

PROYECTO DE INVESTIGACIÓN
**ANÁLISIS COMPARATIVO DE MUTACIONES EN TUMORES DE MAMA TRIPLE
NEGATIVO SEGÚN SU INFILTRACIÓN LINFOCITARIA**

MEMORIA CIENTÍFICA

1.- ANTECEDENTES

El cáncer de mama es el más frecuente y el segundo que más fallecimientos produce por detrás del cáncer de pulmón en mujeres.

Desde un punto de vista muy práctico, el cáncer de mama se divide en 4 grandes subtipos: tumores con receptores hormonales y HER2 negativos, siendo estos:1) tumores agresivos o 2) no agresivos. Si por el contrario sobre-expresan la proteína HER2, son los 3) HER2 positivos; por último, hay tumores que no presentan ni los receptores hormonales ni HER2 y los llamamos 4) tumores triples negativos. El pronóstico de los tres primeros tipos ha mejorado enormemente gracias a los tratamientos dirigidos y a un abordaje multidisciplinar. Sin embargo, de los tumores triple negativos, tan sólo podemos curar un 60% de ellos a pesar de diagnosticarse en estadios precoces.

2.- ALCANCE Y OBJETIVOS

En los últimos años, se ha visto que el sistema inmunológico juega un papel fundamental en el pronóstico de las pacientes con cáncer, y muy especialmente en los tumores de mama triple negativos. Los tumores son capaces de inhibir al sistema inmune para poder crecer, y se ha visto que bloqueando estos mecanismos de inhibición conseguimos que el tumor se reduzca.

La investigación actual se centra en bloquear los mecanismos de desactivación de los linfocitos y hacerlos de nuevo activos dentro del tumor. Sin embargo, un 80-85% de pacientes triple negativos no presentan linfocitos intratumorales, ni activados ni desactivados. Y el problema puede ser doble; o bien estos linfocitos pudieran estar en los ganglios linfáticos esperando ser desbloqueados para dirigirse hacia el tumor, o bien el tumor no es suficientemente inmunogénico y es prácticamente invisible al sistema inmune.

Se han hecho varios análisis de ensayos clínicos que ha demostrado el valor pronóstico de la infiltración inmune antes y después de la operación quirúrgica. En ensayos clínicos de neoadyuvancia (quimioterapia para reducir el tumor antes de la operación), se ha visto que las pacientes con infiltración inmune tienen tasas más altas de RCp (respuesta

completa patológica), que implica un pronóstico mucho mejor que aquellas que aún le han quedado enfermedad residual. Además, en aquellas que no han alcanzado RCp pero tienen infiltración inmune, tienen una supervivencia global más alta que las que no tienen. En los estudios de adyuvancia (quimioterapia después de la operación) se ha visto que tienen también una supervivencia libre de progresión y una supervivencia global mayor las pacientes con infiltración inmune.

El presente trabajo busca entender, en el grupo de pacientes sin infiltración inmune, cuáles son los mecanismos que hacen que los linfocitos estén atrapados en los ganglios linfáticos y sean incapaces de dirigirse hacia el tumor y ejercer allí su acción. También queremos comparar las mutaciones de estas pacientes con aquellas que sí que tienen infiltración inmune para entender cuáles son aquellas capaces de generar neoantígenos con una mayor respuesta inmune. Por lo tanto, podremos valorar una secuencia de tratamientos específica contra estos mecanismos y convertir algunos tumores triples negativos no inmunológicos en tumores inmunológicos con mejor pronóstico y mejores alternativas terapéuticas.

3.- METODOLOGÍA

Se usarán muestras de archivo de pacientes con cáncer de mama triple negativo de los cuales haya muestra disponible del tumor primario y del ganglio al diagnóstico. Serán pacientes con un tumor de tamaño mayor a 10 mm, sin afectación de ningún ganglio y sin metástasis. Se usarán muestras del Hospital Vall d'Hebrón de Barcelona y del Hospital Ramón y Cajal de Madrid. El número total de pacientes será 48.

Como variables clínicas se tendrá en cuenta la edad de la paciente al diagnóstico, el tamaño del tumor, el grado histológico, estadio y la agresividad del tumor (ki67).

Se hará un proceso de prescreening para identificar unas 20 pacientes que tengan altos niveles de Tumor Infiltrating Lymphocytes (TILs) (>40% del área estromal) y unas 28 que tengan niveles bajos de TILs (< 5%). Los TILs se evaluarán en las láminas teñidas con hematoxilina y eosina que se usaron en el diagnóstico. Las pacientes a las que se realizó linfadenectomía o se le extrajeron varios ganglios linfáticos, se elegirá un ganglio del primer nivel.

Aquellas cuya operación sea posterior a 2007 habrá que pedirles el consentimiento informado para el uso de la muestra en este proyecto, según estableció el comité ético del hospital.

Una vez que los pacientes han sido seleccionados, se hará la secuenciación del exoma completo de la muestra de tumor así como una muestra de tejido normal de la paciente.

4. PRESUPUESTO

CONCEPTO	Item Unidades Coste/unidad	Total
Total muestras: 96 muestras (20 TILs+ x 2 + 28 TILs- x 2):	7,86 €	754,56 €
Extracción DNA 96 Secuenciación exoma 96	1.075,71 €	103.268,57 €
TOTAL		104.023,13 €

5.- BIBLIOGRAFÍA

- Tumor-associated lymphocytes as an independent predictor of response to neoadjuvant chemotherapy in breast cancer. Denkert et al. J Clin Oncol. 2010 Feb 1; 28(4):708.
- Neo-antigens predicted by tumor genome meta-analysis correlate with increased patient survival. Brown et al, Genome Research 2014.

Use of HLA peptidomics and whole exome sequencing to identify human immunogenic neo-antigens. Kalaora et al. Oncotarget 2016, Vol. 7, No. 5