

Subgrupos accionables (II): HER2+, NTRK/RET/ALK y MSI-H/TMB alto

Actionable subgroups (II): HER2+, NTRK/RET/ALK and MSI-H/TMB high

Mario Balsa Pena, David Díaz Gimeno, José Carlos Ruffinelli Rodríguez, Cristina Santos Vivas

Servicio de Oncología Médica. Institut Català d'Oncologia. L'Hospitalet, Barcelona

Resumen

Palabras clave:

Cáncer colorrectal metastásico.
Oncología de precisión.
Inestabilidad de microsatélites.
Fusiones génicas.
Inmunoterapia.
Tratamiento personalizado.

La medicina de precisión ha transformado de manera sustancial el abordaje del cáncer colorrectal metastásico (CCRm), incorporando terapias dirigidas basadas en biomarcadores moleculares. Más allá de las mutaciones en *RAS* y *BRAF*, la caracterización genómica ha permitido identificar alteraciones menos prevalentes, pero con impacto clínico relevante, como la alta inestabilidad de microsatélites (MSI-H), la amplificación o sobreexpresión de *HER2* y las fusiones génicas en *NTRK*, *RET* y *ALK*. Estas alteraciones confieren sensibilidad a inmunoterapia y agentes dirigidos, y modifican el pronóstico en enfermedad avanzada. La implementación de técnicas diagnósticas estandarizadas, principalmente secuenciación de nueva generación e inmunohistoquímica, es crítica para la estratificación molecular y la selección terapéutica. Esta revisión examina la base biológica de dichas alteraciones, su asociación con características clínicas y la evidencia procedente de ensayos que respalda su integración en la práctica clínica, consolidando un cambio de paradigma hacia un tratamiento individualizado en CCRm.

Abstract

Keywords:

Metastatic colorectal cancer.
Precision oncology.
Microsatellite instability.
Gene fusions.
Immunotherapy.
Personalized treatment.

Precision oncology has substantially transformed the management of metastatic colorectal cancer (mCRC) by incorporating targeted therapies guided by molecular biomarkers. Beyond *RAS* and *BRAF* mutations, comprehensive genomic profiling has enabled the identification of less prevalent but clinically significant alterations, including microsatellite instability (MSI-H), *HER2* amplification or overexpression, and gene fusions involving *NTRK*, *RET*, and *ALK*. These molecular events confer sensitivity to immunotherapy and targeted agents, thereby improving outcomes in advanced disease. The implementation of standardized diagnostic approaches – primarily next-generation sequencing and immunohistochemistry – is critical for accurate molecular stratification and therapeutic decision-making. This review examines the biological basis of these alterations, their association with clinical features, and the evidence from clinical trials supporting their integration into treatment algorithms, consolidating a paradigm shift toward individualized therapy in mCRC.

Conflicto de intereses: los autores declaran no tener conflictos de interés.

Inteligencia artificial: los autores declaran haber empleado inteligencia artificial (IA), en concreto, la herramienta ChatGPT para mejorar la redacción del artículo.

Balsa Pena M, Díaz Gimeno D, Ruffinelli Rodríguez JC, Santos Vivas C. Subgrupos accionables (II): HER2+, NTRK/RET/ALK y MSI-H/TMB alto. Rev Cáncer 2025;39(6):302-312

DOI: 10.20960/revcancer.00135

Correspondencia:

Cristina Santos Vivas. Servicio de Oncología Médica. Institut Català d'Oncologia. Avinguda de la Granvia de l'Hospitalet, 199. 08908 L'Hospitalet de Llobregat, Barcelona e-mail: csantos@iconcologia.net

INTRODUCCIÓN

La oncología de precisión ha transformado de manera sustancial el paradigma del cáncer colorrectal metastásico (CCRm) en las últimas décadas. Al tratamiento estándar, basado en la combinación de quimioterapia con anticuerpos monoclonales, se incorpora actualmente la posibilidad de individualizar el tratamiento mediante terapias dirigidas basadas en biomarcadores moleculares específicos. En este contexto, es crucial identificar los subgrupos de pacientes susceptibles de beneficiarse de estas estrategias (1).

En el CCRm, las alteraciones genéticas más frecuentes se localizan en los genes *KRAS*, *NRAS* y *BRAF*, cuyo análisis es esencial para la toma de decisiones terapéuticas. Sin embargo, la irrupción de la medicina de precisión ha impulsado la caracterización de nuevas alteraciones moleculares como potenciales dianas terapéuticas, transformando el panorama de la enfermedad metastásica. Entre ellas destacan la amplificación o sobreexpresión de *HER2*, las fusiones génicas en *NTRK*, *RET* y *ALK*, y la inestabilidad de microsatélites (MSI-H) asociada a una elevada carga mutacional (*tumor mutational burden*, TMB). Aunque estas alteraciones son poco frecuentes, el acceso a terapias dirigidas e inmunoterapia para estos subgrupos moleculares ha modificado sustancialmente el pronóstico de los pacientes (2).

Esta revisión pretende ofrecer una visión actualizada sobre estas alteraciones, abordando su biología molecular, la relación con características clínicas y los ensayos clínicos más relevantes que los sitúan como dianas terapéuticas en la enfermedad metastásica.

HER2 (HUMAN EPIDERMAL GROWTH FACTOR RECEPTOR 2)

Biología molecular y relevancia clínica

HER2 es una proteína transmembrana con actividad tirosina-cinasa intracelular, codificada por el gen homólogo, también conocido como *ERBB2*, ubicado en el brazo corto del cromosoma 17. Forma parte de la familia de receptores *ERBB*, que incluye además a *EGFR* (*ERBB1*), *ERBB3* y *ERBB4* (3). Una característica distintiva de *HER2* es que no requiere la unión de un ligando para activarse: puede hacerlo mediante homodimerización con otro receptor *HER2*. También puede formar heterodímeros, sobre todo con *ERBB3*, en cuyo caso sí depende de la unión del ligando específico del receptor asociado (Fig. 1).

La amplificación de *ERBB2* por errores en la replicación lleva a la sobreexpresión de *HER2* en la membrana celular, lo que conlleva su efecto protumoral. Esta alteración, más fre-

cuente en tumores del recto y del colon izquierdo, aparece en torno al 3 % de los CCRm y su incidencia es mayor en los tumores *RAS/BRAF* no mutados, donde puede alcanzar alrededor del 5 %. La frecuencia de mutaciones en *KRAS* en tumores *HER2* amplificados es significativamente menor a la general (alrededor del 24 %), y no se suelen detectar mutaciones en *BRAF* ni MSI-H (4).

Aunque la amplificación de *HER2* no se ha establecido como un factor pronóstico claro –pues múltiples estudios no han encontrado una asociación consistente con una menor supervivencia global (SG)–, su baja incidencia dificulta obtener conclusiones significativas. Respecto a su papel como mecanismo de resistencia primaria a inhibidores de *EGFR*, los datos son contradictorios (5-7), por lo que el tratamiento con estos fármacos debe seguir considerándose una opción en pacientes con CCRm *RAS* nativo en primera línea, independientemente del estado de *HER2* (8, 9). Sin embargo, en el contexto de resistencia adquirida se ha descrito una mayor frecuencia de amplificaciones o sobreexpresión de *HER2* (10-12), lo que sugiere que podría contribuir a la pérdida de eficacia de estas terapias.

También se detectan mutaciones activadoras de *HER2* hasta en el 7 % de los pacientes, de las cuales un 20 % coexisten con la amplificación. Se observan con mayor frecuencia en tumores MSI-H, por lo que generan una menor dependencia oncogénica a la mutación. Las terapias anti-*HER2* no han demostrado beneficio en presencia de una mutación activadora sin amplificación del gen (13).

La sobreexpresión y amplificación de *HER2* en CCR se identifica habitualmente mediante inmunohistoquímica (IHQ) para evaluar la expresión proteica y mediante técnicas de hibridación *in situ* para determinar la amplificación génica. El diagnóstico de la sobreexpresión de *HER2* en CCR se basa comúnmente en los criterios del estudio HERACLES, que incluyen: una IHQ con positividad intensa (3+) en más del 50 % de las células tumorales; o bien una positividad intensa en el 10-50 % de las células, o moderada (2+) en más del 50 %, acompañada de una prueba de hibridación *in situ* positiva para *ERBB2* (14). Las técnicas de secuenciación de nueva generación (*Next Generation Sequencing*, NGS) permiten además de confirmar la amplificación, cuantificar el número de copias génicas y detectar mutaciones activadoras de *HER2* simultáneamente (15).

