



Universidad  
Católica  
de Valencia  
San Vicente Mártir

**Universidad Católica de Valencia**  
**San Vicente Mártir**  
**Facultad de Medicina y Ciencias de la Salud**

## **Grado en Medicina**

**Trabajo de Fin de Grado**

**CÁNCER DE MAMA AVANZADO: ANÁLISIS DE ctDNA  
Y NEXT GENERATION SEQUENCING (AVENIO-77)  
EN LA IDENTIFICACIÓN DE BIOMARCADORES  
Y SU COMPORTAMIENTO CLÍNICO**

**Autor:**

D. Alberto Barragán García

**Director:**

Dr. D. Antonio Llombart Cussac

Dr. D. Antonio Llombart Cussac:

Certifica:

Que el Trabajo Fin de Grado titulado: “**CÁNCER DE MAMA AVANZADO: ANÁLISIS DE ctDNA Y NEXT GENERATION SEQUENCING (AVENIO-77) EN LA IDENTIFICACIÓN DE BIOMARCADORES Y SU COMPORTAMIENTO CLÍNICO**” ha sido realizado bajo mi dirección por el alumno D. Alberto Barragán García.

Para que conste a todos los efectos.

Valencia, 7 de Mayo de 2022

Fdo.:

Firmado digitalmente por ANTONIO|  
LLOMBART|CUSSAC  
Nombre de reconocimiento (DN):  
cn=ANTONIO|LLOMBART|CUSSAC,  
serialNumber=19850939F,  
givenName=ANTONIO, sn=LLOMBART  
CUSSAC, ou=CIUDADANOS, o=ACCV, c=ES  
Fecha: 2022.05.07 09:33:04 +02'00'

Dr. D. Antonio Llombart Cussac

## **AGRADECIMIENTOS**

En primer lugar, al Dr. D. Antonio Llombart Cussac, por su inestimable ayuda a lo largo de todo el proceso de elaboración de este trabajo.

A la Dra. Paula Llorod, por su paciencia y apoyo metodológico.

A la Universidad Católica de Valencia, por haberme brindado la oportunidad de formarme en medicina y ofrecerme la oportunidad de haber compartido 6 años con compañeros y amigos que, sin duda, lo serán de por vida.

Por último, gracias a mi familia, por su apoyo incondicional.

## INDICE

1.	RESUMEN.....	1
2.	ABSTRACT.....	2
3.	INTRODUCCIÓN.....	3
3.1	Cáncer de mama: definición, incidencia, mortalidad e importancia de la enfermedad.....	3
3.2	Cáncer de mama: patogenia y factores de riesgo.....	4
3.3	Cáncer de mama: clasificación.....	8
3.3.1	Clasificación TNM del Cáncer de mama.....	10
3.3.2	Factores pronósticos del cáncer de mama.....	12
3.3.3	Clasificación molecular del cáncer de mama.....	13
3.3.4	Tratamiento del cáncer de mama.....	15
3.4	Cáncer de mama metastásico (CMMT).....	16
3.4.1	Cáncer de mama metastásico: Manejo global.....	16
3.4.2	Cáncer de mama metastásico. Terapia sistémica en función del fenotipo:.....	19
3.4.3	Cáncer de mama luminal (HR+/HER2-).....	22
3.4.4	Cáncer de mama metastásico: Tumores HER2 +.....	25
4.	HIPÓTESIS.....	31
5.	OBJETIVOS.....	31
5.1	Objetivo principal:.....	31
5.2	Objetivos secundarios:.....	31
6.	MATERIALES Y MÉTODOS.....	32
6.1	Diseño del estudio.....	32
6.2	Población a estudio.....	32
6.3	Criterios de inclusión.....	33
6.4	Criterios de exclusión.....	33



6.5	Variables.....	34
6.5.1	Variables clínicas:.....	34
6.5.2	Variables anatomopatológicas:.....	34
6.5.3	Variables relacionadas con análisis de biopsia líquida:.....	34
6.5.4	Variables de seguimiento:.....	35
7.	RESULTADOS.....	36
7.1	Características de la población analizada.....	36
7.2	Aspectos relacionados con las mutaciones detectadas.....	39
7.3	Correlación de los resultados con la supervivencia global.....	45
8.	DISCUSIÓN.....	51
9.	CONCLUSIONES.....	60
10.	TABLAS Y FIGURAS.....	61
10.1	Tablas.....	61
10.2	Figuras.....	62
11.	ANEXO I: Aprobación del estudio por el Comité Ético de Investigación con medicamentos del Departamento de Salud Arnau de Vilanova-Lliria.....	63
12.	BIBLIOGRAFÍA.....	64

## 1. RESUMEN

**Objetivos:** Describir la prevalencia de mutaciones por plataforma molecular (Avenio-77) en pacientes con cáncer de mama avanzado (CMM) y su relación con factores clínicos, biológicos y moleculares, para identificar pacientes con indicación de terapia dirigida y correlacionar variables con la supervivencia global.

**Material y Métodos:** Pacientes con edad media de 61 años (estadío IV-TNM) entre 1-11-2019 y 31-12-2021 del Hospital Arnau de Vilanova (Valencia). Variables de situación clínica inicial, histoquímicas, mutaciones genómicas y de seguimiento terapéutico.

**Resultados:** 74 mujeres / 2 hombres; 46 sin tratamiento previo (60,5%). En 53 pacientes (69,7%) se detectaron mutaciones accionables (más prevalentes PI3K, ERBB, ESR1). Correlación de mutaciones ( $p < 0,05$ ): fenotipo luminal - mutaciones PI3K y ESR1; p53 - enfermedad visceral; ESR1 - pacientes en 1ª línea de tratamiento; p53 - CEA alto; Ca 15.3 - ESR1 y p53; CTCs>5 - presencia de mutaciones patológicas y ESR1. 34 pacientes progresaron a 1ª línea de tratamiento (44,74%) y a 8 se les aplicó terapia dirigida (10,53%).

**Conclusiones:** El estudio de ctDNA en sangre permite identificar mutaciones en CMM para valoración de terapia dirigida. La carga mutacional está correlacionada con menor supervivencia. Las pacientes que se derivan a terapia dirigida son principalmente en enfermedad luminal. La indicación de terapia dirigida es escasa. La SG es menor en pacientes con CTCs>5, enfermedad visceral y fenotipos HER2+CTMN.

**Palabras Clave:** Biopsia líquida, ADN tumoral circulante, NGS-ctDNA, cáncer de mama avanzado, driver accionable.

## 2. ABSTRACT

**Objectives:** To describe the prevalence of mutations by molecular platform (Avenio-77) in patients with advanced breast cancer (MBC), its relationship with clinical, biological and molecular factors, to identify patients with indication for targeted therapy and correlate variables with overall survival.

