology.2021;5

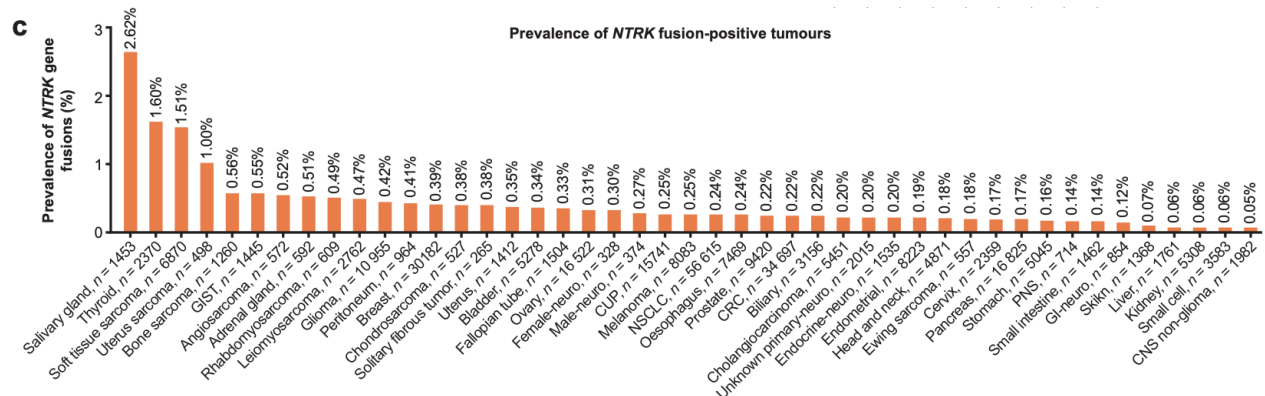


Figura 4.- Prevalencia de las fusiones NTRK por tumor.

Westphalen C, Krebs M, Le Tourneau C, Sokol E, Maund S, Wilson T et al. Genomic context of NTRK1/2/3 fusion-positive tumours from a large real-world population. npj Precision Oncology. 2021;5

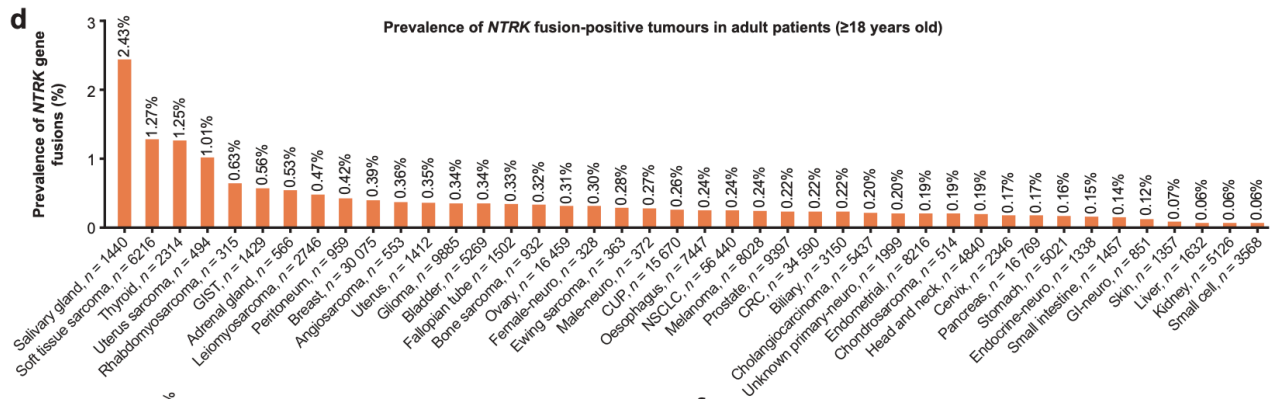


Figura 5.- Prevalencia de los tumores con fusiones NTRK en ≥ 18 años.

Westphalen C, Krebs M, Le Tourneau C, Sokol E, Maund S, Wilson T et al. Genomic context of NTRK1/2/3 fusion-positive tumours from a large real-world population. *Npj Precision Oncology*. 2021;5

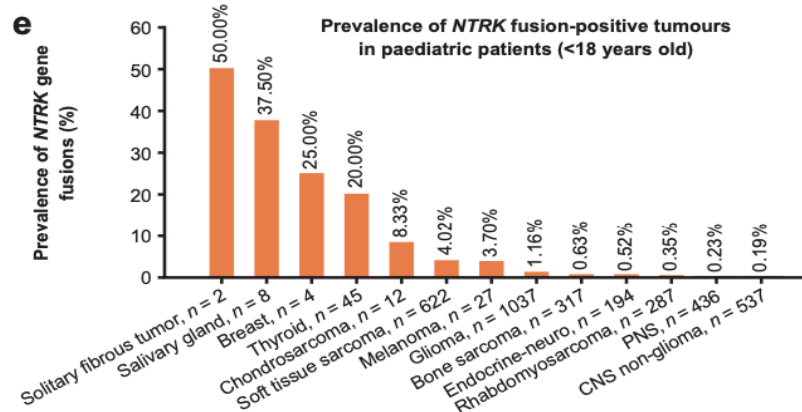


Figura 6.- Prevalencia de los tumores con fusiones NTRK en < 18 años.

Westphalen C, Krebs M, Le Tourneau C, Sokol E, Maund S, Wilson T et al. Genomic context of NTRK1/2/3 fusion positive tumours from a large real-world population. *Npj Precision Oncology*. 2021;5

1.4. DETECCIÓN

Las fusiones NTRK pueden detectarse en el tejido tumoral mediante distintas técnicas, entre las que se incluyen la hibridación fluorescente in situ (FISH), la inmunohistoquímica (IHQ), la RT-PCR, y la next-generation sequencing (NGS) basada en ADN o ARN. Todavía no se ha establecido un protocolo de diagnóstico definitivo, por lo que el método de detección dependerá de la probabilidad de encontrar una fusión en los genes NTRK.

Según las últimas guías de práctica clínica de la ESMO, en los tumores con alta prevalencia de fusiones NTRK se recomienda emplear las técnicas FISH, RT-PCR y secuenciación basada en ARN. Mientras que, en los de baja prevalencia son recomendables tanto la secuenciación de primera línea (preferiblemente ARN) como la IHQ seguida de la NGS. En cualquier caso y a pesar de su elevado coste, la NGS es el método diagnóstico más empleado en la actualidad.^{[4][5]}

1.5. INMUNOHISTOQUÍMICA

La inmunohistoquímica es una técnica de laboratorio que tiene como objetivo la identificación de un antígeno presente en una preparación histológica. Se basa en el uso de anticuerpos que tienen como diana el antígeno a identificar. El uso de la inmunohistoquímica, se ha extendido al área de oncología con el objetivo de encontrar biomarcadores presentes en neoplasias del sistema gastrointestinal, nervioso y respiratorio entre otros.

Los pasos para realizar una tinción inmunohistoquímica se pueden resumir de la siguiente manera:

- Recuperación del antígeno
- Anticuerpo primario
- Anticuerpo secundario
- Reactivo para la detección del anticuerpo.

La recuperación antigénica consiste en desenmascarar aquellos antígenos que han quedado ocultos tras la fijación del tejido en formol y posterior inclusión en parafina, con el objetivo de que puedan ser reconocidos por los anticuerpos. Se ha demostrado que el formaldehído produce reacciones entre las proteínas del tejido, principalmente enlaces cruzados haciendo que los epítomos, zonas de unión al anticuerpo, queden ocultos. Hay varios métodos que se usan para la recuperación antigénica, como puede ser el uso de calor, HIER (“Heat-Induced Epitope Retrieval”) o el uso de enzimas proteolíticas, método PIER (“Proteolytic-Induced Epitope Retrieval”).^[6]

El anticuerpo primario puede ser monoclonal o policlonal. En general, el anticuerpo monoclonal que tiene como diana un único epítomo, tiende a ser más específico que un

anticuerpo policlonal, el cual se puede unir a distintas dianas, siendo más sensible, pero generando un fondo más inespecífico.

Para visualizar la interacción se debe marcar el anticuerpo primario o el secundario. En el método directo se marca el anticuerpo primario, sin embargo, este método no se usa de forma frecuente, ya que la señal que produce es baja y, por lo tanto, se necesita una mayor concentración de anticuerpo marcado, siendo este proceso más costoso. En el método indirecto, el más utilizado, se marca el anticuerpo secundario, lo que permite la amplificación de la señal y el uso de muchos anticuerpos primarios distintos.

Para el uso de la inmunohistoquímica en la identificación de fusiones NTRK se requiere el uso de anticuerpos pan-NTRK. En distintos estudios, se ha encontrado que la sensibilidad para las fusiones NTRK1 y NTRK2 son del 96% y 100% respectivamente, mientras que la sensibilidad para el NTRK3 fue del 79%. Además, esta técnica parece tener una especificidad diferente según el tipo de tumor, es decir, el anticuerpo parece tener una especificidad del 100% en carcinomas de colon, pulmón, tiroides, páncreas y el tracto biliar, pero la especificidad baja en tejido mamario, salival y sarcomas. ^{[7][8]}

1.6. FISH

La técnica FISH es un procedimiento de hibridación molecular cuyo objetivo es identificar secuencias específicas de ácidos nucleicos en cromosomas en metafase o interfase usando una sonda marcada.

La sonda que se usa es un fragmento de ADN complementario a la región del genoma que se quiera identificar. Normalmente, las sondas están marcadas con un fluorocromo que, tras la excitación a una longitud de onda adecuada, emitirá fluorescencia. Encontramos distintos tipos de sondas:

- Sondas centroméricas: hibridan con regiones centrales de los cromosomas con el objetivo de detectar aneuploidias. Las sondas más utilizadas son para detectar las trisomías 13, 18 y 21.
- Sondas específicas para un locus: hibridan con regiones concretas del genoma con el objetivo de identificar un gen. Se utilizan para observar si hay pérdida o ganancia de

material genético y alteraciones estructurales como translocaciones, inserciones y fusiones.

- Sondas de pintado cromosómico: hibridan con un cromosoma completo.

Para realizar el procedimiento, en primer lugar, hay que desnaturalizar el ADN con el objetivo de que las hebras se separen, para ello hay que calentar la muestra entre unos 70-80°C. Posteriormente, se tiene que producir la hibridación de la región de ADN que queremos estudiar con la sonda. Para ello, debemos incubar la muestra a 37°C. Finalmente, la preparación se observará bajo microscopía de fluorescencia.^[9]

1.7. RT-PCR

Está diseñada para detectar fusiones específicas, por lo que su utilidad es relativamente limitada. Se basa en la amplificación de un fragmento de ADNc a partir de una secuencia sonda. Presenta un rápido tiempo de respuesta y bajo coste, así como una alta especificidad por la diana.

La técnica de RT-PCR está diseñada como Kits los cuales se basan en dos procesos principales:

- Transcripción inversa: en este paso se emplea el ARN extraído del tejido tumoral FFPE (tejido fijado con formalina e incrustado en parafina). La transcripción inversa del ARN diana permite la síntesis de ADN complementario (ADNc) con la acción de la transcriptasa inversa y cebadores específicos.
- Amplificación por PCR: los cebadores específicos están diseñados para la amplificación de la variante de ADNc de NTRK.^{[4][5]}

1.8. NGS

La secuenciación de nueva generación es un grupo de tecnologías que se encargan de secuenciar de forma masiva el ADN de forma más económica y en poco tiempo. Esta técnica tiene una gran utilidad a la hora del diagnóstico, tratamiento y seguimiento de un conjunto de enfermedades tanto genéticas como infecciosas.