Terapias dirigidas contra *HER2* en CCR metastásico: evidencia clínica y estrategias actuales

Existen varios tipos de terapias que se dirigen contra *HER2*: anticuerpos monoclonales, inhibidores de tirosina cinasa (*tyrosine kinase inhibitors*, TKI), anticuerpos bies-

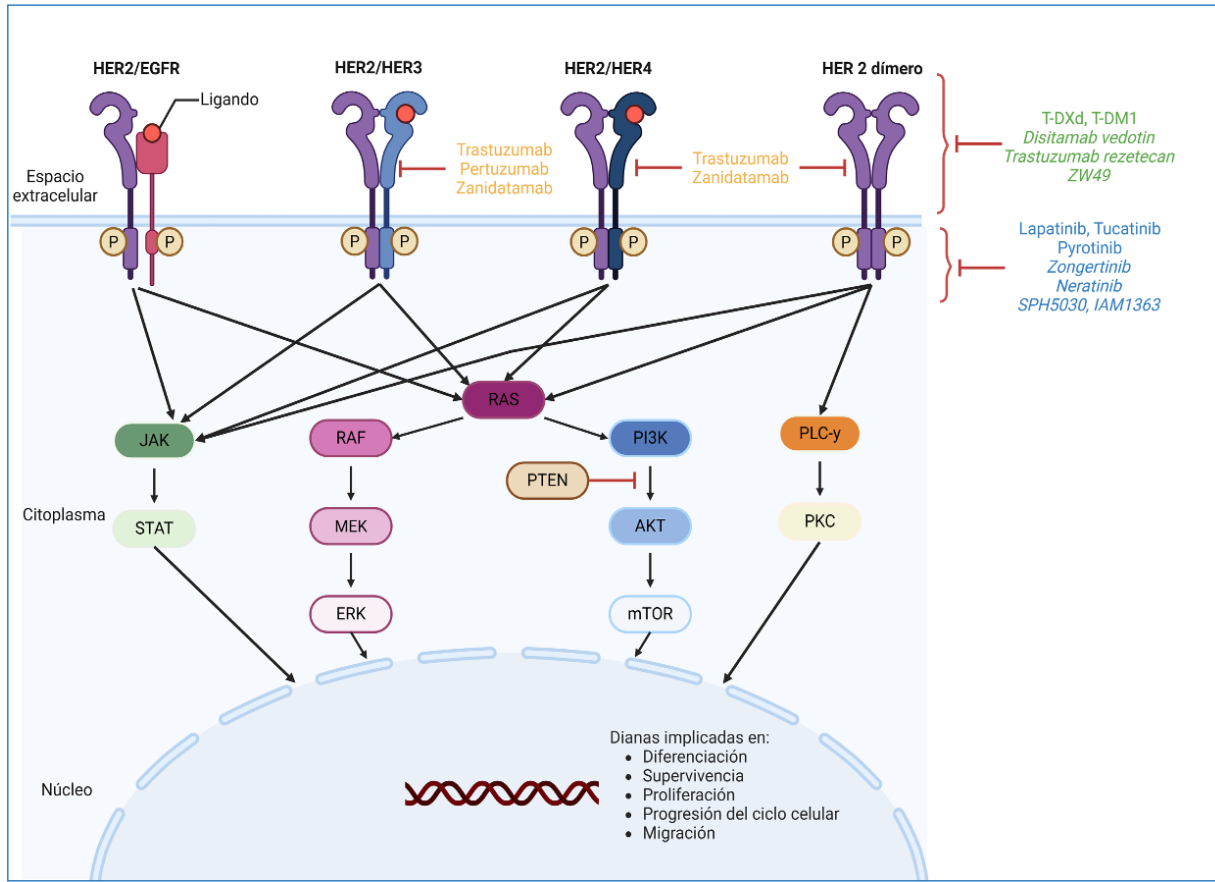


Fig. 1. Mecanismos de activación de HER2 y principales tratamientos dirigidos anti-HER2. HER2 forma heterodímeros funcionales con EGFR, ERBB3 y ERBB4, así como homodímeros en contextos de amplificación de HER2, lo que conduce a la fosforilación de residuos tirosina y a la activación de múltiples vías. Estas incluyen las vías JAK-STAT, RAS-RAF-MEK-ERK, PI3K-AKT-mTOR (modulada por PTEN) y PLC- γ /PKC. Los anticuerpos monoclonales y bispecíficos (amarillo) actúan a nivel extracelular, los TKI (azul) inhiben la actividad tirosina-cinasa intracelular y los ADC (verde) inducen citotoxicidad tras internalización mediada por HER2. Se indican asimismo terapias anti-HER2 emergentes actualmente en investigación clínica (en cursiva). Figura creada con BioRender.com, inspirada en PMID: 40087250. TKI: tyrosine kinase inhibitors; ADC: antibody drug conjugates.

pecíficos y conjugados anticuerpo-fármaco (*antibody drug conjugates*, ADC) (Fig. 1). En los últimos años diversos ensayos clínicos han demostrado la eficacia de la inhibición de HER2 en CCRm HER2-positivo tras progresión a tratamiento estándar (Tabla I), incorporándose como estrategia terapéutica en las guías internacionales (8).

La evidencia inicial viene del ensayo clínico HERACLES-A, un estudio de fase II en CCRm refractario, KRAS nativo y HER2 positivo, en el que se demostró el beneficio del doble bloqueo de HER2 combinando un anticuerpo monoclonal (trastuzumab) y un TKI (lapatinib), y se consiguió una tasa de respuesta objetiva (TRO) del 30 %, un control de la enfermedad del 59 % y una supervivencia libre de progresión (SLP) de 21 semanas (16). Los resultados se mantuvieron con un seguimiento a más largo plazo (17). Mediante la misma estrategia inhibitoria, el ensayo MOUNTAINEER (fase II) evaluó la combinación de tucatinib (un TKI altamente selectivo) con trastuzumab

en pacientes con CCR HER2-positivo, RAS nativo y quimiorrefractario (≥ 2 líneas previas) (18). Tras la inclusión de 117 pacientes, la combinación mostró ser superior a tucatinib en monoterapia, se obtuvo una TRO del 38,1 %, con un perfil de toxicidad manejable caracterizado por diarrea y fatiga. Con estos resultados la combinación obtuvo la aprobación acelerada por la FDA (Food and Drug Administration), y es el primer régimen específicamente aprobado en esta población de pacientes. Esta combinación se está evaluando actualmente en primera línea en el ensayo fase III MOUNTAINEER-03 (NCT05253651).

La combinación de dos anticuerpos monoclonales también ha demostrado eficacia. En el estudio MyPathway (fase IIa tipo *basket*), la combinación de trastuzumab y pertuzumab consiguió TRO del 32 % (con 2 % de respuestas completas), con un perfil de seguridad acorde a lo conocido para el doble bloqueo de HER2 (19). Dicha combinación también se evaluó en el ensayo japonés

Tabla 1. Ensayos clínicos con inhibidores de HER-2 en cáncer colorrectal metastásico HER2 amplificado/sobrexpresado

