

PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

El abordaje de la enfermedad mínima residual como estrategia terapéutica en cáncer de mama HER2+: Prueba de concepto

MEMORIA CIENTÍFICA

El objetivo del tratamiento sistémico en cáncer de mama estadios I-III es erradicar la potencial enfermedad micrometastásica, lo que ha demostrado mejorar el pronóstico de las pacientes, mejorando tanto la supervivencia libre de enfermedad (SLE) como la supervivencia global. En el cáncer de mama fenotipo HER2-positivo se ha consolidado la estrategia terapéutica neoadyuvante como tratamiento de elección, consistente en administrar el tratamiento sistémico dirigido antes de la cirugía, lo que permite que un alto porcentaje de pacientes alcancen la remisión patológica completa (RCp) del tumor en la cirugía. Esta RCp identifica pacientes con un excelente pronóstico al ser la eficacia sobre la potencial enfermedad micrometastásica de similar magnitud. Por el contrario, las pacientes que no obtienen una RCp con la terapia inicial ven comprometida su supervivencia. Recientemente se ha demostrado que en estas pacientes la administración posterior de 14 ciclos de trastuzumab-emtansina (TDM1) se asocia a una mejoría de la SLE que alcanza el 50% de beneficio relativo frente a otras alternativas. Todo ello nos permite una estrategia de modulación terapéutica guiada por el resultado en la cirugía, contribuyendo a mejorar el pronóstico del total de las pacientes HER2.

Sin embargo, no todas las pacientes se van a curar a pesar de ser tratadas con las mejores alternativas terapéuticas. En esta línea empezamos a trabajar con el concepto de enfermedad mínima residual (EMR). Nuevas tecnologías de análisis y secuenciación del ADN circulante tumoral (ctADN) en sangre nos permiten identificar y monitorizar la persistencia del tumor a un nivel microscópico. Un resultado positivo de esta técnica de EMR señalaría que no se ha conseguido erradicar el tumor y que esté reaparecerá en general en el año subsiguiente. Es más, si esta EMR se objetiva durante la adyuvancia y aumenta cuantitativamente, no es más que un reflejo de enfermedad micrometastásica que se hará aparente en un breve plazo de tiempo.

En este estudio, pretendemos valorar un cambio de estrategia terapéutica en una paciente en tratamiento con TDM1 adyuvante con aumento progresivo de EMR.

Aparentemente sin tumor residual, se ha realizado una biopsia líquida y secuenciación del ctADN, detectándose mutación en el gen *TP53* que ha ido aumentando tras dos determinaciones consecutivas, lo que se traduce en persistencia de enfermedad. Se pretende administrar trastuzumab deruxtecan (TDXd) con el objetivo de eliminar esta EMR y aumentar las posibilidades de curación.

Hipótesis:

Existe enfermedad tras tratamientos iniciales detectada mediante el ctADN de la biopsia líquida; con la administración del tratamiento trastuzumab deruxtecan (TDXd) este se debería de negativizar.

Objetivos:**Objetivo primario**

- Estudiar si el cambio de tratamiento a trastuzumab deruxtecan (TDXd) puede negativizar el ctADN.

Objetivos secundarios

1. Identificación de alteraciones génicas en el ADN de la muestra de la biopsia inicial y de la muestra de tumor residual de la pieza de cirugía post neoadyuvancia mediante secuenciación masiva.
2. Identificación de mutaciones en el ctADN de la biopsia líquida mediante análisis de secuenciación masiva a las 4 semanas, a los 3 meses, a los 6 y a los 12 meses.
3. Correlacionar las alteraciones entre ambos tumores sólidos y de estos con cada una de las biopsias líquidas.
4. Estudiar la rapidez en la respuesta a tratamiento mediante análisis de secuenciación de ctADN de biopsia líquida a las 4 semanas, a los 3 meses, a los 6 y a los 12 meses.

Metodología:

1. Identificación de alteraciones génicas en el ADN de la muestra de la biopsia inicial y de la muestra de tumor residual de la pieza de cirugía post neoadyuvancia mediante secuenciación masiva.

Las muestras de tejido se examinarán con secciones tumorales teñidas con hematoxilina-eosina para identificar regiones que contienen células tumorales. El ADN se extraerá de tejido tumoral fijado con formalina e incluido en parafina (FFPE) con el kit de tejido QIAamp DNA FFPE. Se realizará un estudio cuantitativo y cualitativo de las muestras de ADN, esto se hará utilizando Qubit y TapeStation (Agilent 2200 TapeStation) respectivamente. Finalmente, se secuenciarán las muestras con el test "SureSelect Cancer All-In-One Solid Tumor Assay" de Agilent, mediante el cual se analizarán 98 genes clínicamente relevantes para los tipos de tumores sólidos comunes, y se obtendrá un listado de variantes potencialmente patogénicas de cada muestra.

2. Identificación de mutaciones en el ctADN de la biopsia líquida mediante análisis de secuenciación masiva a las 4 semanas, a los 3 meses, a los 6 y a los 12 meses.

Se realizará una extracción de sangre a la paciente a las 4 semanas, a los 3 meses, a los 6 y a los 12 meses, tras el tratamiento. A partir de muestras de sangre periférica, el ctADN se aislará del plasma utilizando el kit de ácido nucleico circulante QIAamp y se externalizará la secuenciación, que se hará mediante el test Guardant-360, que permite evaluar un panel integral de 74 genes. Mediante técnicas de secuenciación masiva, se identificará con elevada sensibilidad alteraciones como: mutaciones, copias, inestabilidad de microsatélites y genes de fusión.

3. Correlacionar las alteraciones entre ambos tumores sólidos y de estos con cada una de las biopsias líquidas.

Se compararán las mutaciones entre muestras de tumor sólido, se verán los cambios moleculares tras el tratamiento neoadyuvante en la pieza quirúrgica. También se correlacionarán las alteraciones tanto de la biopsia inicial, como del tumor residual tras neoadyuvancia, con cada una de las muestras de biopsia líquida, se verá si en el ctADN de la biopsia líquida refleja el perfil molecular del tumor sólido y si se encuentran mutaciones no vistas en este.

4. Estudiar la respuesta en la rapidez a tratamiento mediante análisis de secuenciación de ctADN de biopsia líquida a las 4 semanas, a los 3 meses, a los 6 y a los 12 meses.

Mediante el análisis periódico del ctADN se verán los cambios a nivel molecular que irá sufriendo el tumor durante el tratamiento, se verá si con el tiempo desaparece y con qué rapidez lo hace, y si se mantiene sin alteraciones relacionadas con la enfermedad durante 3 años tras haber finalizado el tratamiento.

Presupuesto:

Presupuesto	
Extracción ADN de tumor sólido de muestras parafinadas	25 €
Secuenciación del ADN de las muestras parafinadas	700 €
Validación de variantes por SANGER	150 €
Secuenciación del ctADN de biopsia líquida de las muestras a los 4 tiempos	6.980 €
Personal (1 año con dedicación a tiempo parcial a este proyecto)	5.000 €
Publicaciones y presentación en congreso médico	2.000 €
Overheads	2.621 €
TOTAL	17.476 €