Para realizar dicha técnica, hay que realizar una serie de pasos previos:

- Fragmentación del ADN
- Marcaje del ADN por cebadores que indican el inicio de la replicación
- Amplificación de los fragmentos de ADN marcados mediante técnicas PCR
- Secuenciación o lectura
- Almacenamiento de datos

Los métodos de secuenciación que más se utilizan a día de hoy son el método *Illumina* e *Ion Torrent*.

El método Illumina

Este método consta de dos pasos:

- Realización de PCR en puente con el fin de generar un clúster (conjunto de fragmentos iguales).
- Marcaje mediante moléculas fluorescentes para detectar la secuencia de bases.

Para la generación del clúster, los fragmentos de ADN purificados se colocan en múltiples carriles. Cada uno de estos carriles, contiene cebadores complementarios a cada fragmento que se quiere secuenciar. Posteriormente, la ADN polimerasa genera una hebra complementaria a la original. La hebra original se retira y la reversa, a través de una secuencia terminal se pliega en forma de puente. Luego, entra en juego otra vez la ADN polimerasa que genera una hebra complementaria a la reversa, que será idéntica a la original, obteniéndose así dos hebras que son clones del fragmento inicial. Este proceso se repite de forma masiva.

Una vez realizado el paso anterior, se retiran las hebras reversas y se quedan solo las originales. Posteriormente, se introducen nucleótidos marcados con fluorocromos. Estos nucleótidos evitan que más de uno se una al sitio de reacción, disminuyendo así el error en la secuenciación. Cada vez que una base se une con su complementaria, emite una fluorescencia que permite la identificación. Este paso se repite con todas las hebras del mismo clúster hasta terminar la secuenciación.

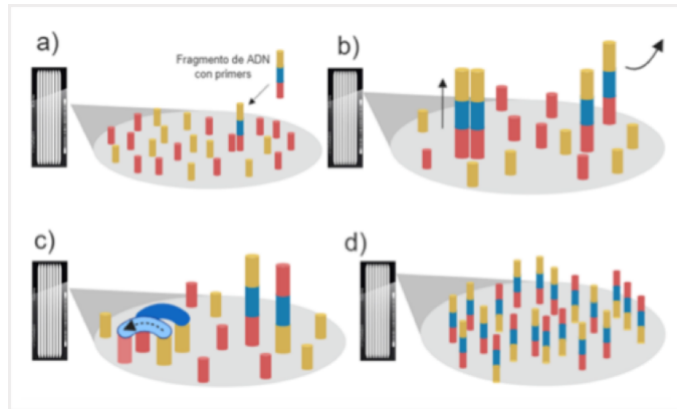


Figura 7.- Explicación esquemática método Illumina.

Secuenciación de nueva generación (NGS) de ADN: presente y futuro en la práctica clínica [Internet].
 Revistas.javeriana.edu.co. 2022 [citado 20 Marzo 2022]. Disponible en:
[https://revistas.javeriana.edu.co/files-articulos/UMED/61-2%20\(2020\)/231062391008/](https://revistas.javeriana.edu.co/files-articulos/UMED/61-2%20(2020)/231062391008/)

El método Ion Torrent

Dicho método se lleva a cabo en un chip semiconductor y consta de los siguientes pasos:

- Amplificación mediante PCR de emulsión.
- Detección de las bases mediante un ion semiconductor.

Para realizar la PCR de emulsión cada fragmento de ADN se introduce en micromicelas. A parte, dentro de esta, se introducen microesferas recubiertas con cebadores y una ADN polimerasa. Una vez se ha producido la amplificación, se retiran todas las hebras complementarias dejando solo aquellas que están unidas al cebador unido a la microesfera. Este paso se repite de forma masiva. Posteriormente se colocan por separado cada una de ellas en pocillos independientes que contienen los elementos necesarios para llevar a cabo la secuenciación.

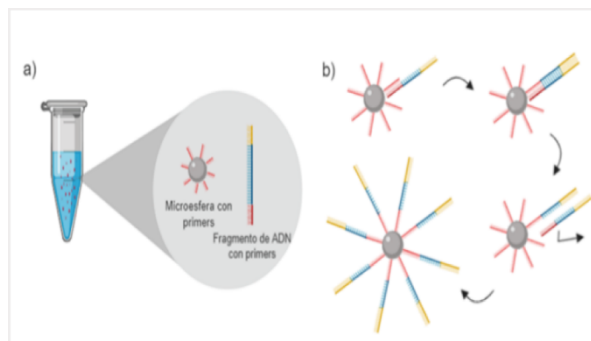


Figura 8.- Explicación ampliación mediante PCR de emulsión realizada en el método Ion Torrent.

Secuenciación de nueva generación (NGS) de ADN: presente y futuro en la práctica clínica [Internet]. Disponible en:
 Revistas.javeriana.edu.co. 2022 [citado 20 Marzo 2022].

Finalmente, cuando un nucleótido se une a la hebra que se va a secuenciar, se forma un enlace covalente liberando así un ion de hidrógeno, generando un cambio de pH de la solución del pocillo y una corriente eléctrica. Este cambio de voltaje es reconocido por un sensor ISFET (Ion-Sensitive Field-Effect Transistor) que informa de si el nucleótido se ha incorporado de forma correcta. Para la identificación de cada nucleótido, se mete un solo tipo de base en cada pocillo y el sensor detectará o no el voltaje dependiendo de la complementariedad de la base. Se añadirá una u otra base en el caso de que no detecte voltaje. El pH disminuirá en mayor proporción y la diferencia de voltaje será proporcional al número de bases añadidas. [10]

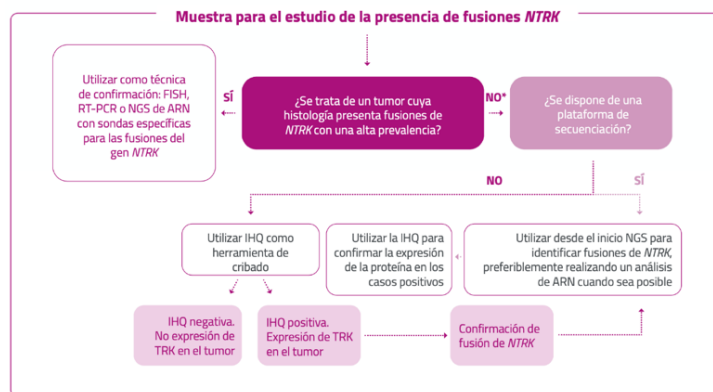


Figura 9.- Recomendaciones ESMO para la detección fusiones NTRK.

Marchiò C, Scaltriti M, Ladanyi M, Iafrate A, Bibeau F, Dietel M et al. ESMO recommendations on the standard methods to detect NTRK fusions in daily practice and clinical research. *Annals of Oncology*. 2019;30(9):1417-1427.

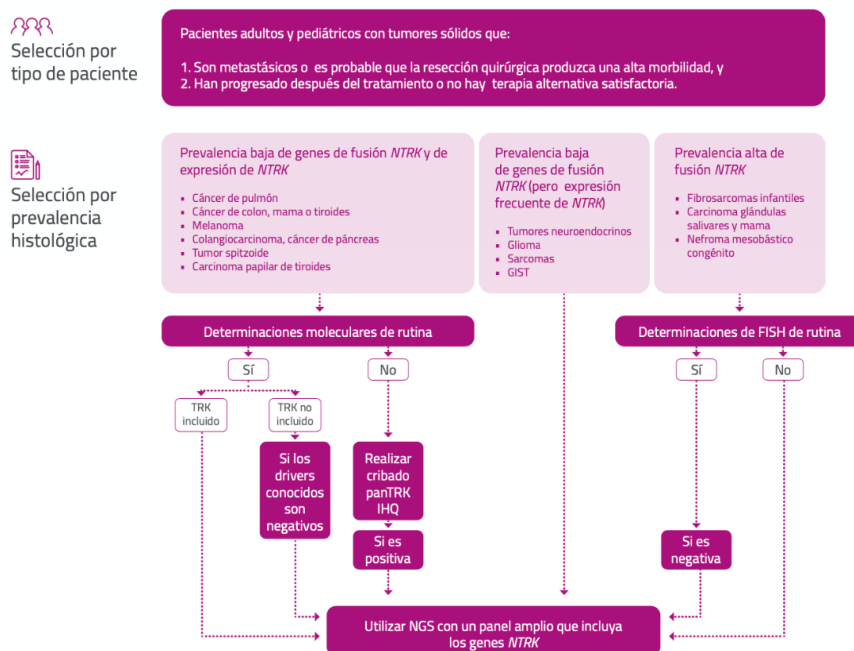


Figura 10.- Algoritmo ESMO para la detección fusiones NTRK.

Marchiò C, Scaltriti M, Ladanyi M, Iafrate A, Bibeau F, Dietel M et al. ESMO recommendations on the standard methods to detect NTRK fusions in daily practice and clinical research. *Annals of Oncology*. 2019;30(9):1417-1427.

1.9. INHIBIDORES NTRK EN LA PRÁCTICA CLÍNICA

Estas alteraciones moleculares suponen una diana terapéutica compartida por distintos tumores sólidos muy diferentes entre sí. Esto abre las puertas al concepto de terapia agnóstica, es decir, emplear un fármaco dirigido exclusivamente a la mutación de un tumor (por ejemplo, fusiones NTRK) independientemente de su histología y localización. Varios ensayos clínicos describen la seguridad y eficacia de diferentes inhibidores de los receptores kinasa con fusión NTRK^[12] (figura 8).

- Larotrectinib: Se trata de un inhibidor ATP competitivo panNTRK potente y altamente selectivo. Su eficacia ha sido demostrada en varios ensayos clínicos para diversos tumores sólidos refractarios a las terapias convencionales y en pacientes de diferentes edades. Se administran dos dosis diarias de 100 mg. Es bien tolerado, siendo la mayoría de efectos adversos de grado 1-2. Los de grado 3-4 son poco frecuentes siendo los más comunes: anemia, aumento de enzimas hepáticos, náuseas y mareos.
- Entrectinib: Se trata de un inhibidor ATP competitivo anti NTRK/ ROS1/ ALK. Su eficacia ha sido mayor para fusiones NTRK. Los efectos adversos más comunes de cualquier grado son: fatiga, disgeusia, parestesia, náusea y mialgia.
- MGDCC-516: Se trata de un inhibidor multikinasa que actúa frente a MTE, AXI, MER, algunas familias de VEGFR, PDGFR, DDR2 y NTRK.
- TSR-011: Se trata de un inhibidor dual anti ALK y anti NTRK. Los efectos adversos que limitan su dosis son prolongación del QTc y disestesia.

A parte de los anteriores, existen otros inhibidores de fusión NTRK que actualmente están en estudio. Los fármacos que más se han investigado son el Larotrectinib y el Entrectinib. Uno de los objetivos de esta revisión es describir su eficacia y seguridad, así como sus principales ventajas y flaquezas.