	HERACLES-A	MyPathway	HERACLES-B	MOUNTAINEER	DESTINY-CRC01	DESTINY-CRC02
Tratamiento	Trastuzumab + lapatinib	pertuzumab + trastuzumab	Pertuzumab + T-DM1	Tucatinib +/- trastuzumab	T-DXd	T-DXd
Población estudio	KRAS exón 2 wt HER2 (IHC 3+ o 2+/FISH+)	HER2 (NGS, FISH o IHC 3+) No tratamiento anti-HER2 previo	RAS/BRAF wt HER2 (IHC 3+ o 2+/FISH+)	RAS wt HER2 (NGS/FISH/IHC 3+ o 2+/FISH+) No tratamiento anti-HER2 previo	RAS/BRAF wt Cohorte A: HER2 (IHC 3+ o 2+/ISH+) Permitido anti-HER2 previo	RAS wt/mut BRAF wt HER2+ (IHC 3+ o 2+/ISH+) Permitido anti-HER2 previo
Tamaño muestra	27	57	31	114 (A + B: 84)	Cohorte A: 53	122
TRO	30 %	32 %	97 %	A + B: 381 %	45,3 %	37,8 % vs. 27,5 %
SLP	21 semanas (IC 95 %, 16-32)	2,9 meses (IC 95 %, 1,4-5,3)	4,1 meses (IC 95 %, 3,6-5,9)	8,2 meses (IC 95 %, 4,2-10,3)	6,9 meses (IC 95 %, 4,1-8,7)	5,8 m (4,6-7,0) vs. 5,5 m (4,2-7,0)
SG	46 semanas (IC 95 %, 33-68)	11,5 meses (IC 95 %, 7,7-NE)	NA	24,1 meses (IC 95 %, 20,3-36,7)	15,5 m (IC 95 %, 8,8-20,8)	13,4 m (12,5-16,8) vs. NE (9,9-NE)
Toxicidad	Diarrea (78 %, G3 0 %) Exantema (48 %, G3 4 %) Fatiga (48 %, G3 15 %) Paroniquia (33 %) Conjuntivitis (19 %)	Diarrea (33 %, G3 2 %) Fatiga (32 %) Náuseas (30 %, G3 2 %)	Fatiga (18 %) Hiperbilirubinemia (9 %) Trombocitopenia (8 %) Prurito (8 %) Náuseas/vómitos (8 %) Dolor muscular (8 %)	Diarrea (64 %, G3 3 %) Fatiga (44 %, G3 2 %) Náuseas (35 %) Reacción infusional (21 %)	Náuseas (6,16 %, G3 5,8 %) Anemia (36 %, G3 14 %) Fatiga (36 %) Anorexia (34,9 %) Trombocitopenia (32,6 %, G3 9,3 %) Vómitos (31,4 %) Neutropenia (30,2 %, G3 2,1 %) Diarrea (26,7 %) Neumonitis 9,3 % (3 casos fatales)	EA G3: 35 % vs. 33 % Neutropenia 16 % vs. 26 % Anemia 7 % vs. 21 % Náuseas 7 % vs. 0 % Leucopenia 6 % vs. 10 % Neumonitis 8 % vs. 13 %
Aprobación EMA	No	No	No	No	No	No
Aprobación FDA	No	No	No	Sí	Sí	Sí

TRC: tasa de respuesta objetiva; SLP: supervivencia libre de enfermedad; SG: supervivencia global; wt: wild-type (nativo); mut: mutada; NGS: next generation sequencing; IHC: inmunohistoquímica; FISH: fluorescencia in situ hybridization; G3: grado 3; T-DM1: trastuzumab emtansina; T-DXd: trastuzumab deruxtecan; FDA: Food and Drug Administration; EMA: European Medicines Agency.

TRIUMPH (20), en el que la selección de los pacientes se realizó mediante una aproximación innovadora, el análisis del ADN tumoral circulante (*circulating tumor DNA*, ctDNA), como alternativa o complemento a la biopsia tisular. La amplificación de *HER2* se confirmó en tejido y/o ctDNA en 30 pacientes; la TRO fue del 30 % en los 27 pacientes con tumor *HER2*-positivo en tejido y del 28 % (IC 95 % 12-49 %) en los 25 positivos por ctDNA, y demuestra que la genotipificación en plasma puede identificar adecuadamente a los candidatos a doble bloqueo de *HER2*. Además, la caída temprana de la fracción de ctDNA a las 3 semanas se asoció a respuesta, lo que sugiere un potencial papel como biomarcador dinámico.

El estudio HERACLES-B exploró la combinación de pertuzumab con el ADC trastuzumab-emtansina (T-DM1) en CCRm *HER2*-positivo refractario a tratamiento estándar (21). Con un perfil de pacientes similar al ensayo HERACLES-A, la combinación pertuzumab + T-DM1 mostró una actividad modesta, con una TRO de 9,7 %, por debajo de la esperada y sin alcanzar el objetivo primario preespecificado. Siguiendo esta línea, el ADC trastuzumab deruxtecán (T-DXd) ha demostrado ser un fármaco prometedor en pacientes con CCRm *HER2*-positivo. El ensayo DESTINY-CRC01 (fase II) evaluó T-DXd en 86 pacientes con CCRm *HER2*-positivo y *RAS/BRAF* V600E nativo, refractarios a tratamiento estándar (22), permitiendo la inclusión de pacientes tratados previamente con terapia anti-*HER2*. Los pacientes se estratificaron según la expresión de *HER2*: cohorte A (*HER2*+, IHQ 3+ o 2+/ISH+), cohorte B (IHQ 2+/ISH-) y cohorte C (IHQ 1+). Solo la cohorte A obtuvo beneficio significativo, con TRO del 45,3 %, SLP de 6,9 meses y SG de 15,5 meses. Los eventos adversos más relevantes fueron anemia, neutropenia y neumonitis o enfermedad inflamatoria pulmonar (9,3 %), incluyendo casos fatales. El estudio posiciona a T-DXd como una de las opciones más eficaces en CCRm *HER2*-positivo refractario, aunque se requiere vigilancia estrecha por la toxicidad pulmonar.

Entre los ADC de última generación, destaca trastuzumab rezetecán (SHR-A1811), un conjugado con un inhibidor de topoisomerasa I (SHR9265) unido mediante un enlazador escindible. En el análisis preliminar del ensayo de fase I, 43 pacientes con CCRm *HER2*-expresor fueron tratados con SHR-A1811; se alcanzó una TRO del 44,2 % (IC 95 % 29,1-60,1) y una mediana de tiempo a respuesta de 2,8 meses (IC 95 % 1,2-7,1). La toxicidad fue manejable, dominada por neutropenia y náuseas (DOI: 10.1016/j.annonc.2023.09.1870). Estos resultados posicionan a SHR-A1811 como uno de los ADC emergentes más prometedores en CCR *HER2*+, y su desarrollo clínico continúa en fases más avanzadas.

Con el objetivo de optimizar el bloqueo intracelular se han desarrollado inhibidores tirosina- cinasa irreversibles

pan-ERBB, como pyrotinib. La combinación de pyrotinib + trastuzumab demostró eficacia en CCRm refractario *HER2*-positivo con TRO alrededor del 50 %, que se incrementaban hasta el 57 % en población *RAS/BRAF* nativo, y SLP de 7,3 meses (23). A pesar de estos resultados alentadores, entre el 30-65 % de los pacientes presentaron diarrea de grado 3.

Una línea adicional de desarrollo dentro del campo de los anticuerpos anti-*HER2* es la de los anticuerpos biespecíficos. Zanidatamab (ZW25) es un anticuerpo biespecífico con unión biparatópica a los dominios extracelulares ECD2 y ECD4 de *HER2*. Su actividad en tumores *HER2*-positivo, incluyendo CCRm, se evaluó en un ensayo de fase I de escalada de dosis y expansión (24). En este estudio, la cohorte de CCR *HER2*-positivo mostró una TRO del 38 %, con un perfil de seguridad favorable, pese al bajo número de pacientes incluidos. Ensayos clínicos en curso en monoterapia (NCT06695845) o en combinación con quimioterapia (NCT03929666) o inmunoterapia (NCT07243938) aportarán mayor evidencia sobre el bloqueo dual de *HER2* mediante esta estrategia.

INESTABILIDAD DE MICROSATÉLITES (MSI-H) Y ELEVADA CARGA MUTACIONAL (TMB)

Biología molecular y relevancia clínica

El sistema de reparación de desajustes (*mismatch repair*, MMR) es un mecanismo esencial de mantenimiento genómico que corrige errores de apareamiento de bases generados durante la replicación y recombinación del ADN. Este sistema reconoce y elimina inserciones, deleciones y bases mal apareadas, evitando mutaciones y preservando la estabilidad del genoma. La pérdida de función de las proteínas MMR (MLH1, PMS2, MSH6 y MSH2) conduce a la acumulación de errores de replicación, caracterizada por una alta frecuencia de mutaciones en elementos cortos y repetitivos de ADN, normalmente formados por 1 a 5 nucleótidos repetidos entre 15 y 30 veces, llamados microsatélites (25). Dicho fenómeno, conocido como inestabilidad de microsatélites (*microsatellite instability*, MSI-H), conduce a un estado de hipermutación, con una elevada carga mutacional y consecuente formación de neoantígenos. Dicha particularidad hace que los tumores MSI-H sean altamente sensibles a inmunoterapia. La presencia de alteraciones en *POLE/POLD1* en tumores con estabilidad de microsatélites (MSS) también se asocia a un elevado TMB. En tumores MSS, un elevado TMB se ha asociado a mejor pronóstico (26).

Los tumores colorrectales MSI-H tienen unas características clínico-patológicas y moleculares particulares.

Son más frecuentes en estadios localizados (alrededor del 15 %) que en enfermedad metastásica (alrededor del 5 %), se asocian a desdiferenciación histológica, a histología mucinosa y medular, mayormente se localizan en el colon derecho y son resistentes a fluoropirimidinas (25). Asimismo, se asocian a mutaciones de *BRAF* V600E, hasta en el 50 % cuando hay hipermetilación de *MLH1*, y las fusiones de genes como *NTRK*, *ALK* y *RET* son más frecuentes (27).