**Material and Methods:** Patients with a mean age of 61 years (stage IV-TNM) between 11-1-2019 and 12-31-2021 at Hospital Arnau de Vilanova (Valencia). Variables of initial clinical status, histochemical, genomic mutations and therapeutic follow-up.

**Results:** 74 women / 2 men; 46 without previous treatment (60.5%). Actionable mutations (most prevalent PI3K, ERBB, ESR1) were detected in 53 patients (69.7%). Correlation of mutations ( $p < 0.05$ ): luminal phenotype - PI3K and ESR1 mutations; p53 - visceral disease; ESR1 - patients in 1st line of treatment; p53 - high CEA; Ca 15.3 - ESR1 and p53; CTCs>5 - presence of pathological mutations and ESR1. 34 patients progressed to 1st line of treatment (44.74%) and 8 had targeted therapy (10.53%)..

**Conclusions:** The study of ctDNA in blood allows identification of MSC mutations for targeted therapy assessment. Mutational burden is correlated with lower survival. Patients referred for targeted therapy are mainly in luminal disease. Indication for targeted therapy is rare. OS is lower in patients with CTCs>5, visceral disease and HER2+CTMN phenotypes..

**Keywords:** Liquid biopsy, circulating tumor DNA, NGS-ctDNA, advanced breast cancer, actionable driver.

### **3. INTRODUCCIÓN**

#### **3.1 Cáncer de mama: definición, incidencia, mortalidad e importancia de la enfermedad**

El cáncer de mama se produce por la proliferación indiscriminada de las células epiteliales de la glándula mamaria. A través de la sangre o linfa, pueden llegar a invadir otras estructuras tisulares desarrollando metástasis(1).

El cáncer de mama es una de las causas más frecuentes de morbi-mortalidad del siglo XXI, tan solo por detrás de las enfermedades cardiocirculatoria, y es el de mayor incidencia y prevalencia en la mujer. En 2020, se diagnosticaron más de 2,2 millones de nuevos casos en el mundo y alrededor de 685.000 mujeres fallecieron como consecuencia de esa enfermedad. Aproximadamente, 1 de cada 12 mujeres enfermará de cáncer de mama a lo largo de su vida. Es la principal causa de mortalidad en las mujeres en países desarrollados.

Su incidencia varía en función de la localización geográfica, habiéndose llegado a estabilizar en algunos países desarrollados. Por el contrario, la incidencia está aumentando en los países subdesarrollados o en vías de desarrollo a causa del desarrollo humano y la adquisición del estilo de vida occidental. Constituye, por tanto, el tumor más frecuente en las mujeres(2). En nuestro país, fueron diagnosticadas 33.375 mujeres, tal y como consta en el informe de la Sociedad Española de Oncología Médica (SEOM)(3), que representa una incidencia de 139 casos por 100.000 habitantes. La probabilidad estimada de desarrollar cáncer de mama siendo mujer es de 1 de cada 8(4).

A este aumento de incidencia, contribuyen factores tales como el aumento de población, el aumento de la esperanza de vida y los cambios en los estilos de vida, principalmente. También influyen factores el mayor cribado poblacional y

otras causas como la vida sedentaria, la obesidad, el tabaquismo, el consumo de alcohol o la contaminación urbana, todos ellos, considerados como modificables(5).

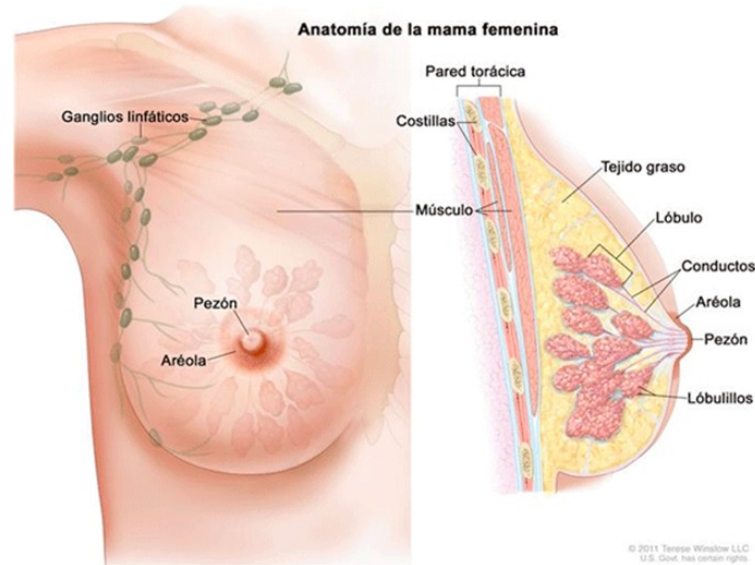
La mayor incidencia se da sobre todo en pacientes entre 45-65 años coincidiendo con la peri y post menopausia, lo que demuestra la influencia hormonal en la génesis y desarrollo de la enfermedad(4). Únicamente el 1% de los cánceres de mama ocurren en el varón y, de este porcentaje, un 15-20% están relacionados con formas de cáncer hereditario. A causa de esto, se tarda más en el diagnóstico y tratamiento en estos pacientes(4).

La mortalidad en España por esta enfermedad ha disminuido de forma significativa a lo largo de los últimos años, siendo la tasa de mortalidad de 22,7 por 100.000 habitantes. A esta evolución están contribuyendo el diagnóstico precoz favorecido por los cribados y los nuevos tratamientos derivados de los avances en el conocimiento de las alteraciones moleculares. No obstante, es *“la primera causa de muerte de mujeres por cáncer, con 6.606 fallecimientos en el último año, lo que representa el 5,8% del total de muertes por cáncer”*, como recoge el Informe de SEOM de 2021(4).

### **3.2 Cáncer de mama: patogenia y factores de riesgo**

La mama (Figura 1) está constituida por tejido glandular y tejido adiposo y contiene entre 15 y 20 lobulillos, de los que salen los conductos galactóforos, que confluyen en el seno galactóforo, comunicado con el exterior por el pezón. Por esta estructura drena la leche. Se encuentra situada entre la 2ª y 6ª costilla y desde el esternón (a unos 2 centímetros) hasta la línea media axilar. Por debajo, está unida a la fascia del músculo pectoral mayor por los ligamentos de Cooper. Su vascularización depende de la arteria y venas mamarias internas, de la arteria axilar y de las arterias intercostales y toracoacromiales. La mama también contiene vasos linfáticos encargados de drenar la linfa desde los linfáticos

interlobulillares que forman el plexo linfático subareolar hasta los ganglios linfáticos situados en la axila, principalmente(6).