Table 3. Current clinical trials of TRK fusion inhibitors

NTRK						
Inhibitor	Gene target	Company	Population	Disease	Phase	NCTID
LOXO-101	<i>NTRK1/2/3</i>	Loxo Oncology	Pediatric	Solid tumor	I	NCT02637687
				CNS	II	
			Pediatric	Solid tumor, NHL, histiocytic tumor	II	NCT03213704 ^a
			Adult	Solid tumor	II	NCT02576431 ^b
			Adult	Solid tumor	I	NCT02122913
Entrectinib	<i>NTRK1/2/3, ALK, ROS1</i>	Ignyta	Pediatric	CNS	II	NCT03155620 ^a
			Adult	HNC	II	NCT02465060 ^a
			Adult	Solid tumor	II	NCT02568267 ^b
			Adult	Solid tumor	I	NCT02097810
			Pediatric	Solid tumor, neuroblastoma, CNS	I	NCT02650401
Adult	Melanoma	II	NCT02587650 ^b			
LOXO-195	<i>NTRK1/2/3</i>	Loxo Oncology	Adult	Solid tumor	I, II	NCT03215511
TSR-011	<i>NTRK1/2/3, ALK</i>	Tesaro	Adult	Solid tumor	I	NCT02048488
				Lymphoma	II	
PLX-7486	<i>NTRK1/2/3, CSF1R</i>	Plexxikon	Adult	Solid tumor	I	NCT01804530
MGCD-516	<i>NTRK1/2/3, KDR, MET, KIT, PDGFR, DDR2</i>	Mirati Therapeutics	Adult	Solid tumor	I	NCT02219711
			Adult	Urinary tract tumor	I, II	NCT03015740 ^c
			Adult	Liposarcoma	II	NCT02978859
			Adult	NSCLC	II	NCT02954991
DS-6051b	<i>NTRK1/2/3, ROS1</i>	Daiichi Sankyo	Adult	Solid tumor	I	NCT02675491
			Adult	Solid tumor	I	NCT02279433
DCC-2701	<i>MET, TRK, VEGFR2, TIE2</i>	Deciphera Pharmaceuticals	Adult	Solid tumor	I	NCT02228811
Cabozantinib	<i>NTRK2, RET, KIT, FLT3, MET, KDR, FLT1, FLT4, AXL</i>	Exelixis	Adult	NSCLC	II	NCT01639508
Merestinib	<i>NTRK1/2/3, MET, AXL, ROS1, MKNK1, MKNK2, FLT3, TEK, DDR1, DDR2</i>	Eli Lilly	Adult	Solid tumor	II	NCT02920996
			Adult	Solid tumor	II	NCT02920996

Abbreviations: CNS, central nervous system; CSF1R, colony-stimulating factor 1 receptor; DDR1/2, discoidin domain receptor tyrosine kinase1/2; FLT1, fms related tyrosine kinase 1; HNC, head and neck cancer; KDR, kinase insert domain receptor; MKNK, mitogen-activated protein kinase-interacting serine/threonine protein kinase; NCTID, ClinicalTrials.gov identifier; NHL, non-Hodgkin lymphoma; PDGFR, platelet-derived growth factor receptor; RET, rearranged during transfection; VEGFR2, vascular endothelial growth factor receptor 2.

^aNational Cancer Institute MATCH Trials.

^bBasket trials.

^cCombined with nivolumab.

Figura 11. Ensayos clínicos de inhibidores de fusión NTRK en la actualidad.

Magaki S, Hojat S, Wei B, So A, Yong W. An Introduction to the Performance of Immunohistochemistry. *Methods in Molecular Biology*. 2018;:289-298.

2. LAROTRECTINIB

En julio de 2019 la EMA autorizó por primera vez el Larotrectinib para tratar tumores sólidos con fusiones NTRK tanto en adultos como en pacientes pediátricos.

2.1. SEGURIDAD DEL LAROTRECTINIB EN POBLACIÓN PEDIÁTRICA^[13]

Entre diciembre de 2015 y julio de 2017 se llevó a cabo un ensayo clínico fase I (NCT02637687) con el objetivo de determinar la seguridad del Larotrectinib en población pediátrica.

En este estudio (Laetsch Lancet Oncol 2018) participó un total de 24 pacientes con edades comprendidas entre 1 mes y 21 años con tumor sólido metastásico o localmente avanzado, o tumor primario del SNC con recurrencia, progresión o falta de respuesta a las terapias disponibles o que no tuviera terapia estándar. La mediana de edad de los pacientes fue de 4,5

años (rango, 1 mes a 18 meses). La mayoría de los pacientes de este estudio (17) presentaba tumores sólidos con fusión NTRK, el resto (7) no. Los tipos histológicos de los tumores NTRK fueron: fibrosarcoma infantil (8), sarcoma de tejido blando (7) y carcinoma papilar de tiroides(2).

Los criterios de inclusión fueron: enfermedad evaluable por RECIST, Response Assessment in Neuro Oncology o International Neuroblastoma Response Criteria, Índice Karnofsky (>16 años) o Lansky (<16) superior o igual a 50, recuento de neutrófilos superior a $10^9/L$, hemoglobina > 8 g/dl, bilirrubina < 1'5 g/dl, ALT <135, FG > 30 ml/min y recuperación de los efectos adversos de la terapia anterior. La fusión NTRK en el tumor sólido no constituyó un criterio de inclusión para este estudio. Así pues, los criterios de exclusión fueron: intervención quirúrgica 14 días previos al tratamiento, enfermedad cardiovascular clínicamente significativa o QTc mayor a 480 ms, infección sistémica activa no controlada, y condiciones que afectaran a la absorción oral del fármaco.

Todos los pacientes recibieron 2 dosis orales de Larotrectinib (cápsula o líquido) diaria durante ciclos de 28 días. La población se dividió en 3 cohortes dependiendo de la dosis: cohorte 1 (n=4), 100 mg; cohorte 2 (n=11), 150 mg; y cohorte 3 (n=9) 100 mg/m^2 con un máximo de 100 mg por dosis.

En cuanto a la seguridad del fármaco, la mayoría de pacientes (21/24, 88%) presentaron efectos adversos grado 1 y 2; 4 pacientes (17%), efectos adversos grado 3, y ninguno, efectos adversos 4 o 5. Los efectos adversos más frecuentes fueron: elevación leve de las enzimas hepáticas, toxicidad hematológica y vómitos. Los efectos adversos más graves fueron: náuseas grado 3 y disminución de la fracción de eyección grado 3 en un paciente que había sido tratado con antraciclina antes y después del Larotrectinib (la toxicidad se detectó durante el seguimiento de 28 días tras haber abandonado el Larotrectinib por progresión de la enfermedad). Un paciente tuvo que reducir la dosis por presentar neutropenia grado 3 durante el segundo ciclo de tratamiento. Un paciente con neuroblastoma fusión NTRK negativo presentó un efecto adverso grado 3 limitante de dosis: elevación de ALT. Ningún otro paciente tuvo toxicidad limitante de dosis o suspendió el Larotrectinib. Tampoco se asoció ninguna muerte al tratamiento con Larotrectinib. Con todo ello, la MTD (máxima dosis tolerable) no se alcanza.

Por otra parte, se valoró la respuesta objetiva al tratamiento mediante el modelo RECIST. La gran mayoría de pacientes con tumor NTRK positivo (14/15, 93%) presentaron respuesta objetiva (4 completa, 14 parcial). El paciente restante mostró regresión tumoral pero no cumplía los criterios de respuesta objetiva. Además un paciente presentó progresión de la enfermedad por aparición de resistencia en la fusión NTRK3 (sustitución Gly623Arg).

2.2. SEGURIDAD DEL LAROTRECTINIB EN POBLACIÓN ADULTA^[14]

Entre mayo de 2014 y febrero de 2018 se realizó otro ensayo clínico fase I (NCT02122913) para determinar la seguridad del Larotrectinib en pacientes adultos. Para este estudio (Hong DS Annals Oncol 2019) se reclutó un total de 70 pacientes adultos (mayores de 18 años) con tumor sólido metastásico o localmente avanzado que no respondía a los tratamientos convencionales. 8/70 pacientes presentaban fusión NTRK, el resto (62/70), no.

Los criterios de inclusión fueron: ECOG 0-2, esperanza de vida de al menos 3 meses, función orgánica adecuada, recuento de neutrófilos superior a $1,5 \times 10^9$, recuento plaquetario superior a 10^5 , ALT y AST inferior a 2,5, bilirrubina total menor a 1,5 y FG superior a 30 ml/min. Al igual que en el estudio anterior, la fusión NTRK no se consideró criterio de inclusión. Los criterios de exclusión fueron: haber recibido terapia experimental o anticancerosa durante las dos semanas previas, cirugía mayor las 4 semanas previas, enfermedad cardiovascular significativa o antecedente de infarto cardíaco e infección sistémica activa no controlada.

Los pacientes se repartieron en 6 cohortes según un esquema estándar de escalada de dosis 3+3: cohorte 1 (n=4) 50 mg QD (dosis diaria), cohorte 2 (n=5) 100 mg QD, cohorte 3 (N=43) 100 mg b.i.d. (dos dosis diarias), cohorte 3a (n =4) 200 mg QD, cohorte 4 (n=7) 150 mg b.i.d., cohorte 5 (n = 6) 200 mg b.i.d.. La dosis de inicio fue de 50 mg diarios. Se administró vía oral en una dosis diaria (QD) o en dos dosis diarias (b.i.d.) durante ciclos de 28 días.

La mayoría de efectos adversos fueron grado 1-2 y no se observó ningún efecto adverso grado 4 o 5. Los efectos adversos más comunes de cualquier grado fueron fatiga (33/70 pacientes), mareo (22/70 pacientes) y anemia (22/70 pacientes). Se detectaron efectos adversos grado 3 en 42/70 pacientes (60%), los más frecuentes fueron: anemia, fatiga y aumento de AST. 3/70 pacientes (4%) abandonaron el tratamiento por efectos adversos relacionados con el

Larotrectinib: aumento de la amilasa, fístula enterocutánea, aumento de la lipasa y debilidad muscular (ninguno de estos pacientes tenía tumores con tumor NTRK positivo). 30/70 pacientes (43%) tuvieron que modificar la dosis o interrumpir el tratamiento por efectos adversos: mareo (5 pacientes, 7%), aumento de AST (3 pacientes, 4%) y pirexia (3 pacientes, 4%). No se encontró diferencia de toxicidad en pacientes con fusión NTRK positivo y pacientes con NTRK negativo. Con todo ello, no se alcanzó la MDT (máxima dosis tolerada), pero se estableció el régimen recomendado para ensayos fase dos como dos dosis diarias de 100 mg de Larotrectinib vía oral.

La respuesta se valoró en todos los pacientes mediante pruebas de imagen con el modelo RECIST antes del tratamiento (basal) y día 1 tras cada ciclo. A los pacientes con antecedentes de metástasis cerebral se les añadió un TAC/RMN. En cuanto a la eficacia del fármaco 8/8 (100%) de los pacientes con tumor NTRK+ presentaron respuesta objetiva (2 completa, 6 parcial). También aparecieron 2 recaídas por resistencia al Larotrectinib y un paciente con metástasis cerebral mejoró clínicamente (se supone la capacidad del fármaco para penetrar en la barrera hematoencefálica).