El diagnóstico de MSI-H es crucial en el manejo del CCR, localizado o metastásico, dada su implicación diagnóstica, pronóstica y terapéutica y, junto con el análisis de mutaciones en *RAS* y *BRAF*, es imprescindible su determinación previa a la toma de decisiones terapéuticas (8). Clásicamente se puede evaluar mediante técnicas de inmunohistoquímica de las proteínas del sistema MMR o mediante PCR (*Polimerase Chain Reaction*) de un panel específico de 5 loci cromosómicos (25). El uso de NGS también permite identificar tumores con MSI-H o defectos en MMR (dMMR), con una mayor sensibilidad que las técnicas de PCR e inmunohistoquímica (28).

Inmunoterapia en CCR metastásico MSI-H/dMMR: evidencia clínica y estrategias actuales

La inmunoterapia se ha consolidado como pilar terapéutico en el CCRm MSI-H/dMMR, debido a su alta carga mutacional y generación de neoantígenos. La estrategia principal consiste en bloquear los puntos de control inmunitarios PD-1, PD-L1 y CTLA-4. Inhibidores del punto de control inmunológico (ICI) como pembrolizumab y nivolumab (anti-PD-1) e ipilimumab (anti-CTLA-4) han demostrado eficacia significativa en este subgrupo de pacientes, consiguiendo respuestas duraderas y mesetas en las curvas de supervivencia que superan ampliamente los resultados obtenidos con quimioterapia convencional.

El estudio KEYNOTE-016 demostró por primera vez el beneficio de la inmunoterapia en tumores MSI-H/dMMR (29). Pembrolizumab consiguió una TRO del 40 % en pacientes con CCRm MSI-H/dMMR tras progresión a tratamiento estándar, con medianas de SLP y SG no alcanzadas. Este beneficio se confirmó posteriormente en el ensayo KEYNOTE-164 (30). Incluyó 124 pacientes en dos cohortes (≥ 2 líneas previas –cohorte A– y ≥ 1 línea –cohorte B–), y se obtuvo una TRO del 33 %, con respuestas duraderas y mediana de SG de 31,4 meses en la cohorte A y no alcanzada en la cohorte B. El seguimiento a 5 años mostró una TRO sostenida (32,8-34,9 %), una SG de 31,4 (cohorte A) y 47 meses (cohorte B), y una duración de respuesta no alcanzada, incluso tras retratamiento (31). Estos resultados consolidaron a pembrolizumab como estándar en CCRm MSI-H/dMMR pretratado.

Paralelamente, se presentaron los resultados del ensayo KEYNOTE-177 (estudio de fase III aleatorizado) en el que se demuestra superioridad de pembrolizumab sobre el tratamiento de quimioterapia en primera línea para enfermedad avanzada (32). Pembrolizumab logró una SLP de 16,5 meses frente a 8,2 con quimioterapia (*hazard ratio*, HR, 0,60; IC 95 % 0,45-0,80) y una TRO del 43,8 % frente a 33,1 %, con una duración de respuesta más prolongada y un perfil de toxicidad más favorable (toxicidad de grado 3 o superior: 22 % frente a 66 %). Tras un seguimiento prolongado (más de 6 años), se confirma el beneficio a largo plazo, con una supervivencia superior al 50 % a 5 años, lo que consolida la inmunoterapia como elección en este subgrupo de pacientes (33).

El doble bloqueo PD-1/CTLA-4 se ha evaluado en enfermedad refractaria y en primera línea (34-38). En el ensayo CheckMate 142, nivolumab en monoterapia logró una TRO del 31 % y SG a 12 meses del 73 % (34), mientras que la combinación con ipilimumab aumentó la TRO al 55 %, con SG del 85 %, aunque con mayor toxicidad (32 % de grado 3-4) (35). El seguimiento a más de 4 años confirmó respuestas profundas y duraderas, sin alcanzar la mediana de SG (36). En primera línea, la combinación alcanzó TRO del 69 % y SG a 24 meses del 79 %, con toxicidad similar (37). Posteriormente, el ensayo CheckMate 8HW mostró que la combinación redujo el riesgo de progresión/muerte en el 79 % frente a quimioterapia, con SLP a 24 meses del 72 % frente a 14 %, y mejoró la TRO frente a monoterapia (71 % frente a 58 %) (38). Aunque la toxicidad \geq grado 3 fue superior (22 %), se consideró manejable. En conjunto, el doble bloqueo ofrece mayor beneficio clínico que la monoterapia a pesar de mayor toxicidad, y se consolida como opción en CCRm MSI-H/dMMR.

Dostarlimab, un anticuerpo anti-PD-1 humanizado, también ha demostrado eficacia en enfermedad metastásica. En el ensayo de fase I/II GARNET (39), que incluyó varios tumores sólidos dMMR (115 de ellos con CCR), dostarlimab mostró una TRO del 43,5 % (IC 95 %, 34,3-53,0) en CCR y una SLP de 8,4 meses (IC 95 %, 3,4-NA), sin alcanzarse la SG mediana. El perfil de seguridad fue similar al de otros inhibidores de PD-1, con toxicidades inmuno-mediadas que normalmente son manejables.

Respecto a la población con un elevado TMB, en la mayoría de los tumores colorrectales está asociado a MSI-H. Aun así, existe un subgrupo MSS con TMB elevado. El estudio KEYNOTE-158, un ensayo de fase II multicohorte, evaluó la asociación de la respuesta a pembrolizumab y el TMB en pacientes con tumores sólidos avanzados previamente tratados (40). La TRO fue del 29 % en tumores con TMB alto (≥ 10 mut/Mb) frente al 6 % en tumores con TMB bajo, lo que permitió la aprobación agnóstica de pembrolizumab en tumores refractarios con TMB alto.

A pesar de estos resultados, los pacientes con CCR fueron excluidos de este estudio. Delante de estos resultados, un metaanálisis asoció un elevado TMB con mejor supervivencia y respuestas en pacientes con CCRm tratados con inmunoterapia (41). Por el contrario, el estudio C-CAT, evaluó la eficacia de pembrolizumab en pacientes con CCRm TMB alto, diferenciando entre MSS-TMB alto ($n = 77$) y MSI-H-TMB alto ($n = 50$) (42). En los tumores MSS-TMB alto, los resultados fueron significativamente inferiores respecto a MSI-H-TMB alto: el tiempo hasta el fracaso del tratamiento fue de 2,0 meses (frente a 10,6 meses) y la SG de 4,5 meses (frente a 33,6 meses) (HR 9,86, IC 95 % 3,93-24,77). El análisis genómico mostró que los tumores MSS-TMB alto eran molecularmente muy similares a los MSS-TMB bajo y claramente distintos de los MSI-H-TMB alto, lo que probablemente explica la ausencia de sensibilidad al bloqueo PD-1. Concordantemente, múltiples series retrospectivas pantumor y datos de práctica clínica coinciden en que el TMB alto en ausencia de MSI-H/dMMR no predice beneficio clínico relevante a inmunoterapia en CCR. Por ello, aunque el TMB alto ha generado aprobaciones agnósticas, en CCR su uso debe interpretarse con cautela y no emplearse como único criterio de selección en tumores MSS, salvo dentro de ensayos clínicos diseñados específicamente para este subgrupo.

FUSIONES GÉNICAS: *NTRK*, *RET* Y *ALK*

Biología molecular y relevancia clínica

Las fusiones génicas son alteraciones estructurales del ADN que resultan de la unión anómala entre dos genes previamente separados, que generan un transcrito híbrido y una proteína de fusión con funciones aberrantes. Este mecanismo puede activar dominios tirosina-cinasa de forma constitutiva, sin necesidad de ligando, desencadenando vías de señalización oncogénicas. Aunque son eventos poco frecuentes en CCR ($< 1\%$), su identificación es crucial por su valor como biomarcadores predictivos y dianas terapéuticas. En el CCR las fusiones más relevantes son las que implican a los genes codificantes de los receptores transmembrana tirosina-cinasa relacionados con neurotrofinas (*NTRK*), la cinasa de linfoma anaplásico (*ALK*) y la cinasa asociada al gen reordenado durante la transfección (*RET*) (27), representadas en la Fig. 2. Los genes *NTRK1*, *NTRK2* y *NTRK3*, localizados en los cromosomas 1, 9 y 15, codifican receptores de tirosina-cinasa implicados en la diferenciación y supervivencia neuronal mediante la activación de vías como MAPK/mTOR. Las fusiones más frecuentes incluyen LMNA-*NTRK1*, TPM3-*NTRK1* y ETV6-*NTRK3* (43), y aunque son altamente infrecuentes en CCR ($< 1\%$), su prevalencia puede aumentar hasta el 5 % en tumores en colon derecho y MSI-H (44). De forma similar, el protooncogén *ALK*, situado en el cromosoma 2p23, co-

difica una tirosina-cinasa que, bajo condiciones fisiológicas, se activa por ligandos como pleiotrofina y midquina, y promueve la activación de las vías JAK/STAT, PI3K/mTOR y RAS/MEK (45). Por su parte, el gen *RET*, ubicado en el cromosoma 10q11.2, participa en la embriogénesis y el desarrollo neuronal, activándose mediante el factor neurotrófico derivado de estirpe glial. Además de fusiones génicas, *RET* puede presentar mutaciones activadoras en su dominio tirosina-cinasa y constituye otro mecanismo oncogénico relevante en CCRm (46).