**Figura 1.** Anatomía de la mama. ©Terese Winslow LLC, Medical And Scientific Illustration

La etiología del cáncer de mama no es conocida del todo. Lo que sí se conocen son factores que ayudan a predecir y cuantificar el riesgo que hay de padecerlo, pero en más del 80% de mujeres con cáncer, no tiene relación con ningún factor de riesgo y debuta espontáneamente.

El riesgo relativo compara la afectación por la enfermedad en una población con las mujeres no expuestas. El riesgo absoluto es la probabilidad de desarrollar cáncer de mama en un intervalo de tiempo. Se expresa como riesgo acumulado por la suma del riesgo anual a los 10 años o de por vida

Los principales factores de riesgo conocidos con evidencia científica son:

- el sexo, las mujeres tienen mayor riesgo de desarrollar cáncer de mama que los hombres (el 99% de cánceres de mama aparecen en mujeres). El riesgo relativo de la mujer se considera casi 100 veces mayor que en el hombre.
- la edad, el riesgo de cáncer de mama aumenta con la edad durante los años de actividad sexual en la mujer. Tras la menopausia, el incremento es

menor. La máxima incidencia está por encima de los 50 años, siendo el riesgo relativo de una mujer de 70 años casi 10 veces superior al de una mujer de 30.

- Antecedentes familiares. Las mujeres con antecedentes familiares en un familiar de primer grado, tienen el doble de riesgo de cáncer de mama. Y se multiplica por 5 si es en dos familiares de primer grado.(7,8).
- El riesgo genético que se ha asociado principalmente a mutaciones de los genes BRCA 1 y 2 pueden ser responsables de hasta el 10% de todos los casos de cáncer de mama. También existe predisposición genética si se detectan alteraciones tales como ATM, BRIP1 CDH1, CHEK2, MRE11A, NBN, PTEN, RAD50, RAD51C, STK11, TP53, RB1, PALB2, entre otros(9).
- Las mujeres con mamas densas adquieren un incremento del riesgo de cáncer de mama. A menudo, esta característica es inherente y en cierto modo modificable por la conducta reproductiva, el consumo de bebidas alcohólicas y de fármacos(10). Además, tienen un riesgo relativo mayor que oscila entre el 1,79 y el 4,64 respecto a las mujeres con una densidad mamaria menor (8,11). Igualmente, el riesgo está aumentado cuando se presentan antecedentes personales como diagnóstico previo de cáncer de mama, aumenta el riesgo relativo de padecer otro cáncer de mama contralateral hasta 10 veces, o de lesiones proliferativas benignas de mama como fibroadenomas complejos incrementándose el riesgo relativo entre un 1,3 y un 2, según las series(11).
- Otro factor con evidencia suficiente que se relaciona con el incremento de riesgo de cáncer de mama es el tiempo de exposición a hormonas sexuales. La mayoría de los cánceres de mama contienen receptores hormonales para el estradiol (ER), y a veces para la progesterona (PR). En particular, la nuliparidad, la edad del primer embarazo a término, la obesidad antes de la menopausia y la edad de la primera menstruación son factores de riesgo sólo para los cánceres hormonales(12).
- La exposición a radiaciones ionizantes, como la exposición a la radiación solar ultravioleta reduce el riesgo de cáncer de mama, especialmente en mujeres a partir de los 40 años. No se encontró una asociación significativa

para el uso de protectores solares, pero sí el estado del receptor de estrógeno, el bronceado y la cobertura de las extremidades pueden afectar el riesgo de desarrollar cáncer de mama(13).

- Factores como son la obesidad (14) y el consumo continuado y abundante de alcohol (15), se ha demostrado que incrementan significativamente el riesgo relativo de padecer la enfermedad además de un empeoramiento durante el tratamiento y aumento de las recidivas.

Para el diagnóstico del cáncer de mama, se realiza biopsia del tumor mediante punción aspiración con aguja fina (PAAF) o biopsia con aguja gruesa (BAG), que técnica idónea para el estudio del tejido afecto, biopsia quirúrgica o por incisión y posteriormente la valoración anatomopatológica de la muestra obtenida(16).

La incidencia de cáncer de mama, unido a una mejora de la eficacia de los tratamientos en las fases más tempranas y al perfeccionamiento de las técnicas de cribado en fase subclínica, ha impulsado el desarrollo de protocolos de prevención secundaria por los diferentes sistemas de salud occidentales que, progresivamente, se han ido adaptando a sectores más amplios de la población.

El Programa de cribado del cáncer de mama (PCCM) del Sistema Nacional de Salud consiste en la realización de una mamografía bienal a mujeres de edad comprendida entre los 50 y 69 años de edad, ambos años incluidos(17). Se recomienda su desarrollo generalizado y así lo recoge actualmente la estrategia desarrollada por la Comunidad Valenciana (mediante el cribado con mamografía bilateral en doble proyección cada dos años a mujeres entre los 45 y los 69 años, 5 años antes que el resto de España(18).

El diagnóstico por imagen más estandarizado en la detección del cáncer de mama es la mamografía. Actualmente y con los avances tecnológicos se han desarrollado equipos de mamografía digital con TAC que permiten reconstrucción de imágenes en 3D con las que se ha ampliado la sensibilidad de esta

prueba(19), no obstante para la interpretación de las imágenes, en muchas ocasiones se requiere de la complementación mediante la imagen por ecografía (20) y en otras de resonancia magnética, que tiene más sensibilidad pero menos especificidad(21).

La notificación de los resultados de la mamografía se lleva a cabo utilizando la clasificación del Breast Imaging Reporting and Data System (BI-RADS)(22) (Tabla 1).

**Tabla 1.** Clasificación BIDRADS (Revista Médica, 2014. N°1)

<b>BR 1</b>	Mama normal
<b>BR 2</b>	Patología benigna
<b>BR 3</b>	Sugestivo de benignidad <2%
<b>BR 4a</b>	Baja a moderada sospecha 2-10%
<b>BR 4b</b>	Moderada sospecha 11-40%
<b>BR 4c</b>	Moderada-alta sospecha 41-94%
<b>BR 5</b>	Alta sospecha de malignidad >95%
<b>BR 6</b>	Malignidad confirmada
<b>BR 0</b>	Estudio insuficiente

### 3.3 Cáncer de mama: clasificación

Existen varias formas de clasificación del cáncer de mama: en función de su morfología, histología, parámetros moleculares o en función de la extensión siguiendo el TNM.