2.3. EFICACIA DEL LAROTRECTINIB^[15]

Posteriormente, de marzo de 2015 a julio de 2017, se desarrolló un estudio (Drillon A NEJM) con datos recogidos a partir de los dos ensayos clínicos mencionados anteriormente (NCT02122913, NCT02637687), y un nuevo ensayo clínico (NCT02576431) con el objetivo de determinar la ORR (overall response ratio) del Larotrectinib tanto en pacientes adultos como pediátricos con tumores sólidos avanzados o metastásicos que no responden a los tratamientos convencionales. En este estudio la fusión NTRK fue criterio de inclusión. Se reclutó un total de 55 pacientes (todos con fusión NTRK) entre los cuales hubo 17 tipos de tumores distintos. La mediana de edad fue de 45 años (rango, 0'3 a 76 años). La pauta de tratamiento fue la descrita en el estudio anterior: 2 dosis diarias de 100 mg de Larotrectinib oral durante ciclos de 28 días para pacientes adultos y niños con superficie corporal mayor a 1m². Para niños con superficie corporal menor a 1m² se estableció una dosis de 100mg/m². La respuesta se valoró mediante pruebas de imagen (TAC y RMN) siguiendo el modelo RECIST. Se realizó un examen basal, un examen cada 8 semanas durante el primer año y un examen cada 12 semanas tras el primer año hasta la progresión de la enfermedad. Los efectos adversos se describieron

en función del “National Cancer Institute Common Terminology Criteria for Adverse Events” durante todo el estudio y hasta 28 días tras la última dosis de Larotrectinib. La ORR se estableció en 75% según la revisión radiológica independiente, y en 80% según el investigador local. De los 55 pacientes estudiados: 8 pacientes (13%) presentaron respuesta completa, 34 pacientes (62%) respuesta parcial, 7 pacientes (13%) enfermedad estable, 5 pacientes (9%) enfermedad progresiva y 2 pacientes (4%) no pudieron ser evaluados. Además se estableció la mediana de tiempo hasta respuesta en 1.8 meses (rango, 0.9 a 6.4). No se alcanzaron los siguientes parámetros: mediana de duración de la respuesta y mediana de supervivencia libre de progresión; tras una mediana de seguimiento de 8.3 y 9.9 meses, respectivamente. Esto es debido a que durante el tiempo en que se siguieron a los pacientes la sobrevivieron más de la mitad de ellos.

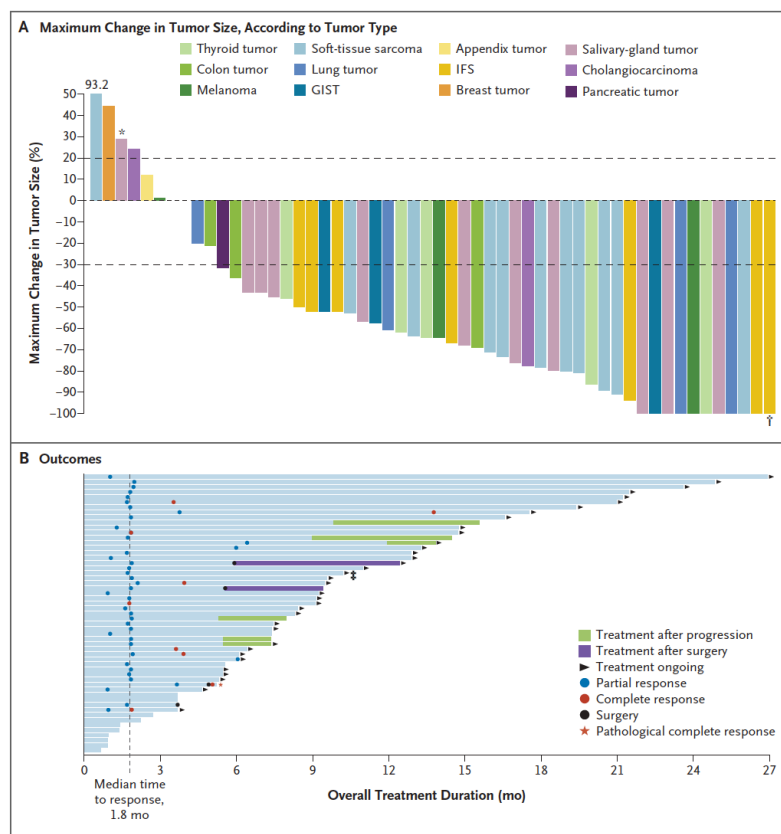


Figura 12.- Imagen A: Diagrama de cascada en el que se observa el cambio del tamaño máximo del tumor medido en porcentajes. Imagen B: Diagrama de nadador en el que aparece la duración de la respuesta al tratamiento.

Drilon A, Laetsch T, Kummar S, DuBois S, Lassen U, Demetri G et al. Efficacy of Larotrectinib in *TRK*-Fusion-Positive Cancers in Adults and Children. *New England Journal of Medicine*. 2018;378(8):731-739.

2.4. AMPLIACIÓN DE ESTUDIOS PREVIOS SOBRE LA EFICACIA DEL LAROTRECTINIB^[16]

Una vez establecida la eficacia del Larotrectinib contra tumores NTRK positivo, en febrero de 2019 se realizó otro estudio (Hong DS Lancet Oncol 2020) basado en los ensayos clínicos ya mencionados (NCT02122913, NCT02637687, NCT02576431) con el objetivo de solventar las limitaciones del estudio anterior: no se alcanzó la mediana de duración de la respuesta ni la mediana de supervivencia libre de enfermedad, hubo poca representación de muchos cánceres comunes (pulmón, melanoma, colon y mama) y se desconocía la seguridad a largo plazo. Para ello, se recogió información del estudio anterior (n=55 pacientes), se amplió (n=159 pacientes NTRK positivos) y se añadió una población de control (n=260 pacientes independientemente de fusión NTRK) para determinar la seguridad del fármaco. Se estableció un ORR de 79%. De los 153 pacientes evaluados (todos fusión NTRK positivo): 24 (16%) mostraron respuesta completa, 97 (63%) parcial, 19 (12%) estable, 9 (6%) progresión y 4(3%) no pudieron ser evaluados. Se observó respuesta independientemente del tipo de tumor y de la edad de los pacientes: 74 (73%) de los 102 pacientes adultos y 47 (52%) de los 51 pacientes pediátricos. A diferencia del estudio, se pudo establecer: la mediana de tiempo hasta respuesta en 1'8 meses (rango, 0'9 a 6'1), la mediana de duración de respuesta en 35'2 meses, la mediana de supervivencia libre de progresión en 28'3 meses, la mediana de supervivencia global en 44'4 meses y la mediana de seguimiento en 12'9 meses.

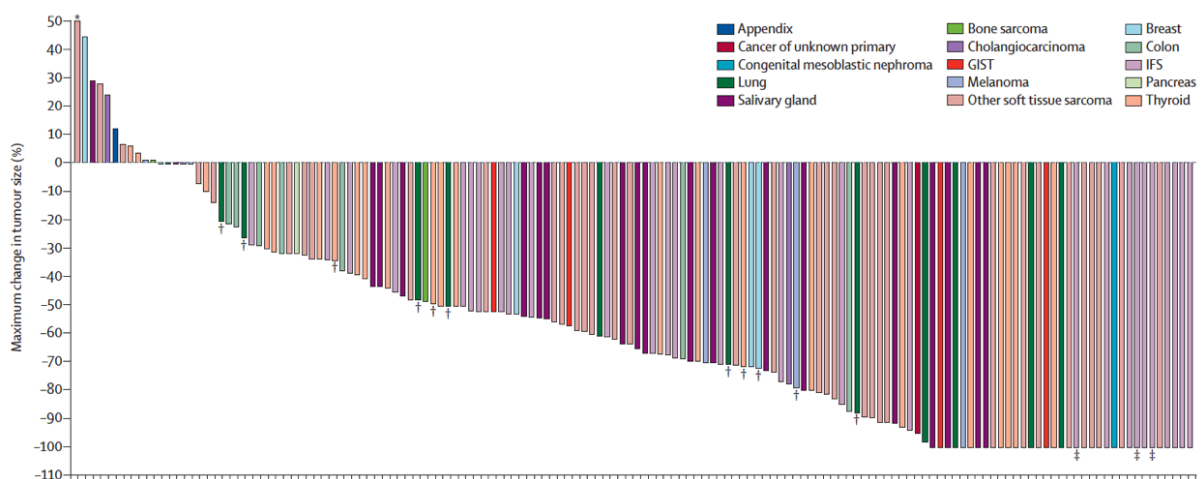


Figura 13.- Diagrama de cascada en el que se observa el cambio del tamaño máximo del tumor medido en porcentajes.

Hong D, DuBois S, Kummar S, Farago A, Albert C, Rohrberg K et al. Larotrectinib in patients with TRK fusion-positive solid tumours: a pooled analysis of three phase 1/2 clinical trials. *The Lancet Oncology*. 2020;21(4):531-540.

2.5. EFICACIA DEL LAROTRECTINIB EN PACIENTES PREVIAMENTE TRATADOS CON OTRAS TERAPIAS^[17]

Una vez establecida la eficacia del Larotrectinib para tratar tumores con fusión NTRK se realizó un estudio (Bokemeyer) en el que se buscaba determinar si el curso clínico de la enfermedad previa al tratamiento o si haber recibido terapia anterior influía en la eficacia del tratamiento con Larotrectinib. Para ello se recogieron datos de la historia clínica de los pacientes que participaron en los ensayos anteriores. La población final de estudio se compuso de 153 pacientes, con 19 tumores de diferente histología. Se dividieron los pacientes en cohortes en función de las líneas previas de tratamiento: 0 (n=36), 1-2 (n=84) y 3 o más terapias previas (n=44); y en función del tiempo desde la enfermedad avanzada o metastásica hasta que se inició el tratamiento con Larotrectinib: corto (< 3'5 meses), medio (3'5-15'7 meses) o largo (> 15'7 meses) (n=51 en cada cohorte).

En cuanto al análisis por terapia previa, las dos primeras cohortes (0 y 1-2) presentaron características parecidas pero los pacientes de la tercera cohorte (3 o más) mostraron un peor ECOG y mayor edad. Asimismo, la mutación NTRK3 fue más común en pacientes con 0 terapias previas y la mutación NTRK1, en pacientes con 1-2 y 3 o más terapias previas.

En relación al análisis por tiempo desde el diagnóstico hasta el tratamiento, más de la mitad de los pacientes en la cohorte de corta duración fueron niños. Así pues, la mutación NTRK3 era más común en la cohorte corta y la mutación NTRK1, en la cohorte media y larga.

En conclusión, los pacientes tratados con Larotrectinib tuvieron buena tasa de respuesta global independientemente de las terapias previas o la duración de la enfermedad avanzada o metastásica.

2.6. USO DEL LAROTRECTINIB COMO TERAPIA NEOADYUVANTE EN NIÑOS CON SARCOMA LOCALMENTE AVANZADO^[18]

En el ensayo clínico NCT02637687 (fase I) 5 de los 24 niños tratados con Larotrectinib tenían sarcoma de tejido blando fusión NTRK positivo y fueron sometidos a una resección quirúrgica durante la terapia. Así pues, en 2018 se analizaron los datos de estos pacientes para determinar

la eficacia del Larotrectinib como terapia neoadyuvante en pacientes sometidos a resección quirúrgica.

En este estudio (DuBois Cancer 2018) participaron 5 niños con tumores sólidos NTRK+: 3 con fibrosarcoma infantil y 2 con otro tipo de sarcoma de tejido blando. La mediana de edad del grupo de estudio fue 2 años (rango, 0'4 - 14 años). Los criterios de inclusión fueron: no respuesta a terapia convencional, enfermedad progresiva o recurrente tras terapia convencional, terapia convencional no disponible y tumor avanzado que hubiera requerido cirugía mutilante. Otros criterios adicionales fueron: fusión NTRK positivo, sarcoma localmente avanzado, no metástasis conocida y no intento de resección quirúrgica del sarcoma previo.