Estas fusiones de oncogenes en CCRm comparten características clínicas y moleculares: localización derecha, inestabilidad de microsatélites y ausencia de mutaciones en *RAS/BRAF* (47, 48). La importancia de detectar estas alteraciones recae en su uso como dianas terapéuticas susceptibles de terapia dirigida con fármacos de reciente diseño. La técnica de elección para detectar un gen de fusión es la NGS, tanto en tejido tumoral como en ADN circulante. En lugares sin acceso directo a NGS, se recomienda un cribado mediante técnicas de IHQ o FISH (hibridación in situ por fluorescencia) (8,48).

Terapias dirigidas en CCR metastásico con fusiones génicas de *NTRK*, *RET* y *ALK*: evidencia clínica y estrategias actuales

El abordaje terapéutico del CCRm con fusiones en *NTRK*, *ALK* y *RET* se fundamenta en la inhibición selectiva de los dominios tirosina-cinasa activados de forma constitutiva por estas alteraciones genómicas. Los inhibidores selectivos de tirosina-cinasa como larotrectinib y entrectinib para fusiones de *NTRK*, crizotinib y alectinib para *ALK*, y selipcatinib o pralsetinib para *RET* han demostrado eficacia con respuestas superiores al 50 %.

NTRK

En este entorno biológico, la evidencia existente proviene en su mayoría de análisis integrados de ensayos de fase I/II con larotrectinib y entrectinib (49-52), a los que se les añaden series de casos.

Larotrectinib fue el primer inhibidor de TRK aprobado con indicación tumor-agnóstica para pacientes con tumores con fusiones en *NTRK* tras el análisis combinado de tres estudios: fase I en adultos, fase I/II pediátrica (SCOUT) y fase II (NAVIGATE). El estudio inicial incluyó 55 pacientes con 17 tipos tumorales, entre ellos 4 CCR, y mostró una TRO global del 75 %, con respuestas duraderas (71 % mantenidas al año) y toxicidad predominantemente de grado 1-2 (49). La actualización posterior con un mayor número de pacientes confirmó una TRO del 79 %, una

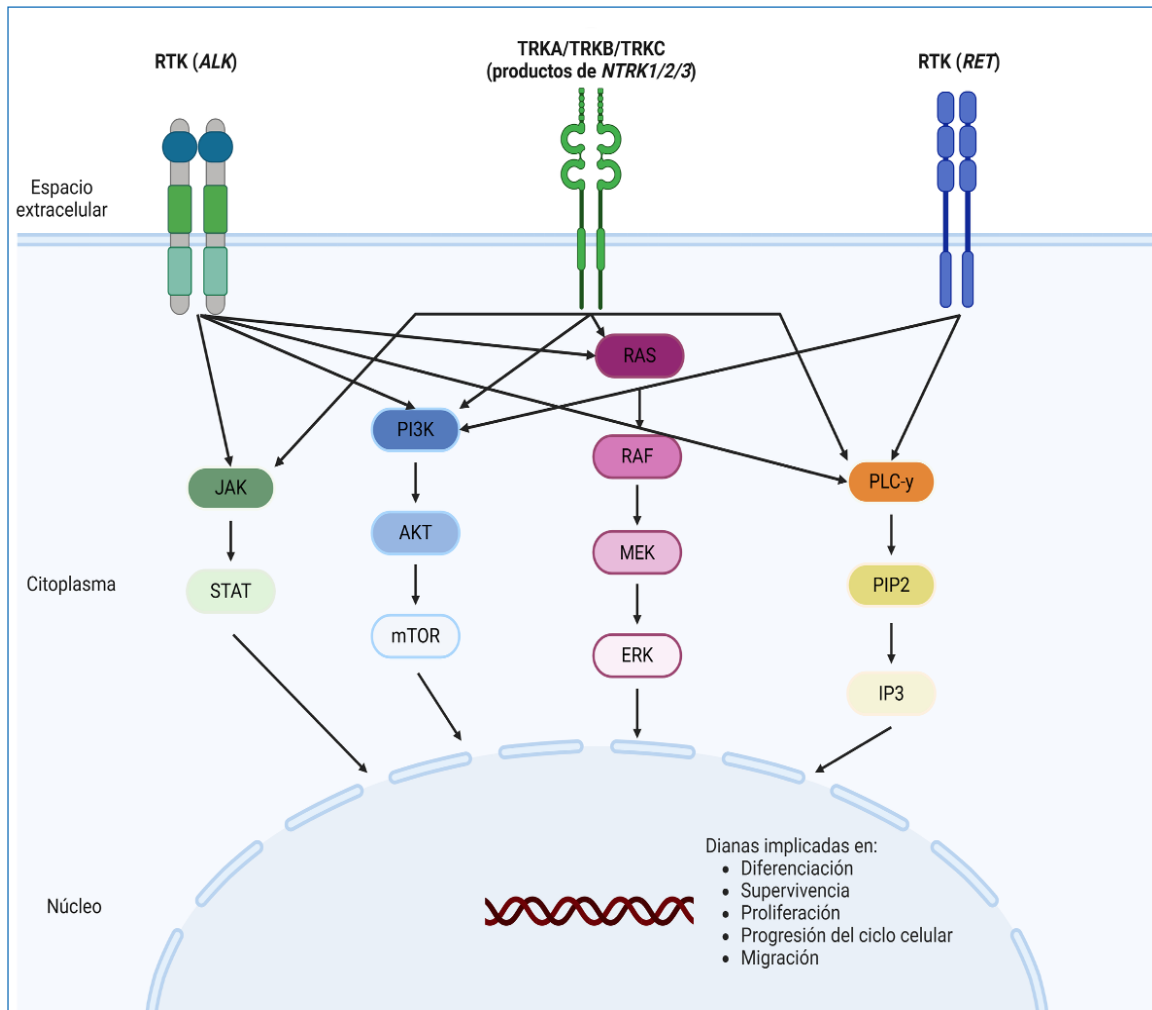


Fig. 2. Señalización inducida por las proteínas quinasas derivadas de ALK, NTRK y RET. La activación constitutiva de estos receptores impulsa la dimerización dependiente o independiente del ligando, con fosforilación de residuos tirosina y activación de los ejes JAK-STAT, PI3K-AKT-mTOR y RAS-RAF-MEK-ERK, así como del circuito PLC γ -PIP2-IP3. Ilustración generada con BioRender.com.

mediana de duración de respuesta de 35 meses y SLP de 28,3 meses (IC 95 % 22-1-NE), con beneficio consistente en múltiples histologías (50). Aunque los casos de CCR fueron escasos ($n = 8$), se observaron reducciones tumorales relevantes. Un estudio posterior con una cohorte mayor de pacientes con CCRm reportó una TRO del 44 %, con duración de respuesta de 27 meses y SLP de 7 meses IC (IC 95 % 6-NE), y alcanza una SG de 29 meses (IC 95 % 7-NE) (51).

Entrectinib, un inhibidor multikinasa que bloquea TRK A/B/C, ROS1 y ALK, obtuvo igualmente una aprobación tumor-agnóstica basada en el análisis integrado de tres estudios de fase I/II (ALKA-372-001, STARTRK-1 y STARTRK-2) (52). En el análisis de registro, 54 pacientes con tumores sólidos NTRK-fusión positivos (diversos tipos, incluyendo tumores gastrointestinales y algunos CCR) alcanzaron una TRO del 57 %, con mediana de duración de

respuesta de 10 meses (IC 95 % 7,1-NE), SLP de 11 meses (IC 95 % 8-NE) y SG de 21 meses (IC 95 % 14,9-NE); el perfil de toxicidad fue manejable, con fatiga, disgeusia y aumento de peso como eventos más frecuentes. Al igual que con larotrectinib, el número de pacientes con CCR incluidos fue menor y no se realizó un subanálisis particular; sin embargo, se documentaron respuestas objetivas en pacientes con CCR, lo cual respalda la actividad clínica de entrectinib también en este escenario.