En función de su origen, hay que resaltar que la gran mayoría de tumores malignos surgen en el tejido glandular de la mama. Su origen reside en el tejido epitelial por lo que se denominan "carcinomas" y destaca como más frecuente tanto en la mujer como en el varón (80% de los casos) el carcinoma ductal invasivo o infiltrante. Cuando el desarrollo es a partir de células de tejido graso,

muscular o tejido conectivo se les denomina “sarcomas”, estos últimos en la mama son muy poco frecuentes(23).

Los carcinomas de mama se pueden clasificar en carcinomas in situ, cuando no han sobrepasado aún la capa basal y por lo tanto no se ha extendido el tumor, o carcinomas invasivos o infiltrantes cuando si se ha conseguido sobrepasar la capa basal y esto provoca que pueda diseminarse hacia ganglios linfáticos. Los carcinomas in situ deben tratarse y extirparse ya que se han encontrado células cancerosas y, si no se tratan, más adelante podrían convertirse en un carcinoma invasivo. Además, los podemos diferenciar en función de su localización, siendo los más frecuentes el ductal, cuando su origen reside en las células de los conductos galactóforos, y el lobulillar, si su origen está en los lobulillos. Otros cánceres menos frecuentes tienen su origen en otro tipo de células y son llamados papilares, mucinosos, tubulares o metaplásicos, por lo que principalmente podemos encontrar los siguientes patrones histológicos(23):

- Carcinoma ductal in situ
- Carcinoma lobulillar in situ  
(ambos, con una frecuencia de un 15%-30%)
- Carcinoma ductal invasivo o infiltrante (cerca del 80% de los casos)
- Carcinoma lobulillar invasivo o infiltrante (7-11% de los casos, siendo el segundo cáncer de mama más frecuente)
- Carcinoma invasivo tubular (4-6%)
- Carcinoma invasivo mucinoso (2%)
- Carcinoma invasivo papilar (0,5-1%)
- Carcinoma invasivo metaplásico (menor a 1%)(24)

También es posible diferenciar algunos tipos de cáncer de mama menos frecuentes que, a pesar de que histológicamente se correspondan con alguno de los mencionados anteriormente, presentan características propias que los diferencian y les confieren una identidad, pronóstico y tratamiento propios.

Uno de ellos es el carcinoma inflamatorio de mama (incidencia menor del 3%), de comportamiento agresivo debido a su rápido crecimiento y que desde un punto de vista clínico se manifiesta como un enrojecimiento y edema difuso de una parte importante de la mama (piel de naranja), a menudo con retracción del pezón y sintomatología compatible a la de una mastitis. Otro ejemplo es la enfermedad de Paget de la mama, que afecta principalmente a la piel del pezón y la areola presentando una imagen de eccema con descamación. En su gran mayoría se asocia a la presencia de carcinoma ductal in situ(23).

### 3.3.1 Clasificación TNM del Cáncer de mama

En el cáncer de mama, al igual que con los otros tumores, también se sigue la clasificación TNM para valorar su estadio evolutivo y pronóstico. Así, dependiendo del momento en el que se realice, se denominará:

- cTNM cuando se lleve a cabo inicialmente por un examen clínico y se emplea para la indicación del tratamiento primario
- pTNM, elaborado sobre los hallazgos anatomopatológicos obtenidos tras cirugía y aporta datos precisos sobre la extensión de la enfermedad. Se emplea para indicación del tratamiento adyuvante y con el fin de establecer un pronóstico
- ypTNM, cuando se ha llevado a cabo tras la cirugía y el tratamiento neoadyuvante(24,25)

Cserni G et al, en su artículo “The new TNM-based staging of breast cancer” publicado en 2018, diseña una clasificación que, además de relacionar los diferentes estadios, orienta hacia el tratamiento e informa del pronóstico de supervivencia:

- Estadio IA: Tumor pequeño, invasivo y no hay diseminación a ganglios linfáticos (T1, N0, M0).
- Estadio IB: Sí se ha diseminado solo a los ganglios linfáticos y ésta mide más de 0.2 mm, pero menos de 2 mm. No existe evidencia de tumor en la mama o mide 20 mm o menos (T0 o T1, N1mi, M0).



- Estadio IIA, cualquiera de estas condiciones:
  - No se evidencia un tumor en la mama, pero el cáncer se ha diseminado a un número de 1 a 3 ganglios linfáticos axilares. No se ha diseminado a partes distantes del cuerpo. (T0, N1, M0).
  - El tumor mide 20 mm o menos y se ha diseminado a los ganglios linfáticos axilares (T1, N1, M0).
  - El tumor mide más de 20 mm pero menos de 50 mm y no existe diseminación linfática. (T2, N0, M0).
- Estadio IIB, cualquiera de estas condiciones:
  - El tumor mide más de 20 mm pero menos de 50 mm y se evidencia diseminación de 1 a 3 ganglios linfáticos axilares (T2, N1, M0).
  - El tumor mide más de 50 mm pero no se evidencia diseminación a ganglios linfáticos (T3, N0, M0).
- Estadio IIIA: Cáncer de cualquier tamaño que se ha diseminado a un número de 4 a 9 ganglios linfáticos axilares o ganglios linfáticos mamaros internos. No se ha diseminado a otras partes del cuerpo (T0, T1, T2 o T3, N2, M0). También puede ser un tumor mayor que 50 mm que se ha diseminado a un número de 1 a 3 ganglios linfáticos axilares (T3, N1, M0).
- Estadio IIIB: el tumor ha infiltrado a la pared torácica o ha causado hinchazón o ulceración de la mama o se diagnostica como cáncer inflamatorio de mama, con diseminación o no a un máximo de 9 ganglios linfáticos mamaros internos o axilares. No se ha diseminado a otras partes del cuerpo (T4; N0, N1 o N2; M0).
- Estadio IIIC: Tumor de cualquier tamaño que ha diseminado a 10 o más ganglios linfáticos axilares, los ganglios mamaros internos o los ganglios linfáticos infraclaviculares. No se ha diseminado a otras partes del cuerpo (cualquier T, N3, M0).
- Estadio IV (metastásico): el tumor puede tener cualquier tamaño y se ha diseminado a otros órganos. (cualquier T, cualquier N, M1)(26).