En cuanto al diseño de estudio, los pacientes recibieron Larotrectinib oral dos veces al día según el protocolo del ensayo original (NCT02637687). Se llevó a cabo una evaluación al inicio de cada ciclo durante los primeros 12 ciclos. Se practicó la resección quirúrgica del tumor cuando el investigador consideró que el tumor del paciente pudiera ser resecado sin cirugía mutilante o amputaciones. Se suspendió el Larotrectinib 24 horas antes de la cirugía y pudo retomarse 48 horas tras la intervención. Los pacientes que suspendieron el Larotrectinib continuaron en seguimiento para el estudio y pudieron retomar Larotrectinib en caso de recurrencia de enfermedad.

La respuesta al tratamiento se valoró según RECIST. Los efectos adversos fueron recogidos según the National Cancer Institute's Common Terminology Criteria for Adverse Events. La valoración quirúrgica fue llevada a cabo por un oncólogo ortopédico (central) mientras que la respuesta patológica tumoral y los márgenes quirúrgicos fueron valorados según el protocolo de cada hospital en que se llevó a cabo la operación (local). En cuanto al código de márgenes tumorales, se empleó el International Union Against Cancer TNM Classification of Malignant Tumours: R0 (márgenes negativos), R1 (residuo tumoral microscópico) y R2 (residuo tumoral macroscópico)

En relación a los resultados, todos los pacientes mostraron respuesta: 3 pacientes con respuesta completa (2) o casi completa (1) y recibieron cirugía tras una mediana de 6 ciclos (4-9). Los márgenes tumorales fueron: R0 en 3 pacientes, R1 en 1 paciente y R2 en 1 paciente. Los 2 pacientes con tumor viable en el momento de cirugía continuaron con Larotrectinib tras la

intervención. Ningún paciente mostró complicaciones postoperatorias o problemas de curación de heridas.

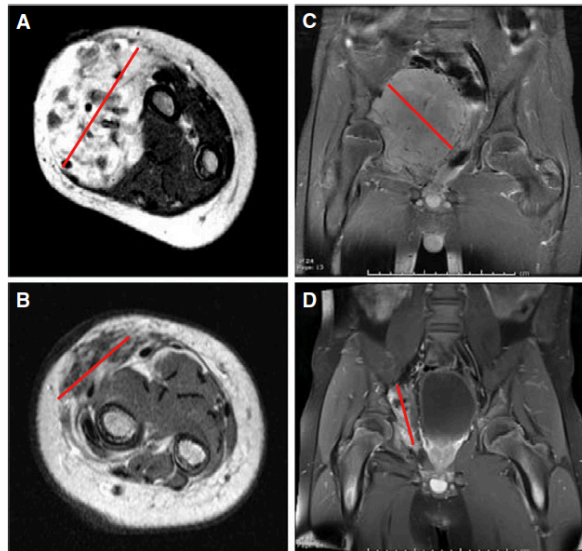


Figura 14. - Imagen A: Resonancia magnética en T1 con gadolinio obtenidas antes del tratamiento con Larotrectinib en fibrosarcoma infantil en antebrazo con fusión del ETV6-NTRK 3. Imagen B: Evolución de la imagen A tras 6 ciclos de Larotrectinib. Imagen C: Resonancia magnética en T1 con gadolinio de sarcoma de células en pelvis con fusión TPM3-NTRK1. Imagen D: Evolución de la imagen C tras 9 ciclos de Larotrectinib.

Laetsch T, DuBois S, Mascarenhas L, Turpin B, Federman N, Albert C et al. Larotrectinib for paediatric solid tumours harbouring NTRK gene fusions: phase 1 results from a multicentre, open-label, phase 1/2 study. *The Lancet Oncology*. 2018;19(5):705-714.

En referencia a las limitaciones del estudio, la cohorte solo incluyó 5 pacientes, el seguimiento fue limitado, existieron dificultades técnicas para distinguir entre tejido tumoral y tejido cicatricial (los márgenes quirúrgicos R0 podrían haber sido realmente R1) y todavía no existen datos de los efectos a largo plazo del Larotrectinib en niños (el primer paciente pediátrico tratado con Larotrectinib fue en diciembre de 2015).

Así pues, se demostró la utilidad del Larotrectinib como terapia neoadyuvante en niños con sarcoma. El fármaco consiguió convertir tumores irresecables en resecables. No se hallaron problemas de curación de heridas asociados a Larotrectinib pero sí se descubrió que el Larotrectinib provoca cambios en el tumor (pleomorfismo celular, disminución límites tumorales, inflamación y fibrosis del lecho tumoral). Aun así, la necrosis franca del tumor no fue hallada tan frecuentemente.

2.7. TRATAMIENTO CON LAROTRECTINIB EN PACIENTES CON TUMOR DE GLÁNDULA SALIVAL FUSIÓN NTRK POSITIVO ^[19]

En mayo de 2022 se publicó un estudio (Xiung Le The Oncologist 2022) con el objeto de describir la eficacia y seguridad del Larotrectinib en pacientes con cáncer de glándula salival NTRK positivo. Se seleccionaron pacientes con tumor de glándula salival NTRK positivo a partir de los ensayos clínicos disponibles hasta el momento: NCT02122913, NCT02576431 y NCT02637687. Ningún paciente del ensayo clínico NCT02637687 participó en este estudio porque ninguno presentaba tumor de glándula salival. En este estudio participaron un total de 24 pacientes con cáncer de glándula salival NTRK positivo. Cabe mencionar que todos estos pacientes presentaban la misma mutación: ETV6-NTRK3, que parece ser patognomónica de esta clase de tumores. Las histologías que se incluyeron en este estudio fueron: carcinoma secretor (54%), adenocarcinoma (25%) y carcinoma mucoepidermoide (13%). Del total de pacientes, 23 pacientes (93%) habían recibido cirugía previa, 20 pacientes (83%), radioterapia y 12 (50%), terapia sistémica previa. La mediana de tiempo desde el diagnóstico inicial fue 7'4 años y al inicio del estudio el 92% de los pacientes presentaba metástasis.

En relación a los criterios de inclusión, éstos fueron parecidos a los de estudios previos: tumor sólido NTRK positivo localmente avanzado o metastásico, haber recibido terapia estándar previa (si disponible), ECOG 0-3 y función orgánica adecuado; con la excepción de que todos debían ser tumor glándula salival.

En cuanto al régimen de tratamiento, los pacientes recibieron dos dosis diarias de 100 mg de Larotrectinib, excepto un paciente que empezó con dos dosis de 150 mg al día. Se administró de manera continuada en ciclos de 28 días hasta progresión de la enfermedad, aparición de efectos adversos inaceptables o abandono del estudio por parte del paciente.

Para evaluar los resultados se llevó a cabo un escáner TAC o RMN basal al inicio del estudio, otro cada 8 semanas durante el primer año y, finalmente, cada 12 semanas hasta progresión de la enfermedad. La respuesta al tratamiento se valoró según el RECIST y los efectos adversos se describieron siguiendo la National Cancer Institute Common Terminology Criteria for Adverse Events. Los efectos adversos se recogieron desde la firma del consentimiento informado hasta 28 días después de la última dosis de Larotrectinib.

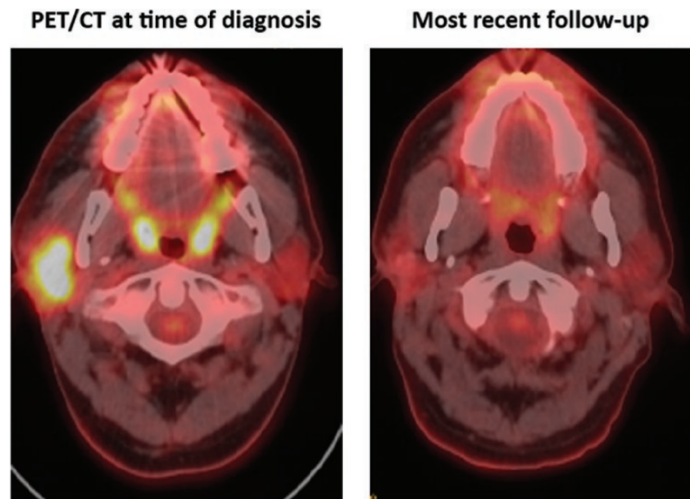


Figura 15.- PET/TC que muestra la Respuesta a Larotrectinib en paciente con carcinoma de glándula salival con fusión ETV6-NTRK3.

Le X, Baik C, Bauman J, Gilbert J, Brose M, Grilley-Olson J et al. Larotrectinib Treatment for Patients With TRK Fusion-Positive Salivary Gland Cancers. *The Oncologist*. 2022,;

En referencia a los resultados, la ratio de respuesta global (ORR) fue de 92% (95% CI,73-99): 3 pacientes (13%) respuesta completa, 19 pacientes (79%) respuesta parcial y 2 pacientes (8%) progresión de enfermedad. La ORR fue del 85% para pacientes con carcinoma secretor (n=13) y 100% para pacientes con tumor de glándula salival no secretor. La mediana de tiempo hasta la respuesta fue de 1'8 meses (rango, 1-6 meses). Con un seguimiento de 30,9 meses no se alcanzó la mediana de supervivencia libre de progresión. Con todo ello, la ratio de supervivencia libre de progresión fue 87%, 78% y 66% a los 12, 24 y 36 meses, respectivamente.

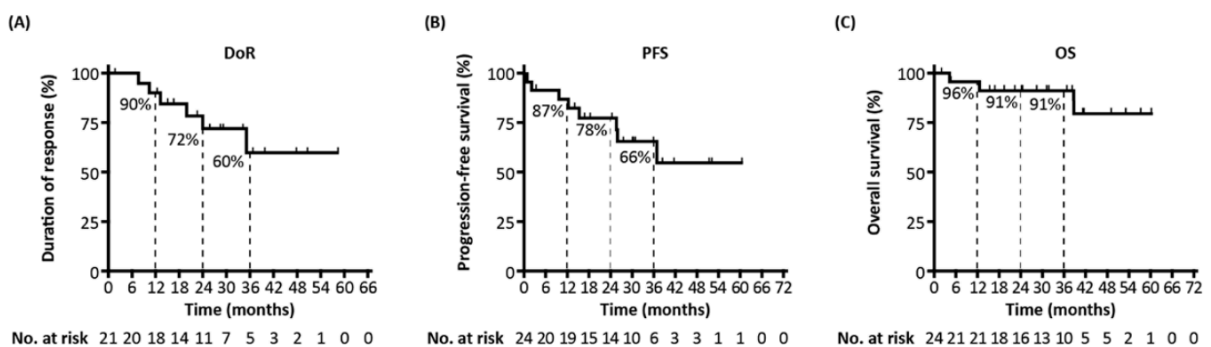


Figura 16.- Gráfico de Kaplan-Meier de la duración de respuesta, progresión libre de enfermedad, y supervivencia global en pacientes con cáncer de glándula salival positivos para fusión NTRK tratados con Larotrectinib. (A) Duración de respuesta, (B) progresión libre de enfermedad, (C) supervivencia global.