Estas terapias dirigidas, de carácter tumor-agnóstico, han demostrado un beneficio clínico significativo y duradero, modificando el pronóstico en este subgrupo poco frecuente. De acuerdo con las recomendaciones de ESMO (53), la determinación de fusiones NTRK debe considerarse en CCRm refractario, dado que los inhibidores TRK (larotrectinib y entrectinib) constituyen una opción preferente en pacientes con esta alteración molecular, con nivel de evidencia ESCAT I.

RET

Para *RET*, la evidencia en CCR es más limitada que para *NTRK* o *HER2*, pero suficiente como para considerar este subgrupo claramente accionable, sobre todo a raíz de los inhibidores selectivos de nueva generación, selpercatinib y pralsetinib. La mayor parte de los datos proviene de series genómicas amplias y ensayos de tipo *basket/tumor-agnostic*, con un número muy reducido de pacientes con CCR, complementados por algunos casos clínicos bien documentados.

Sobre la base biológica se han construido los programas con inhibidores selectivos de *RET*. El ensayo LIBRETTO-001 incluyó una cohorte tumor-agnóstica de 45 pacientes adultos con tumores avanzados y fusión de *RET* distintos de cáncer de pulmón y tiroides, todos ellos refractarios o sin alternativas estándar (54). Selpercatinib obtuvo una TRO del 43,9 %, con respuestas duraderas y un perfil de toxicidad manejable (hipertensión, elevación de transaminasas y prolongación del intervalo QT como eventos grado ≥ 3 más relevantes). Entre los pacientes incluidos, 10 tenían CCRm y a pesar de que no se ofrecieron datos según histología, el ensayo LIBRETTO-001 fue clave para la aprobación tumor-agnóstica de selpercatinib en tumores sólidos con fusión de *RET* por la FDA y la Agencia Europea del Medicamento (EMA).

De forma paralela, el ensayo ARROW, fase I/II, evaluó el inhibidor altamente selectivo de *RET* pralsetinib en pacientes con tumores sólidos avanzados con dicha alteración (55). El análisis pantumor de la cohorte de fusiones de *RET*, excluyendo pulmón y tiroides, incluyó 29 pacientes con 12 tipos tumorales distintos, que habían recibido o no eran candidatos a terapias estándar. En los 23 pacientes evaluables, la TRO global fue del 57 % (IC 95 % 35-77), con una mediana de duración de respuesta de 11,7 meses, SLP de 7,4 meses (IC 95 % 5,1-13,6) y SG de 13,6 meses (IC 95 % 7,5-NE); las respuestas se observaron independientemente del tipo tumoral y del subtipo de fusión.

Igual que las fusiones de *NTRK*, se recomienda evaluar fusiones de *RET* en pacientes con CCRm (53), especialmente en tumores *RAS/BRAF* nativo, MSI-H y en colon derecho.

ALK

En el CCRm con fusiones de *ALK*, la evidencia terapéutica disponible se limita fundamentalmente a casos clínicos y pequeñas series retrospectivas (56,57), debido a la extrema rareza de esta alteración. No obstante, los datos recogidos hasta la fecha indican un beneficio clínico tangible con inhibidores de tirosina-cinasa de *ALK* en pacientes seleccionados. Así pues, el tratamiento con inhibidores de *ALK* –como crizotinib, ceritinib, alectinib,

brigatinib, lorlatinib– en pacientes refractarios consiguen TRO de 40-63 % (57,58), y SLP de 4,5 meses (58). Estos datos, basados en cohortes de pacientes muy pequeñas con distintas histologías, demuestran que las fusiones de *ALK* en CCR pueden constituir un verdadero *driver* onco-genético. Pendiente de los resultados de ensayos de tipo *basket* que aporten mayor evidencia (NCT04644315, NCT01401504, NCT04439266), en la práctica clínica se recomienda la utilización de inhibidores de tirosina-cinasa de *ALK* en contexto de ensayos clínicos o regímenes de acceso ampliado.

CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS DE FUTURO

La irrupción de tratamientos dirigidos contra alteraciones poco frecuentes en CCRm, junto con la inmunoterapia y especialmente los fármacos ICI, ha mejorado de forma sustancial el panorama terapéutico y, en consecuencia, el pronóstico de estos pacientes. Los resultados recientes de los estudios en primera línea de tratamiento con pembrolizumab y la combinación de nivolumab e ipilimumab han cambiado el paradigma del CCRm MSI-H/dMMR, logrando respuestas duraderas sin precedentes e introduciendo la posibilidad de curación en algunos casos. A pesar de estos resultados espectaculares, aún quedan incógnitas por resolver. Hasta un 30 % de los pacientes presentan resistencia primaria a los ICI (36), y varias son las causas que pueden estar detrás: el error en el diagnóstico de MSI-H/dMMR y el microambiente tumoral inmunosupresor son los motivos con mayor evidencia (59). En este sentido, ante una progresión precoz se recomienda confirmar el diagnóstico molecular mediante técnicas alternativas. Un microambiente tumoral inmunosupresor enriquecido en células T reguladoras, células supresoras derivadas de mieloides y macrófagos asociados al tumor, que inhiben respuestas inmunitarias antitumorales efectivas, así como la pérdida o disminución de la maquinaria de presentación de antígenos, que puede facilitar la evasión inmunitaria, pueden influir en la respuesta a ICI, aunque aún no hay datos clínicos que validen estos biomarcadores, a la espera de resultados de estudios en curso (NCT06353854). Otro aspecto sin resolver es la duración óptima del tratamiento en los pacientes con respuestas duraderas. Datos retrospectivos sugieren que el abandono precoz no impacta negativamente en la supervivencia (60), pero es necesario confirmar estos hallazgos en ensayos clínicos aleatorizados. Asimismo, es prioritario definir qué pacientes se benefician del doble bloqueo y evaluar nuevas estrategias de combinación que mejoren los resultados obtenidos hasta la actualidad.

En cuanto a las terapias contra dianas terapéuticas infrecuentes, como las amplificaciones de *HER2* y fusiones génicas, han demostrado un beneficio significativo en enfer-

medad refractaria, con tasas de respuesta superiores a las obtenidas con opciones estándar como trifluridina/tipiracilo más bevacizumab o fruquintinib. Ante perfiles clínicos y moleculares específicos –particularmente en tumores RAS/*BRAF* nativo–, es imprescindible realizar pruebas mediante NGS o IHQ para ampliar el abanico terapéutico. Actualmente existen varias opciones para estos subgrupos, aunque sin evidencia comparativa directa; por ello, la selección debe basarse en biomarcadores, perfil de toxicidad y contexto económico, especialmente en sistemas de sanidad pública. A pesar de los avances, persisten retos importantes: la baja incidencia de estas alteraciones limita la generación de evidencia robusta y obliga a diseños adaptativos y estudios de tipo *basket*. Además, se requiere estandarizar técnicas diagnósticas (NGS, IHQ, ctDNA), definir la duración del tratamiento, la secuenciación y explorar nuevas combinaciones, incluyendo la inmunoterapia. Finalmente, el acceso a fármacos innovadores y la sostenibilidad financiera condicionarán su implementación, subrayando la necesidad de consensos internacionales y estudios comparativos para optimizar resultados clínicos.