### 3.3.2 Factores pronósticos del cáncer de mama

Los de mayor relevancia, son:

- Edad: Las mujeres jóvenes (20-30 años) tienen peor pronóstico que las mujeres de mediana edad. Parece ser que es debido a que las mujeres más jóvenes tienen más probabilidad de tener afectación axilar linfática, receptor estrogénico (RE) negativos con respecto a las mujeres de mayor edad. Un estudio que se realizó en mujeres premenopáusicas con cáncer de mama invasivo que eran tratadas en el Instituto Europeo de Oncología, mostró que “las menores de 35 años tuvieron un mayor porcentaje de tumores con receptores hormonales negativos, invasión linfática o vascular y tumores grado III, que las mujeres de 35 a 50 años” (27).
- Grado histológico: Dependiendo del porcentaje de células en mitosis, el grado de asimetría de los núcleos y de las células tumorales, podrán clasificarse en más diferenciadas (grado I), que son más maduras y menos agresivas, o pobremente diferenciadas (grado III) que tienen una capacidad más agresiva junto con peor pronóstico y el grado II que es el punto intermedio entre ambas (28,29).
- Estadio de la enfermedad: El objetivo principal del cáncer de mama en los estadios I, II y III es la curación mediante el tratamiento, tanto sistémico como quirúrgico. En el estadio IV el objetivo es mejorar los síntomas de la enfermedad y aumentar la supervivencia global, ya que en este estado la curación a día de hoy no se contempla(30).
- Estado del receptor de estrógeno (RE) y receptor de progesterona (RP) del tumor: Los tumores positivos para estos receptores, tienen mejor pronóstico y tienen valor predictivo (31).
- Sobreexpresión de HER2: Este marcador se relaciona con un fenotipo más agresivo y con un peor pronóstico, con más propensión a la recurrencia y metástasis. También es un factor predictivo (31).



- Activador del plasminógeno tipo urokinasa (uPA) y su inhibidor tipo 1 (PAI-1): tienen valor pronóstico, especialmente, cuando no existe afectación ganglionar(32). La American Society of Clinical Oncology (ASCO) considera la utilización de uPA/PAI-1, en casos sin afectación ganglionar con RH positivos y HER2 negativo, para la indicación de quimioterapia adyuvante, con alta evidencia científica, aunque con recomendación débil(33).

### 3.3.3 Clasificación molecular del cáncer de mama

Los carcinomas se clasifican en función de los parámetros moleculares por la utilidad en pronosticar su evolución y seleccionar tratamientos específicos con terapias diana.

Actualmente se diferencian 4 subtipos moleculares:

- Luminal A.
- Luminal B.
- HER2+.
- Basal like o triple negativo (CMTN).

Para esta clasificación es preciso analizar los perfiles moleculares. Sin embargo, en la actualidad, se utiliza, también, una clasificación basada en el perfil inmunohistoquímico (IHQ) mediante la cuantificación en la expresión de determinadas proteínas en las células tumorales. Aunque la correlación molecular-IHQ no es perfecta, se asume su utilidad asistencial. La determinación IHQ se caracteriza con 4 proteínas fundamentales:

- Ki67: proteína que reside en el núcleo celular de las células tumorales cuando estas se encuentran en fase de división, y permite determinar el índice de proliferación tumoral.
- Receptores hormonales: de estrógeno (RE) o de progesterona (RP).
- Her2 (Human epidermal growth factor receptor 2): proteína de superficie celular receptora del factor de crecimiento epidérmico humano tipo 2(34).

En base a la determinación por IHQ de estas proteínas tumorales se clasifica en el subtipo molecular correspondiente:

- Tumor Luminal tipo A, si presenta receptores hormonales intensamente positivos (RE+, RP>20%), que además son HER2 negativos y tienen un Ki67 <14%. Esto indica que son tumores de proliferación baja por lo que inicialmente presentan muy buen pronóstico. Es el subtipo molecular más frecuente, representando el 25-50% de todos los cánceres de mama(23,35).
- Luminal tipo B HER2 negativo, cuando presente RE+ y al menos una de las siguientes características: Ki67≥20%, RP negativo o <20%. Además, consideraremos como luminal tipo B todo tumor HER2 +, que exprese RE+ y cualesquiera que sean los niveles de Ki67 y de RP. El fenotipo luminal B incluye el 25-45% de los tumores de mama. Presentan un pronóstico significativamente peor que los tumores luminales A a pesar de una moderada sensibilidad a la quimioterapia y terapias biológicas si poseen HER2+(23,35,36).
- El subtipo molecular HER2 positivo incluye tumores con ausencia de expresión de los receptores hormonales y sobreexpresión de la proteína de superficie HER2. Presentan un índice de proliferación elevado y un mal pronóstico en ausencia de terapias dirigidas. Supone menos del 15% de todos los tumores de mama(23).
- El tumor basal-like, IHQ definido como triple negativo (CMTN), presenta la característica de la negatividad de expresión tanto para los receptores hormonales como para la proteína de superficie HER2. Tienen por lo general un peor pronóstico por su capacidad proliferativa y la ausencia de terapias dirigidas. Se ha encontrado relación con su aparición en edades más jóvenes, raza negra y síndromes de cáncer familiar (BRCA1, BRCA2 y otros menos prevalentes). En edades jóvenes, se aconseja llevar a cabo estudios genéticos. Suponen el 15% de todos los cánceres de mama(23,37).

### 3.3.4 Tratamiento del cáncer de mama

Cirugía. Se utilizará como parte del tratamiento en estadíos I, II y III:

- Cirugía con conservación de la mama.
- Mastectomía radical y disección ganglionar axilar con posterior reconstrucción de la mama (o no).

Radioterapia posoperatoria

- Tras mastectomía si no hay afectación ganglionar axilar.
- Tras mastectomía con afectación ganglionar axilar:
  - o De 1 a 3 ganglios, la función de la radioterapia regional no está clara.
  - o Si afecta a 4 o más ganglios o hay compromiso extraganglionar, se recomienda la radioterapia regional.
- En cáncer de mama con o sin compromiso ganglionar axilar:
  - o Radioterapia dirigida a toda la mama. Sin radioterapia, el riesgo de recidiva en la mama conservada es >20 %, aunque no haya afectación ganglionar axilar. Y se ha comprobado reducción de la recidiva y aumento de la supervivencia (38,40).

Terapia sistémica pre y posoperatoria

Depende de factores como el estadiaje TNM, el grado histológico, edad de la paciente y el estado molecular del tumor (HR+, HER2 o TN). La terapia sistémica preoperatoria pretende la involución del tumor para facilitar la cirugía.

Depende del subtipo molecular. Así, para HR se utiliza terapia endocrina (tamoxifeno, inhibidores de la aromatasa), para HER2 fármacos anti-HER2 (trastuzumab, pertuzumab e inhibidores de la tirosin-kinasa) y para el fenotipo triple negativo, se recurre a la quimioterapia(38).