Le X, Baik C, Bauman J, Gilbert J, Brose M, Grilley-Olson J et al. Larotrectinib Treatment for Patients With TRK Fusion-Positive Salivary Gland Cancers. *The Oncologist*. 2022,;

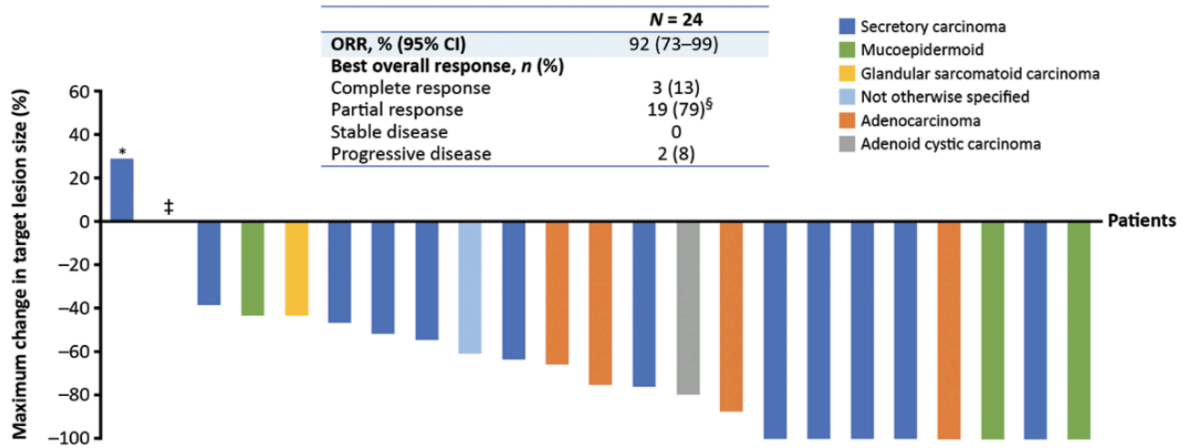


Figura 17.- Gráfico en cascada del cambio máximo en las lesiones diana después del tratamiento con Larotrectinib en pacientes con cánceres de glándulas salivales fusión positiva NTRK. (*) El paciente tenía una mutación de resistencia al inicio del estudio debido a la terapia previa con entrectinib. (‡) Un paciente con carcinoma secretor tuvo un cambio máximo del 0 % desde el inicio. (§) Pendiente confirmación de respuesta parcial en un paciente.

Le X, Baik C, Bauman J, Gilbert J, Brose M, Grilley-Olson J et al. Larotrectinib Treatment for Patients With TRK Fusion-Positive Salivary Gland Cancers. The Oncologist. 2022;.

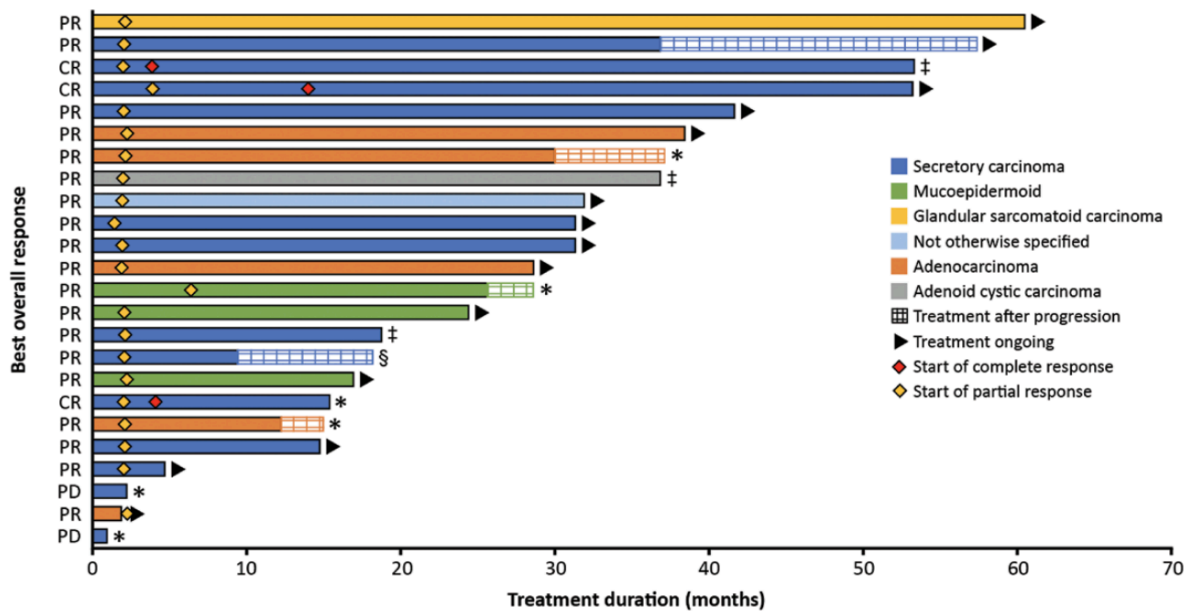


Figura 18.- Duración del tratamiento. Diagrama de nadador de la duración del tratamiento en pacientes con cánceres de glándulas salivales positivos para la fusión NTRK tratados con Larotrectinib. *Suspensión del tratamiento por progresión de la enfermedad. ‡ Suspensión del tratamiento por decisión del médico o del paciente. § Suspensión del tratamiento debido a desviación del protocolo.

Le X, Baik C, Bauman J, Gilbert J, Brose M, Grilley-Olson J et al. Larotrectinib Treatment for Patients With TRK Fusion-Positive Salivary Gland Cancers. The Oncologist. 2022;.

En general los efectos adversos fueron bien tolerados y ocurrieron en el 30% de los pacientes. Los más frecuentes fueron aumento de ALT y AST, mareo, estreñimiento, fatiga, mialgia, tos y náusea. La mayoría fueron grado 1-2. Seis pacientes (25%) sufrieron EA grado 3-4 y no hubo EA grado 5. Así pues, ningún paciente tuvo que abandonar el tratamiento por efectos adversos.

En definitiva, con este estudio se demuestra una vez más la actividad del Larotrectinib para tumores NTRK positivo, en particular tumores de glándula salival de diferente histología. Durante este estudio tampoco se descubren efectos adversos inesperados. Cabe destacar la mutación ETV6-NTRK3 presente en el 100% de los pacientes de este estudio y en más del 90% de los carcinomas secretores de glándula salival. Estos resultados justifican el screening de mutaciones NTRK en pacientes con cáncer de glándula salival avanzado para identificar a aquellos que potencialmente se puedan beneficiar del Larotrectinib.

3. ENTRECTINIB

3.1. POTENCIAL DEL ENTRECTINIB PARA TRATAR TUMORES CON FUSIONES NTRK^[20]

Durante octubre de 2012 y marzo de 2016 se llevó a cabo un estudio (Drillon A Cancer Discov 2017) a partir de dos ensayos clínicos fase I: ALKA-372-001(54 pacientes) y STRARTRK-1 (65 pacientes) con el objetivo de determinar la seguridad y eficacia del entrectinib. El grupo de estudio constó de un total de 119 pacientes con una mediana de edad de 55 años (rango, 18-80 años). El 96% de los pacientes (n=114/119) presentaba un ECOG 0-1 y el 83% (98/119) había recibido 3 o más líneas de tratamiento previas. Los tumores más frecuentes fueron: NSCLC (n=71/119, 60%) y tumor gastrointestinal (18/119, 15%). 60 pacientes presentaban mutaciones genéticas en NTRK1, NTRK2, NTRK3, ROS1 o ALK y únicamente 4 pacientes mostraban fusiones NTRK, detectadas mediante NGS.

Los criterios de inclusión para este estudio fueron: tumor sólido avanzado o metastásico refractario al tratamiento convencional o para el que no hay tratamiento estándar, ECOG menor o igual a 2, esperanza de vida mayor o igual a 3 meses y función orgánica adecuada.

En cuanto a la pauta de tratamiento, ambos ensayos clínicos se iniciaron con una dosis de 100mg/m² y se escaló siguiendo el esquema 3+3. Sin embargo, el esquema de tratamiento era diferente en cada ensayo clínico. En ALKA-372-001 los pacientes siguieron 3 esquemas: esquema A (n=19) en ayunas, 4 días Entrectinib/ 3 días off durante 21 de 28 días; esquema B (n=29) con comida, dosis diaria continua durante 28 días y esquema C (n=6) con comida, 4 días Entrectinib/ 3 días off durante 28 días. Mientras que en STARKTRK-1 todos los pacientes recibieron una dosis diaria continua durante 28 días.

Asimismo, la seguridad fue evaluada desde la primera dosis hasta 30 días tras la última dosis de entrectinib o la resolución de la toxicidad relacionada con el fármaco. Se realizaron exámenes clínicos y de laboratorio semanales durante los primeros dos ciclos y semanal y bisemanal a partir de un año de tratamiento (ALKA) o bisemanal (STARTRK). La evaluación incluye también un examen de laboratorio (hemograma, coagulación y análisis de orina) y un ECG 12 derivaciones basal y en el momento que se alcanza la concentración estable en plasma (3-6 horas tras la toma) así como un TAC/RMN (RECIST) al final del 2 ciclo y posteriormente cada 8 semanas.

En relación a los efectos adversos, los más frecuentes fueron: fatiga/astenia (46%; n = 55/119), disgeusia (42%; n=50/119), parestesias, (29%; n=34/119), náuseas (28%; n=33/119) y mialgias (23%; n=27/119). La mayoría fueron grados 1 y 2 y se pudieron solucionar con reducción de dosis, que fue necesaria en 18/119 pacientes (15%). No se encontraron DLT (toxicidad limitante de dosis) en ALKA 372-001 pero aparecieron 2 DLT en STARTRK-1 con dosis diaria de 800mg. Ambos se resolvieron con interrupción de dosis. Otros efectos adversos más graves pero menos frecuentes fueron alteración cognitiva grado 3 y fatiga grado 3. El único efecto adverso grado 4 fue miocarditis eosinofílica y no apareció ningún efecto adverso grado 5.

Por otra parte, en este estudio se evaluó la actividad antitumoral del fármaco. No se encontró respuesta en aquellos pacientes sin mutaciones NTRK1, NTRK2, NTRK3, ROS1 o ALK evaluada por el método RECIST así que se determina que la población idónea para estudios fase II son aquellos pacientes con mutaciones en estos genes. De estos 60 pacientes 5 recibieron una dosis inferior a la terapéutica. De los 55 restantes 25 habían recibido terapia anti tirosin quinasa previa. De los 30 pacientes restantes solo 25 fueron evaluados: 24 con tumores sólidos extracraneales y uno con tumor glioneuronal. La ORR fue de 86% (60-96, 95% CI) para los pacientes con tumores sólidos ROS1, 57% (25-84, CI 95%) para los pacientes con tumores

sólidos ALK y 100% para los pacientes con tumores sólidos NTRK. La mediana de supervivencia fue de 19 meses para ROS1, 8'3 meses para ALK y no se alcanzó para los tumores NTRK. 8/25 pacientes (32%) presentaban tumor primario o metastásico del SNC previo al tratamiento con entrectinib. 5/8 pacientes (68%) mostraron respuesta. Cabe destacar un paciente con NSCLC NTRK positivo que presentaba 15-20 metástasis cerebrales que no habían sido irradiadas previamente y mostró una respuesta completa al tratamiento. Este paciente continuaba recibiendo Entrectinib al momento de finalizarse el estudio, 15 meses.