BIBLIOGRAFÍA

- Riedesser JE, Ebert MP, Betge J. Precision medicine for metastatic colorectal cancer in clinical practice. *Ther Adv Med Oncol* 2022;14:17588359211072703. DOI: 10.1177/17588359211072703
- Puccini A, Seeber A, Berger MD. Biomarkers in Metastatic Colorectal Cancer: Status Quo and Future Perspective. *Cancers (Basel)* 2022;14(19):4828. DOI: 10.3390/cancers14194828
- Tomuleasa C, Tigu AB, Munteanu R, et al. Therapeutic advances of targeting receptor tyrosine kinases in cancer. *Signal Transduct Target Ther* 2024;9(1):201. DOI: 10.1038/s41392-024-01899-w
- Richman SD, Southward K, Chambers P, et al. HER2 overexpression and amplification as a potential therapeutic target in colorectal cancer: analysis of 3256 patients enrolled in the QUASAR, FOCUS and PICCOLO colorectal cancer trials. *J Pathol* 2016;238(4):562-70. DOI: 10.1002/path.4679
- Bertotti A, Papp E, Jones S, et al. The genomic landscape of response to EGFR blockade in colorectal cancer. *Nature* 2015;526(7572):263-7. DOI: 10.1038/nature14969
- Bertotti A, Migliardi G, Galimi F, et al. A molecularly annotated platform of patient-derived xenografts (“xenopatients”) identifies HER2 as an effective therapeutic target in cetuximab-resistant colorectal cancer. *Cancer Discov* 2011;1(6):508-23. DOI: 10.1158/2159-8290.CD-11-0109
- Battaglin F, Ou FS, Qu X, et al. HER2 gene expression levels are predictive and prognostic in patients with metastatic colorectal cancer enrolled in CALGB/SWOG 80405. *J Clin Oncol* 2024;42(16):1890-902. DOI: 10.1200/JCO.23.01507
- Cervantes A, Adam R, Roselló S, et al. Metastatic colorectal cancer: ESMO Clinical Practice Guideline for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol* 2023;34(1):10-32. DOI: 10.1016/j.annonc.2022.10.003
- Germani MM, Borelli B, Hashimoto T, et al. Impact of human epidermal growth factor receptor 2 in patients with metastatic colorectal cancer treated with chemotherapy plus bevacizumab or Anti-EGFRs: Exploratory Analysis of Eight Randomized Trials. *J Clin Oncol* 2025;43(29):3184-97. DOI: 10.1200/JCO-25-01003
- Pietrantonio F, Vernieri C, Siravegna G, et al. Heterogeneity of Acquired Resistance to Anti-EGFR Monoclonal Antibodies in Patients with Metastatic Colorectal Cancer. *Clin Cancer Res* 2017;23(10):2414-22. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-16-1863
- Takegawa N, Yonesaka K, Sakai K, et al. HER2 genomic amplification in circulating tumor DNA from patients with cetuximab-resistant colorectal cancer. *Oncotarget* 2016;7(3):3453-60. DOI: 10.18632/oncotarget.6498
- Montagut C, Argilés G, Ciardiello F, et al. Efficacy of Sym004 in Patients with metastatic colorectal cancer with acquired resistance to anti-EGFR therapy and molecularly selected by circulating tumor DNA analyses: A Phase 2 Randomized Clinical Trial. *JAMA Oncol* 2018;4(4):e175245. DOI: 10.1001/jamaoncol.2017.5245
- Kavuri SM, Jain N, Galimi F, et al. HER2 activating mutations are targets for colorectal cancer treatment. *Cancer Discov* 2015;5(8):832-41. DOI: 10.1158/2159-8290.CD-14-1211
- Valtorta E, Martino C, Sartore-Bianchi A, et al. Assessment of a HER2 scoring system for colorectal cancer: results from a validation study. *Mod Pathol* 2015;28(11):1481-91. DOI: 10.1038/modpathol.2015.98
- Cenaj O, Ligon AH, Hornick JL, Sholl LM. Detection of ERBB2 Amplification by Next-Generation Sequencing Predicts HER2 Expression in Colorectal Carcinoma. *Am J Clin Pathol* 2019;152(1):97-108. DOI: 10.1093/ajcp/aaq031
- Sartore-Bianchi A, Trusolino L, Martino C, et al. Dual-targeted therapy with trastuzumab and lapatinib in treatment-refractory, KRAS codon 12/13 wild-type, HER2-positive metastatic colorectal cancer (HERACLES): a proof-of-concept, multicentre, open-label, phase 2 trial. *Lancet Oncol* 2016;17(6):738-46. DOI: 10.1016/S1470-2045(16)00150-9
- Tosi F, Sartore-Bianchi A, Lonardi S, et al. Long-term Clinical Outcome of Trastuzumab and Lapatinib for HER2-positive Metastatic Colorectal Cancer. *Clin Colorectal Cancer* 2020;19(4):256-62.e2. DOI: 10.1016/j.clcc.2020.06.009
- Strickler JH, Cercek A, Siena S, et al. Tucatinib plus trastuzumab for chemotherapy-refractory, HER2-positive, RAS wild-type unresectable or metastatic colorectal cancer (MOUNTAINEER): a multicentre, open-label, phase 2 study. *Lancet Oncol* 2023;24(5):496-508. DOI: 10.1016/S1470-2045(23)00150-X
- Meric-Bernstam F, Hurwitz H, Raghav KPS, et al. Pertuzumab plus trastuzumab for HER2-amplified metastatic colorectal cancer (MyPathway): an updated report from a multicentre, open-label, phase 2a, multiple basket study. *Lancet Oncol* 2019;20(4):518-30. DOI: 10.1016/S1470-2045(18)30904-5
- Nakamura Y, Okamoto W, Kato T, et al. Circulating tumor DNA-guided treatment with pertuzumab plus trastuzumab for HER2-amplified metastatic colorectal cancer: a phase 2 trial. *Nat Med* 2021;27(11):1899-903. DOI: 10.1038/s41591-021-01553-w
- Sartore-Bianchi A, Lonardi S, Martino C, et al. Pertuzumab and trastuzumab emtansine in patients with HER2-amplified metastatic colorectal cancer: the phase II HERACLES-B trial. *ESMO Open* 2020;5(5):e000911. DOI: 10.1136/esmoopen-2020-000911
- Sienna S, Raghav K, Masuishi T, et al. HER2-related biomarkers predict clinical outcomes with trastuzumab deruxetecan treatment in patients with HER2-expressing metastatic colorectal cancer: biomarker analyses of DESTINY-CRC01. *Nat Commun* 2024;15(1):10213. DOI: 10.1038/s41467-024-53223-3
- Chang J, Xu M, Wang C, et al. Dual HER2 targeted therapy with pyrotinib and trastuzumab in refractory HER2 positive metastatic colorectal cancer: a result from HER2-FUSCC-G Study. *Clin Colorectal Cancer* 2022;21(4):347-53. DOI: 10.1016/j.clcc.2022.07.003
- Meric-Bernstam F, Beeram M, Hamilton E, et al. Zanidatamab, a novel bispecific antibody, for the treatment of locally advanced or metastatic HER2-expressing or HER2-amplified cancers: a phase 1, dose-escalation and expansion study. *Lancet Oncol* 2022;23(12):1558-70. DOI: 10.1016/S1470-2045(22)00621-0
- Ambrosini M, Manca P, Nasca V, et al. Epidemiology, pathogenesis, biology and evolving management of MSI-H/dMMR cancers. *Nat Rev Clin Oncol* 2025;22(6):385-407. DOI: 10.1038/s41571-025-01015-z
- Di Mauro A, Santorsola M, Savarese G, et al. High tumor mutational burden assessed through next-generation sequencing predicts favorable survival in microsatellite stable metastatic colon cancer patients. *J Transl Med* 2024;22(1):1107. DOI: 10.1186/s12967-024-05927-9