### 3.4 Cáncer de mama metastásico (CMMT)

El cáncer de mama metastatiza cuando se extiende sobrepasando el territorio loco-regional de la mama y áreas ganglionares vecinas, pudiendo evidenciarse radiológica y clínicamente. Las metástasis del cáncer de mama más frecuentes son en hueso, hígado, pulmón o SNC. Cuando aparecen, el objetivo terapéutico no es la curación, sino prolongar el control de la enfermedad y mejorar la calidad de vida de los pacientes. Algunas opciones terapéuticas han permitido mejorar la supervivencia.

La enfermedad metastásica se considera una situación avanzada de no curabilidad. Según su evolución, el diagnóstico puede darse de dos formas:

- Cáncer de mama metastásico “de novo” o de primer diagnóstico, es decir, en el momento del diagnóstico inicial del cáncer ya existen metástasis a distancia. Actualmente a causa de las mejoras en las técnicas de detección por imagen y a los programas de cribado, el número de tumores detectados inicialmente en fase metastásica está disminuyendo. Suponen un 5-6% de los diagnósticos iniciales de cáncer de mama y se presentan en mujeres con una media de edad en torno a 65 años(41,42).
- Cáncer de mama con metastásico recurrente, que es el que fue detectado y tratado, pero posteriormente la enfermedad reaparece ya diseminada. El 30% de las pacientes diagnosticadas de cáncer de mama acabarán presentando este tipo de situación. La mayor incidencia se encuentra en mujeres con una media de edad de 56 años(42).

#### 3.4.1 Cáncer de mama metastásico: Manejo global

En la enfermedad metastásica, después del diagnóstico analítico y clínico y previo a realizar el tratamiento sistémico, es recomendable realizar al menos una biopsia en la primera vez que recurre la enfermedad, dado

que el fenotipo tumoral puede ser diferente al que se recogió en el tumor primario y complementarlo con estudios completos del grado de la extensión para poder valorar con posterioridad la respuesta al tratamiento del conjunto de lesiones.

Para clasificar el estadio, es preciso realizar tomografía computarizada abdomino-pélvica (TC-TAP) y gammagrafía ósea (GGO) o tomografía por emisión de positrones (PET-TAC).

Para establecer la extensión y medidas de la enfermedad, y particularmente para investigación clínica, se utilizan los criterios RECIST (Response Evaluation Criteria in Solid Tumors), modificados en el año 2009 en la versión RECIST 1.1(43,44) (Tabla 2), que permiten monitorizar de forma objetiva la respuesta de tumores sólidos, como el de mama, mediante técnicas de imagen reproducibles y medir los cambios de tamaño en la imagen del tumor para clasificar la respuesta al tratamiento como: respuesta completa, respuesta parcial, progresión de la enfermedad o enfermedad estable.

**Tabla 2.** Criterios RECIST 1.1 (European Society of Radiology)

<b>RECIST 1.1</b>	
RESPUESTA	DEFINICIÓN RECIST 1.1
<b>Evaluación de lesiones diana</b>	
RC	Desaparición de todas las lesiones diana o adenopatías de menos de 10 mm de eje corto
RP	Disminución de al menos el 30% en la suma de los diámetros mayores de las lesiones diana con respecto a la obtenida en el estudio basal
PE	Aumento de al menos el 20% en la suma de los diámetros de las lesiones diana tomando como referencia la menor suma obtenida durante el seguimiento (incluido el estudio basal si ésta es la menor) La suma de los diámetros debe haber aumentado en al menos 5 mm Aparición de una o más lesiones nuevas
EE	No cumple ninguno de los criterios anteriores
<b>Evaluación de lesiones no diana</b>	
RC	Desaparición de lesiones no diana y normalización de los marcadores tumorales
PE	Progresión inequívoca de las lesiones no diana existentes
No-RC / No-PE	Persistencia de una o más lesiones no diana y/o mantenimiento de los marcadores tumorales por encima del límite alto de la normalidad

No se recomienda de rutina el estudio de imagen a nivel del sistema nervioso central a no ser que exista sintomatología asociada. La recurrencia locorregional exige descartar la existencia de extensión metastásica previo a plantear el mejor tratamiento local y sistémico(45).

Todas estas herramientas permiten monitorizar la eficacia e identificar la resistencia o sensibilidad a la terapia seleccionada, permitiendo así al oncólogo orientar sus decisiones e intervenir con nuevas opciones terapéuticas, si fuera necesario, antes del deterioro clínico de la paciente.

El antígeno carcinoembrionario (CEA), es un antígeno inespecífico que se puede detectar elevado en distintas neoplasias sólidas como son colon, mama, tiroides... Su inespecificidad lo hace poco útil como criterio diagnóstico, pero posee utilidad durante el seguimiento de la eficacia del tratamiento en las pacientes en tratamiento sistémico. Elevaciones superiores al 100% del valor basal detectado tras la instauración del tratamiento tienen una probabilidad superior al 40% de actividad metastásica y recurrencia de la enfermedad, que en cualquier caso tiene que ser confirmada mediante pruebas de diagnóstico por imagen y evaluación clínica(46,47).

El antígeno de carbohidrato 15.3 (Ca 15.3) derivado de la mucina epitelial polimórfica, con niveles superiores a la 30 U/ml, se vincula con una supervivencia global menor y no guarda relación con el tamaño del tumor, estado ganglionar ni edad de la paciente. Se ha demostrado una relación significativa entre su modificación y la respuesta clínica, pero en un porcentaje de casos cercano al 50%. Por lo tanto, las directrices de la EGTM (European Group on Tumor Markers) y de la (documents.mx) ASCO (American Society of Clinical Oncology) indican que tiene un valor asociado a otros biomarcadores, pruebas de imagen y exámenes clínicos, pero no un valor determinante por sí solo(46,47).

La respuesta al tratamiento se evaluará con las mismas técnicas de imagen que se utilizaron para establecer la extensión de la enfermedad metastásica. El uso de marcadores tumorales (CEA, Ca 15-3, Ca 27-29) puede ser una ayuda a la

hora de evaluar la enfermedad en los casos en los que las otras técnicas no puedan llegar a emplearse.

Existen dos situaciones que requieren un manejo más específico:

- En la enfermedad ósea metastásica debemos de introducir un tratamiento con bifosfonatos o con denosumab, junto con suplementos de calcio y vitamina D salvo que existan contraindicaciones o la paciente presente hipercalcemia(48,49). Estas terapias bloquean la actividad osteoclástica y permiten reducir el riesgo de fracturas y de hipercalcemia, además de reducir el dolor. Complicaciones severas pueden requerir de una terapia local más dirigida incluyendo cirugía y/o radioterapia(50).
- La afectación del sistema nervioso central requiere de una evaluación conjunta con neurocirujanos y radioterapeutas. Este escenario es particularmente frecuente en los fenotipos HER2 y CMTN, y condiciona un muy mal pronóstico. Existen diversas actuaciones a nivel local en función de la extensión de la enfermedad, tanto a nivel cerebral como extracerebral, y la decisión de tratamiento final varía desde la abstención terapéutica hasta la cirugía o radioterapia estereotáxica, así como el tratamiento sistémico(51).