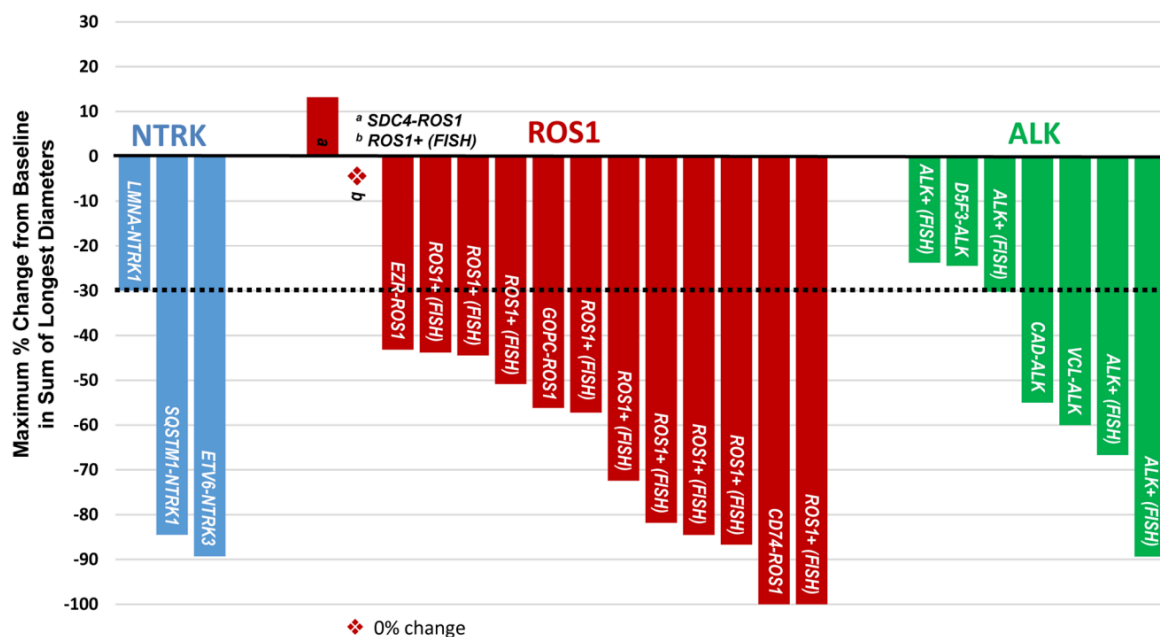


Figura 19.- Respuesta a Entrectinib en pacientes con tumor sólido extracerebral sin tratamiento previo con inhibidores tirosin quinasa

Drilon A, Siena S, Ou S, Patel M, Ahn M, Lee J et al. Safety and Antitumor Activity of the Multitargeted Pan-TRK, ROS1, and ALK Inhibitor Entrectinib: Combined Results from Two Phase I Trials (ALKA-372-001 and STARTRK-1). *Cancer Discovery*. 2017;7(4):400-409.

En definitiva, en este estudio no se encuentran diferencias significativas entre los esquemas de tratamiento continuo e intermitente de Entrectinib. Además, se demuestra el potencial del Entrectinib para tratar tumores sólidos con fusiones NTRK.

3.2. EFECTIVIDAD DEL ENTRECTINIB CONTRA TUMORES NTRK^[21]

En 2020 se realizó un nuevo estudio (Doebele RC *Lancet Oncol* 2020) con Entrectinib reclutando a pacientes de los ensayos clínicos previos: ALKA-372-001 y STARTRK-1 y se añadió un ensayo clínico nuevo: STARTRK-2. Los objetivos principales de este estudio eran

evaluar la respuesta objetiva y la duración de la respuesta del Entrectinib en los pacientes de estos tres ensayos clínicos. Los objetivos secundarios fueron determinar: la supervivencia libre de progresión, la supervivencia global, el beneficio clínico, el tiempo hasta la progresión al SNC y la seguridad del fármaco. Esta vez todos los pacientes (54) presentaban tumores sólidos localmente avanzados o metastásicos con mutación NTRK positiva. En total había 10 tipos de tumores diferentes con 19 histologías distintas. Los más comunes fueron: sarcoma 13 (24%), NSCLC 10 (19%) y carcinoma análogo secretor de la glándula mamaria 7 (13%).

Los criterios de inclusión fueron: pacientes mayores de edad (18 años) con tumor sólido NTRK+ metastásico o localmente avanzado (los ensayos clínicos reclutaron pacientes con mutaciones ROS1 o ALK pero no se incluyen en este estudio), enfermedad evaluable según RECIST, no terapia previa con anti NTRK (sí podían haber recibido otros tratamientos antineoplásicos) y haber recibido como mínimo una dosis de Entrectinib por encima de la establecida en los estudios fase II: 600 mg diarios. Además se incluyeron pacientes con diseminación en el SNC siempre y cuando sus síntomas estuvieran controlados o fuera asintomática. Estos pacientes podían continuar con esteroides si los necesitaban pero la dosis debía ser estable o decreciente mínimo dos semanas antes de empezar con Larotrectinib.

Por otra parte, los criterios de exclusión fueron: antecedentes de otra neoplasia o malignidad activa secundaria, intervalo QTc alargado, infección activa, enfermedad gastrointestinal, enfermedad pulmonar intersticial, fibrosis intersticial, antecedentes de neumonitis provocada por inhibidores de la tirosin kinasa o neuropatía periférica grado 2 o peor.

En relación al esquema de tratamiento, los pacientes del ensayo ALKA-372-001 recibieron cápsulas de 100 mg, 200 mg, 400 mg, 800 mg, 1200 mg, o 1600 mg diarias de manera continua o intermitente; los pacientes del STARTRK-1, cápsulas de 100 mg, 200 mg, 400 mg, 600 mg o 800 mg en diarias de manera continua y los pacientes del STARTRK-2, cápsulas de 600 mg en diarias de manera continua. En todos los ensayos el tratamiento debía ser interrumpido en caso de aparecer progresión radiológica, toxicidad no aceptable o revocación del consentimiento.

En cuanto la evaluación de los resultados, la respuesta tumoral se evaluó mediante TAC o RMN. El estudio inicial incluía un escáner cerebral durante los 30 primeros días tras la primera dosis de entrectinib. Posteriormente, se volvió a evaluar al final del primer ciclo (4 semanas) y

luego cada 8 semanas o siempre que apareciera empeoramiento de la clínica. En caso de haberse detectado diseminación en el SNC en el estudio inicial se añadió un escáner del cerebro al esquema anterior. Los escáneres cerebrales en los pacientes libres de diseminación en el SNC se realizaron en función de la evolución clínica. La seguridad del fármaco fue valorada mediante exámenes físicos, analíticas y recogida de efectos adversos según el código del Medical Dictionary for Regulatory Activities y el grado según el National Center institute Common Terminology Criteria for Adverse Events.

Los resultados de este estudio fueron los siguientes. 31 pacientes (57%) mostraron respuesta objetiva: 4 (7%) respuesta completa y 27 (50%) respuesta parcial. Además 9 pacientes (17%) presentaron enfermedad estable. Asimismo, no se encontraron diferencias significativas entre la respuesta de pacientes con mutación NTRK1 13/22 (59%) frente a los de NTRK3 18/31 (58%). El único paciente con fusión NTRK2 no mostró respuesta al Entrectinib. También apareció respuesta en todos los tipos de tumores. Con todo ello, la mediana de duración de respuesta fue de 10 meses y la mediana de la duración de la supervivencia libre de progresión, 11 meses.

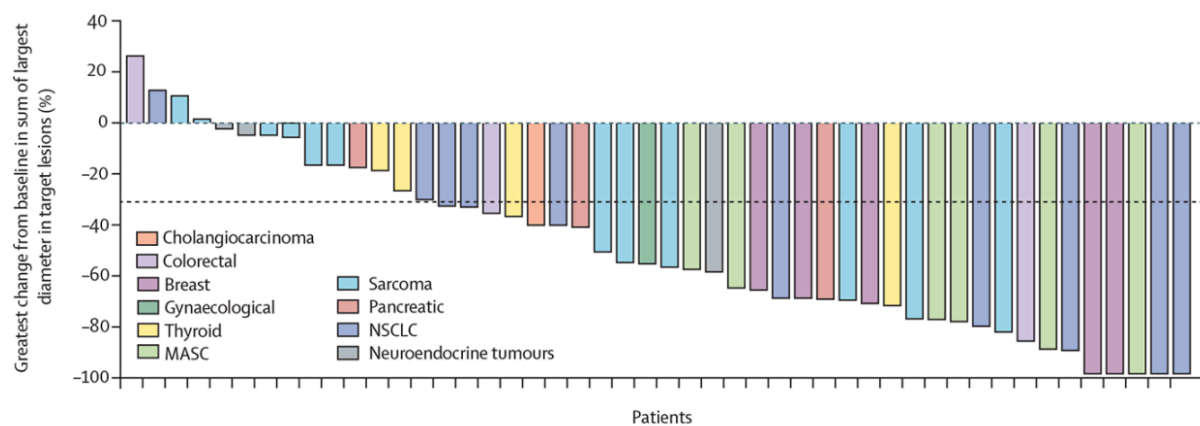


Figura 20.- Respuesta individual a Entrectinib en función del tipo de tumor. La línea horizontal discontinua en la figura representa la reducción mínima del 30 % en las lesiones diana que define una respuesta objetiva.

Doebele R, Drilon A, Paz-Ares L, Siena S, Shaw A, Farago A et al. Entrectinib in patients with advanced or metastatic NTRK fusion-positive solid tumours: integrated analysis of three phase 1–2 trials. *The Lancet Oncology*. 2020;21(2):271-282.

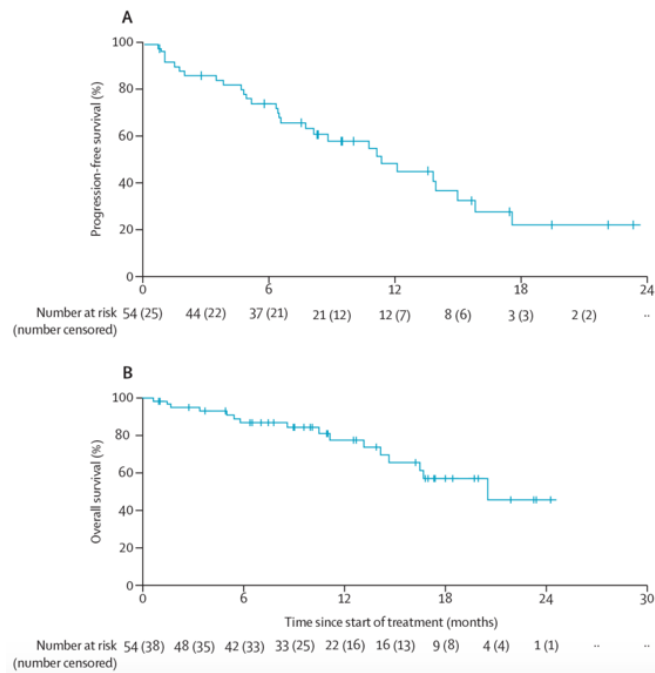


Figura 21.- Análisis de tiempo hasta evento

Doebele R, Drilon A, Paz-Ares L, Siena S, Shaw A, Farago A et al. Entrectinib in patients with advanced or metastatic NTRK fusion-positive solid tumours: integrated analysis of three phase 1–2 trials. *The Lancet Oncology*. 2020;21(2):271-282.

Otro aspecto de interés del estudio fue la actividad intracraneal del fármaco. Al inicio de estudio se detectó enfermedad del SNC en 12 pacientes (22%) de los 54. 6 de ellos (50%) mostraron respuesta parcial y 4 (33%), enfermedad estable. La respuesta al Entrectinib fue parecida en el grupo de pacientes sin enfermedad del SNC. Por otra parte, a lo largo del estudio, 17 pacientes presentaron diseminación al SNC. La mediana de tiempo hasta la progresión al SNC fue de 17 meses.