27. Pietrantonio F, Di Nicolantonio F, Schrock AB, et al. ALK, ROS1, and NTRK Rearrangements in Metastatic Colorectal Cancer. *J Natl Cancer Inst* 2017;109(12). DOI: 10.1093/jnci/djx089
28. Middha S, Zhang L, Nafa K, et al. Reliable Pan-Cancer Microsatellite Instability Assessment by Using Targeted Next-Generation Sequencing Data. *JCO Precis Oncol* 2017;2017:PQ.17.00084. DOI: 10.1200/PQ.17.00084
29. Le DT, Uram JN, Wang H, et al. PD-1 Blockade in Tumors with Mismatch-Repair Deficiency. *N Engl J Med* 2015;372(26):2509-20. DOI: 10.1056/NEJMoa1500596
30. Le DT, Kim TW, Van Cutsem E, et al. Phase II Open-Label Study of Pembrolizumab in Treatment-Refractory, Microsatellite Instability-High/Mismatch Repair-Deficient Metastatic Colorectal Cancer: KEYNOTE-164. *J Clin Oncol* 2020;38(1):11-9. DOI: 10.1200/JCO.19.02107
31. Le DT, Diaz LA Jr, Kim TW, et al. Pembrolizumab for previously treated, microsatellite instability-high/mismatch repair-deficient advanced colorectal cancer: final analysis of KEYNOTE-164. *Eur J Cancer* 2023;186:185-95. DOI: 10.1016/j.ejca.2023.02.016
32. André T, Shiu KK, Kim TW, et al. Pembrolizumab in Microsatellite-Instability-High Advanced Colorectal Cancer. *N Engl J Med* 2020;383(23):2207-18. DOI: 10.1056/NEJMoa2017699
33. André T, Shiu KK, Kim TW, et al. Pembrolizumab versus chemotherapy in microsatellite instability-high or mismatch repair-deficient metastatic colorectal cancer: 5-year follow-up from the randomized phase III KEYNOTE-177 study. *Ann Oncol* 2025;36(3):277-84. DOI: 10.1016/j.annonc.2024.11.012
34. Overman MJ, McDermott R, Leach JL, et al. Nivolumab in patients with metastatic DNA mismatch repair-deficient or microsatellite instability-high colorectal cancer (CheckMate 142): an open-label, multicentre, phase 2 study. *Lancet Oncol* 2017;18(9):1182-91. DOI: 10.1016/S1470-2045(17)30422-9
35. Overman MJ, Lonardi S, Wong KYM, et al. Durable clinical benefit with nivolumab plus ipilimumab in DNA mismatch repair-deficient/microsatellite instability-high metastatic colorectal cancer. *J Clin Oncol* 2018;36(8):773-9. DOI: 10.1200/JCO.2017.76.9901
36. André T, Lonardi S, Wong KYM, et al. Nivolumab plus low-dose ipilimumab in previously treated patients with microsatellite instability-high/mismatch repair-deficient metastatic colorectal cancer: 4-year follow-up from CheckMate 142. *Ann Oncol* 2022;33(10):1052-60. DOI: 10.1016/j.annonc.2022.06.008
37. Lenz HJ, Van Cutsem E, Luisa Limon M, et al. First-Line Nivolumab Plus Low-Dose Ipilimumab for Microsatellite Instability-High/Mismatch Repair-Deficient Metastatic Colorectal Cancer: The Phase II CheckMate 142 Study. *J Clin Oncol* 2022;40(2):161-70. DOI: 10.1200/JCO.21.01015
38. Andre T, Elez E, Van Cutsem E, et al. Nivolumab plus Ipilimumab in Microsatellite-Instability-High Metastatic Colorectal Cancer. *N Engl J Med* 2024;391(21):2014-26. DOI: 10.1056/NEJMoa2402141
39. André T, Berton D, Curigliano G, et al. Antitumor Activity and Safety of Dostarlimab Monotherapy in Patients With Mismatch Repair Deficient Solid Tumors: A Nonrandomized Controlled Trial. *JAMA Netw Open* 2023;6(11):e2341165. Published 2023 Nov 1. DOI: 10.1001/jamanetworkopen.2023.41165
40. Marabelle A, Fakih M, Lopez J, et al. Association of tumour mutational burden with outcomes in patients with advanced solid tumours treated with pembrolizumab: prospective biomarker analysis of the multicohort, open-label, phase 2 KEYNOTE-158 study. *Lancet Oncol* 2020;21(10):1353-65. DOI: 10.1016/S1470-2045(20)30445-9
41. Li Y, Ma Y, Wu Z, et al. Tumor Mutational Burden Predicting the Efficacy of Immune Checkpoint Inhibitors in Colorectal Cancer: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Front Immunol* 2021;12:751407. DOI: 10.3389/fimmu.2021.751407
42. Yamaguchi K, Tsuchihashi K, Ueno S, et al. Efficacy of pembrolizumab in microsatellite-stable, tumor mutational burden-high metastatic colorectal cancer: genomic signatures and clinical outcomes. *ESMO Open* 2025;10(1):104108. DOI: 10.1016/j.esmoop.2024.104108
43. Ratti M, Grizzi G, Passalacqua R, et al. NTRK fusions in colorectal cancer: clinical meaning and future perspective. *Expert Opin Ther Targets* 2021;25(8):677-83. DOI: 10.1080/14728222.2021.1978070
44. Schraa S, Laclé M, Zwart K, et al. Prevalence, treatment response, and survival in a real-world NTRK gene fusion-positive microsatellite instability-high metastatic colorectal cancer cohort. *ESMO Real World Data and Digital Oncology*. 2025;10:100180. DOI: 10.1016/j.esmorw.2025.100180
45. Zhao Z, Verma V, Zhang M. Anaplastic lymphoma kinase: Role in cancer and therapy perspective. *Cancer Biol Ther* 2015;16(12):1691-701. DOI: 10.1080/15384047.2015.1095407
46. Yang YZ, Hu WM, Xia LP, He WZ. Association between somatic RET mutations and clinical and genetic characteristics in patients with metastatic colorectal cancer. *Cancer Med* 2021;10(24):8876-82. DOI: 10.1002/cam4.4400
47. Schraa S, Stelloo E, Laclé MM, et al. Comparison of NTRK fusion detection methods in microsatellite-Instability-High metastatic colorectal cancer. *Virchows Arch* 2023;482(6):983-92. DOI: 10.1007/s00428-023-03538-1
48. Cocco E, Benhamida J, Middha S, et al. Colorectal Carcinomas Containing Hypermethylated MLH1 Promoter and Wild-Type BRAF/KRAS Are Enriched for Targetable Kinase Fusions. *Cancer Res* 2019;79(6):1047-53. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-18-3126
49. Drilon A, Laetsch TW, Kummar S, et al. Efficacy of Larotrectinib in TRK Fusion-Positive Cancers in Adults and Children. *N Engl J Med* 2018;378(8):731-9. DOI: 10.1056/NEJMoa1714448
50. Hong DS, DuBois SG, Kummar S, et al. Larotrectinib in patients with TRK fusion-positive solid tumours: a pooled analysis of three phase 1/2 clinical trials. *Lancet Oncol* 2020;21(4):531-40. DOI: 10.1016/S1470-2045(19)30856-3
51. Qi C, Shen L, Andre T, et al. Efficacy and safety of larotrectinib in patients with TRK fusion gastrointestinal cancer. *Eur J Cancer*. 2025;220:115338. DOI: 10.1016/j.ejca.2025.115338
52. Doebele RC, Drilon A, Paz-Ares L, et al. Entrectinib in patients with advanced or metastatic NTRK fusion-positive solid tumours: integrated analysis of three phase 1-2 trials. *Lancet Oncol* 2020;21(2):271-82. DOI: 10.1016/S1470-2045(19)30691-6
53. Westphalen CB, Martins-Branco D, Beal JR, et al. The ESMO Tumour-Agnostic Classifier and Screener (ETAC-S): a tool for assessing tumour-agnostic potential of molecularly guided therapies and for steering drug development. *Ann Oncol* 2024;35(11):936-53. DOI: 10.1016/j.annonc.2024.07.730
54. Subbiah V, Wolf J, Konda B, et al. Tumour-agnostic efficacy and safety of selipratinib in patients with RET fusion-positive solid tumours other than lung or thyroid tumours (LIBRETTO-001): a phase 1/2, open-label, basket trial. *Lancet Oncol* 2022;23(10):1261-73. DOI: 10.1016/S1470-2045(22)00541-1
55. Subbiah V, Cassier PA, Siena S, et al. Pan-cancer efficacy of pralsetinib in patients with RET fusion-positive solid tumors from the phase 1/2 ARROW trial. *Nat Med* 2022;28(8):1640-45. DOI: 10.1038/s41591-022-01931-y
56. Ambrosini M, Del Re M, Manca P, et al. ALK Inhibitors in Patients With ALK Fusion-Positive GI Cancers: An International Data Set and a Molecular Case Series. *JCO Precis Oncol* 2022;6(1):e2200015. DOI: 10.1200/PQ.22.00015
57. Hsiao SY, He HL, Weng TS, et al. Colorectal Cancer with EML4-ALK Fusion Gene Response to Alectinib: A Case Report and Review of the Literature. *Case Rep Oncol* 2021;14(1):232-8. Published 2021 Mar 1. DOI: 10.1159/000511069
58. Li ZJ, Pat Fong W, Zhang DS, et al. Exploring ALK fusion in colorectal cancer: a case series and comprehensive analysis. *NPJ Precis Oncol* 2024;8(1):100. Published 2024 May 13. DOI: 10.1038/s41698-024-00598-7
59. Normanno N, Caridi V, Fassan M, Avallone A, Ciardiello F, Pinto C. Resistance to immune checkpoint inhibitors in colorectal cancer with deficient mismatch repair/microsatellite instability: misdiagnosis, pseudoprogression and/or tumor heterogeneity? *Explor Target Antitumor Ther* 2024;5(3):495-507. DOI: 10.37349/etat.2024.00231
60. Taieb J, Ambrosini M, Alouani E, et al. Early treatment discontinuation in patients with deficient mismatch repair or microsatellite instability high metastatic colorectal cancer receiving immune checkpoint inhibitors. *J Immunother Cancer* 2025;13(1):e010424. Published 2025 Jan 4. DOI: 10.1136/jitc-2024-010424