### **3.4.2 Cáncer de mama metastásico. Terapia sistémica en función del fenotipo:**

#### **3.4.2.1 Cáncer de mama triple negativo**

El cáncer de mama triple negativo (CMTN) tiene como característica la ausencia de expresión tanto de receptores hormonales como de HER2 y representa el 15-20% de los cánceres de mama(52).

Últimamente, se ha detallado más la clasificación de este subgrupo de tumores de mama heterogéneo, aplicando herramientas novedosas de biología molecular. Analizando la expresión génica con el panel PAM50, los tumores triple negativos se subdividen en subtipos intrínsecos, de los cuales el 72% corresponden al perfil de expresión basal-like(53).

Realizando una ampliación al panel de 55 genes adicionales se ha identificado el subtipo Claudin-low que se caracteriza por ausencia o baja expresión de marcadores epiteliales (claudinas) y una elevada expresión de que se relacionan con la transición epitelio-mesénquima y con la respuesta inmune(54).

El atlas del genoma del cáncer (TCGA) ha aportado una nueva visión en torno a las características moleculares del cáncer de mama triple negativo, concretamente del subtipo basal, en el que se destaca la pérdida de los genes TP53 y RB1, pérdida de la función de BRCA1, amplificación del MYC y activación de la vía fosfatidilinositol 3-Kinasa (PIK3). Otras dianas terapéuticas potenciales incluyen los genes PTEN, INPP4B, PIK3CA, BRAF, EGFR, FGFR1, FGFR2, IGFR1, KIT, MET, PDGFRA y la vía HIF1- $\alpha$ /ARNT(55). Identificar este tipo de alteraciones puede resultar útil para realizar terapias dirigidas a las mismas.

El cáncer de mama se ha considerado como un tumor inmunológicamente silente. No obstante, recientes estudios confirman que el fenotipo triple negativo tiene la capacidad de evadir la respuesta inmunitaria, lo que justifica la investigación de terapias inmunológicas como una estrategia terapéutica(56).

#### 3.4.2.2 Tratamiento

El tratamiento estándar del cáncer de mama triple negativo es la quimioterapia dado que carece tanto de RH como de HER2. Pese a una mayor quimio-sensibilidad del CMTN, las duraciones de las respuestas suelen ser cortas y la supervivencia global (SG) en esta población está en torno a los 24 meses, significativamente menor que los otros fenotipos tumorales. La quimioterapia

deberá ser administrada hasta que exista niveles inaceptables de toxicidad, dado que el impacto del tratamiento es positivo en SG y supervivencia libre de progresión (SLP).

Esquemas terapéuticos basados en taxanos o antraciclinas son el tratamiento de elección en primera línea, principalmente en aquellas pacientes que no han sido expuestas a estos agentes en etapas iniciales o que tengan un intervalo libre de enfermedad de más de 12 meses desde su administración(57). Este tratamiento de primera línea puede acompañarse de bevacizumab, aunque en la actualidad se sigue usando y ha demostrado un aumento de la SLP, no ha demostrado un aumento de la SG y se asocia a efectos adversos tales como HTA, proteinuria y fenómenos tromboembólicos(58). En los últimos años, se ha comprobado que los derivados del platino son de gran utilidad a la hora de tratar a pacientes con CMTN, y particularmente en pacientes portadoras de mutaciones BRCA. Su mecanismo de rompiendo la doble cadena de DNA sería sinérgico con el déficit de reparación del propio DNA generado por la mala función de BRCA(59).

Agentes terapéuticos recomendados para las líneas más avanzadas son la capecitabina y la eribulina. El estudio EMBRACE demostró un incremento de la supervivencia global en una población muy pretratada en favor de eribulina frente a una quimioterapia escogida por el investigador consistente en vinorelbina, gemcitabina o capecitabina(60).

Las pacientes con mutación germinal de BRCA1 o BRCA2, representan un 10-15% de toda la población con CMNT. En este escenario se ha desarrollado los inhibidores de la PARP. Estos fármacos bloquean la reparación del daño en el DNA de forma alternativa a BRCA. Su acción genera un bloqueo completo para las células tumorales en la reparación de DNA, siendo ya deficitarias para los mecanismos de reparación ligados a la vía BRCA; este fenómeno se conoce como letalidad sintética(61).

Los inhibidores de la PARP han sido desarrollados en monoterapia (olaparib y talazoparib) y fue en los estudios de fase III OLYMPIAD y EMBRACA donde, frente a un esquema quimioterapéutico convencional, destacaron una mejoría en la SLP y en un beneficio en las pacientes tratadas(62,63) Aunque no son exclusivamente para CMTN, pacientes con tumores luminales y deficitarias en BRCA también pueden beneficiarse de este tipo de terapia.

El CMTN presenta una mayor expresión de PD-L1 e infiltración por linfocitos infiltrantes de tumor (TILs), además de una carga mutacional más elevada(64). A raíz de esta activación del sistema inmune se han investigado fármacos moduladores de la respuesta inmune como son los anti-PD-1 (pembrolizumab) y anti-PD-L1 (atezolizumab). En el estudio en fase III IMPASSION se comparó el uso del atezolizumab frente la terapia de placebo con taxanos y el resultado mostró un aumento en la mediana de SG a favor de las pacientes tratadas con el anti-PD-L1(65). KEYNOTE también comparó la quimioterapia convencional frente al pembrolizumab, resultando del mismo un aumento de la SLP y SG a favor del pembrolizumab(66).

### 3.4.3 **Cáncer de mama luminal (HR+/HER2-)**

Este fenotipo presenta ciertas características biológicas y clínicas que acentúan las diferencias con otros subtipos de cáncer de mama. Alrededor de un 5-10% de las pacientes en nuestro medio presentarán un escenario avanzado de inicio y un 20-30% de las pacientes en estadio precoz al diagnóstico presentarán una recaída avanzada en los años subsiguientes.

Los tumores HR+/HER2- suelen tener un crecimiento más lento y es infrecuente un debut o recaídas con presencia de crisis visceral; escenario de compromiso vital y que requiere una rápida regresión del tumor (ej. afectación cerebral, infiltración hepática masiva, linfangitis pulmonar).