En conclusión, la proporción de respuesta objetiva fue similar en pacientes sin o con enfermedad intracraneal, 57% y 55% respectivamente. La mediana de supervivencia libre de progresión fue de 11 meses y la mediana de duración de respuesta, 10 meses. Por lo tanto, se demuestra la efectividad del Entrectinib para tratar tumores sólidos NTRK positivos y su actividad intracraneal.

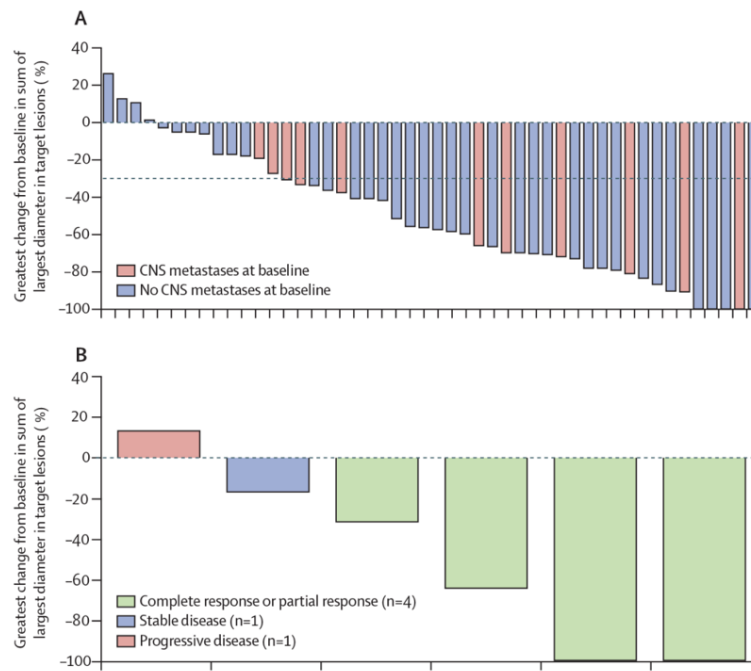


Figura 22.- Respuesta en ausencia o presencia de metástasis en SNC

Doebele R, Drilon A, Paz-Ares L, Siena S, Shaw A, Farago A et al. Entrectinib in patients with advanced or metastatic NTRK fusion-positive solid tumours: integrated analysis of three phase 1–2 trials. *The Lancet Oncology*. 2020;21(2):271-282.

4. COMPARATIVA LAROTRECTINIB Y ENTRECTINIB^[22]

En agosto de 2020 se llevó a cabo un estudio histórico comparativo de la eficacia a largo plazo del Larotrectinib y Entrectinib para el tratamiento de NSCLC metastásico fusión NTRK positivo (Roth J, *Journal of Managed Care* 2020). Se recogieron datos sobre la supervivencia global y la supervivencia libre de progresión de 12 pacientes tratados con Larotrectinib a partir de los ensayos clínicos NCT02122913 y NCT02576431 y de 10 pacientes tratados con Entrectinib a partir de los ensayos clínicos ALKA-372-001, STARTRK-1 y STARTRK-2. Todos los pacientes presentaron NSCLC metastásico con fusión NTRK positiva y la mediana de seguimiento fue de 13 meses. Para analizar estos datos se aplicaron curvas paramétricas de supervivencia con el fin de obtener la proporción de supervivencia y la media de esperanza de vida a los 3, 5 y 10 años sobre una vida completa.

Los resultados de este estudio fueron que la media de supervivencia libre de progresión fue de 5,4 años y 1,4 años respectivamente y los años de vida totales 7 y 1,8 para el Larotrectinib y Entrectinib, respectivamente.

Las principales limitaciones del estudio fueron que no se trata de un ensayo clínico aleatorizado, así como el corto tiempo de seguimiento y el pequeño tamaño muestral. Para solventar estas dos últimas se establecieron 3 posibles escenarios: supervivencia del Larotrectinib un 30% menor, supervivencia del Entrectinib un 30% mayor y la combinación de ambos (una supervivencia un 30% menor para el Larotrectinib y un 30% mayor para el Entrectinib). En todos ellos el Larotrectinib mostró mejores resultados, lo que podría deberse a un mayor recorrido del fármaco. Con todo ello, sería necesario en un futuro llevar a cabo un estudio randomizado que compare la efectividad de ambos fármacos.

5. CONCLUSIONES

La terapia agnóstica pretende tratar tumores con mutaciones específicas independientemente de su histología y localización.

Los genes NTRK intervienen en la supervivencia y diferenciación del SNC y SNP durante la embriogénesis y también en procesos como el dolor, memoria, homeostasis y propiocepción. Estos genes pueden sufrir fusiones con potencial oncogénico.

Las fusiones NTRK son abundantes (frecuencia mayor al 90%) en tumores poco comunes como el carcinoma secretor análogo mamario de glándula salival o el fibrosarcoma congénito infantil. Sin embargo son poco habituales (frecuencia menor al 1%) en tumores más prevalentes como el cáncer de pulmón no microcítico, cáncer de mama o cáncer colorrectal.

Las fusiones NTRK se pueden detectar mediante varias técnicas diagnósticas: FISH, RT-PCR, NGS o IHQ. El método más empleado en la práctica clínica habitual es la detección mediante NGS.

Existen fármacos que actúan directamente contra tumores NTRK positivo. Los más estudiados son el Larotrectinib y Entrectinib. Ambos fármacos tienen una gran actividad contra tumores NTRK positivo (79% y 57% para Larotrectinib y Entrectinib, respectivamente, según los últimos estudios) pero son prácticamente inútiles contra tumores sin estas fusiones. Tanto el Larotrectinib como el Entrectinib son seguros y bien tolerados por los pacientes.

6. BIBLIOGRAFÍA

1. Cooper G. The cell : a molecular approach. 8th ed. New York: Oxford University Press; 2019.
2. Okamura R, Boichard A, Kato S, Sicklick J, Bazhenova L, Kurzrock R. Analysis of NTRK Alterations in Pan-Cancer Adult and Pediatric Malignancies: Implications for NTRK-Targeted Therapeutics. *JCO Precision Oncology*. 2018;(2).
3. Westphalen C, Krebs M, Le Tourneau C, Sokol E, Maund S, Wilson T et al. Genomic context of NTRK1/2/3 fusion-positive tumours from a large real-world population. *npj Precision Oncology*. 2021;5(1).
4. Rohrberg K, Lassen U. Detecting and Targeting NTRK Fusions in Cancer in the Era of Tumor Agnostic Oncology. *Drugs*. 2021;81(4):445-452.
5. Zito Marino F, Pagliuca F, Ronchi A, Cozzolino I, Montella M, Berretta M et al. NTRK Fusions, from the Diagnostic Algorithm to Innovative Treatment in the Era of Precision Medicine. *International Journal of Molecular Sciences*. 2020;21(10):3718.
6. Manuel Megías M. Técnicas. Ampliaciones. Inmunocitoquímica. Desenmascaramiento de antígenos. Atlas de Histología Vegetal y Animal [Internet]. Mmegias.webs.uvigo.es. 2022 [citado 20 Marzo 2022]. Disponible en: <http://mmegias.webs.uvigo.es/6-tecnicas/ampliaciones/desenmascaramiento.php>
7. Magaki S, Hojat S, Wei B, So A, Yong W. An Introduction to the Performance of Immunohistochemistry. *Methods in Molecular Biology*. 2018;:289-298.
8. Solomon J, Benayed R, Hechtman J, Ladanyi M. Identifying patients with NTRK fusion cancer. *Annals of Oncology*. 2019;30:viii16-viii22.
9. Fluorescence In Situ Hybridization (FISH) | Learn Science at Scitable [Internet]. Nature.com. 2022 [citado 20 Marzo 2022]. Disponible en: <https://www.nature.com/scitable/topicpage/fluorescence-in-situ-hybridization-fish-327/>
10. Secuenciación de nueva generación (NGS) de ADN: presente y futuro en la práctica clínica [Internet]. Revistas.javeriana.edu.co. 2022 [citado 20 Marzo 2022]. Disponible en: [https://revistas.javeriana.edu.co/filesarticulos/UMED/612%20\(2020\)/2310623910/](https://revistas.javeriana.edu.co/filesarticulos/UMED/612%20(2020)/2310623910/)
11. Marchiò C, Scaltriti M, Ladanyi M, Iafrate A, Bibeau F, Dietel M et al. ESMO recommendations on the standard methods to detect NTRK fusions in daily practice and clinical research. *Annals of Oncology*. 2019;30(9):1417-1427.
12. Kheder E, Hong D. Emerging Targeted Therapy for Tumors with NTRK Fusion Proteins. *Clinical Cancer Research*. 2018;24(23):5807-5814.
13. Laetsch T, DuBois S, Mascarenhas L, Turpin B, Federman N, Albert C et al. Larotrectinib for paediatric solid tumours harbouring NTRK gene fusions: phase 1 results from a multicentre, open-label, phase 1/2 study. *The Lancet Oncology*. 2018;19(5):705-714.

14. Hong D, Bauer T, Lee J, Dowlati A, Brose M, Farago A et al. Larotrectinib in adult patients with solid tumours: a multi-centre, open-label, phase I dose-escalation study. *Annals of Oncology*. 2019;30(2):325-331.
15. Drilon A, Laetsch T, Kummar S, DuBois S, Lassen U, Demetri G et al. Efficacy of Larotrectinib in TRK Fusion-Positive Cancers in Adults and Children. *New England Journal of Medicine*. 2018;378(8):731-739.
16. Hong D, DuBois S, Kummar S, Farago A, Albert C, Rohrberg K et al. Larotrectinib in patients with TRK fusion-positive solid tumours: a pooled analysis of three phase 1/2 clinical trials. *The Lancet Oncology*. 2020;21(4):531-540.
17. Bokemeyer C, Vassal G, Italiano A, De La Cuesta E, Hiemeyer F, Fellous M et al. Impact of Disease Evolution on Efficacy Outcomes From Larotrectinib in Patients With Locally Advanced or Metastatic Tropomyosin Receptor Kinase Fusion-Positive Solid Tumors. *JCO Precision Oncology*. 2021;5(5):1458-1465.
18. DuBois S, Laetsch T, Federman N, Turpin B, Albert C, Nagasubramanian R et al. The use of neoadjuvant larotrectinib in the management of children with locally advanced TRK fusion sarcomas. *Cancer*. 2018;124(21):4241-4247.
19. Le X, Baik C, Bauman J, Gilbert J, Brose M, Grilley-Olson J et al. Larotrectinib Treatment for Patients With TRK Fusion-Positive Salivary Gland Cancers. *The Oncologist*. 2022;.
20. Drilon A, Siena S, Ou S, Patel M, Ahn M, Lee J et al. Safety and Antitumor Activity of the Multitargeted Pan-TRK, ROS1, and ALK Inhibitor Entrectinib: Combined Results from Two Phase I Trials (ALKA-372-001 and STARTRK-1). *Cancer Discovery*. 2017;7(4):400-409.
21. Doebele R, Drilon A, Paz-Ares L, Siena S, Shaw A, Farago A et al. Entrectinib in patients with advanced or metastatic NTRK fusion-positive solid tumours: integrated analysis of three phase 1–2 trials. *The Lancet Oncology*. 2020;21(2):271-282.
22. Roth J, Carlson J, Xia F, Williamson T, Sullivan S. The Potential Long-Term Comparative Effectiveness of Larotrectinib and Entrectinib for Second-Line Treatment of TRK Fusion-Positive Metastatic Lung Cancer. *Journal of Managed Care & Specialty Pharmacy*. 2020;26(8):981-986.