En más de dos tercios de los casos, la enfermedad es sensible a la terapia hormonal desde el inicio y pueden beneficiarse de varias terapias hormonales de forma secuencial. Sin embargo, la práctica totalidad de las pacientes acabaran presentando finalmente una refractariedad al tratamiento hormonal.

La afectación metastásica del cáncer de mama HR+/HER2- tiene un comportamiento diferente a los otros subtipos tanto en la distribución como en la temporalidad. En el estudio que realizaron Xiao et al(67), se llegó a la conclusión de que las enfermas con tumores HR+/HER2- presentaban preferentemente metástasis óseas al diagnóstico, diferenciándose así de los restantes subtipos donde las metástasis viscerales eran las más frecuentes. Kennecke et al(68). en su estudio presentaron la incidencia de los lugares más frecuentes de recurrencia metastásica, los tumores se clasificaban en subtipos intrínsecos acorde con la inmunohistoquímica del tumor inicial. Las conclusiones a las que llegaron fueron que la gran mayoría de las recurrencias se dieron en los primeros cinco años en los tumores que tenían receptores hormonales negativos, mientras que los tumores luminales se prolongaban más allá de este tiempo.

#### 3.4.3.1 Tratamiento

Todas las guías internacionales coinciden en centrar el tratamiento antitumoral de las pacientes con CMM luminal en agotar las terapias hormonales antes de introducir la quimioterapia. La secuencia terapéutica hormonal hasta alcanzar la refractariedad endocrina permite retrasar terapias más agresivas mejorando la calidad de vida. En los últimos años además se ha demostrado que esta estrategia impacta también en la supervivencia global de las pacientes. La única excepción a esta indicación sería la crisis visceral, en la que se vería comprometida la vida del paciente a corto plazo y donde la quimioterapia todavía tiene su indicación.

El tamoxifeno, primer fármaco endocrino disponible, es activo tanto en mujeres premenopáusicas como postmenopáusicas. No obstante, en mujeres

postmenopáusicas, los inhibidores de la aromatasa (IA) de tercera generación (anastrozol, letrozol, exemestano) han demostrado ser superiores al tamoxifeno y lo han reemplazado como terapia endocrina de primera línea en estas pacientes. Posteriormente se comercializó el fulvestrant que es el tratamiento de segunda línea(69).

Las guías recomiendan una secuencia en la cual los tratamientos que se utilicen inicialmente sean los menos tóxicos(48). La recomendación es iniciar el tratamiento con una terapia hormonal, asociada o no a inhibidores de CDK 4/6, retrasando el uso de la quimioterapia a escenarios más avanzados de agresividad o de resistencia hormonal.

Al tratar a las pacientes con CMM HR+/HER2- con monoterapia de agentes hormonales, al cabo del tiempo desarrollaran resistencias, las cuales se denominan resistencias endocrinas. Entre los múltiples mecanismos descritos se incluyen la pérdida de expresión del receptor de estrógeno, mutaciones en el gen que codifica el receptor de estrógeno alfa (ESR1), la activación de vías de señalización celulares alternativas como son HERT2/EGFR, mTOR, PI3K) y activación postranscripcional con mutaciones de MYC, sobreexpresión de ciclinas, liberación masiva de VEGF con angiogénesis(70).

Existen diversas estrategias de combinación de terapia hormonal con otros fármacos que van enfocados a la resistencia endocrina causada por estos mecanismos, entre los que destacan:

- Inhibidores de CDK 4/6: Las CDK son enzimas que regulan el ciclo celular a nivel interno mediante su unión a una ciclina específica. Los inhibidores de CDK 4/6 han demostrado ser muy eficaces y tienen una toxicidad manejable, actualmente se disponen de tres fármacos: Palbociclib, Ribociclib y Abemaciclib. Estos fármacos han demostrado aumentar significativamente la supervivencia global, así como la



supervivencia libre de progresión, como así se indican en los estudios PALOMA 3, MONALEESA 7 y MONARCH 2(70–72).

- Inhibidores de PI3K: Las mutaciones que activan el gen que codifica la proteína PI3K se presentan en aproximadamente el 40% de las enfermas de cáncer de mama HR+/HER2- y se asocia a resistencia en el tratamiento endocrino. El Alpelisib es un inhibidor selectivo de PI3K que ha demostrado eficacia en combinación con la terapia hormonal en CMM(73).
- Inhibidores de mTOR: Everolimus es un fármaco que en combinación con IA ha demostrado aumentar la SLP y SG, tiene buena respuesta y una toxicidad manejable además de que si se realiza profilaxis con corticoides se reduce notablemente el riesgo de mucositis(74,75).

#### 3.4.4 **Cáncer de mama metastásico: Tumores HER2 +**

La amplificación del oncogén erb-B2 ocasiona que, entre el 15-20% de los casos de cáncer de mama presentan sobreexpresión del receptor 2 del factor de crecimiento epidérmico (HER2). Este oncogén se implica en la proliferación celular y supervivencia, lo que siempre le ha relacionado con una peor evolución de la enfermedad. A pesar de ello, la evolución de terapias dirigidas a HER2 ha supuesto una mejora sustancial en los índices de supervivencia y respuesta de estas pacientes, convirtiéndose así en una de las dianas terapéuticas más importantes del cáncer de mama metastásico.

En la actualidad se disponen de varios fármacos anti-HER2 que han aprobados: los anticuerpos monoclonales (trastuzumab y pertuzumab), el anticuerpo conjugado trastuzumab-emtansina y los inhibidores de la tirosin-kinasa intracelular (ITK) (lapatinib y neratinib)(45).

#### 3.4.4.1 Tratamiento

Dentro de la primera línea, la primera terapia anti-HER2 comercializada, el trastuzumab. Fue a raíz del estudio de Salmon et al. cuando se demostró que la adición del trastuzumab a la quimioterapia con antraciclinas o taxanos aumentaba el efecto de la misma y la tasa de respuesta y supervivencia(76).

El Pertuzumab se adhiere a un dominio extracelular del HER2, de esta forma inhibe la heterodimerización por un punto de unión diferente al del trastuzumab. El estudio CLEOPATRA demostró que el pertuzumab en asociación con trastuzumab y docetaxel tenía un beneficio en la supervivencia global frente al mismo esquema sin pertuzumab, pasando a ser el esquema de elección en primera línea en enfermedad metastásica(77).

El inmunoc conjugado de trastuzumab con el agente citotóxico emtasina (T-DM1) permite una liberación intracelular de emtasina y de manera selectiva minimizando la exposición del mismo a tejidos sanos.

En el estudio EMILIA el tratamiento con T-DM1 demostró una mejoría significativa en el porcentaje de respuestas, SLP Y SG frente a la terapia de elección clásica en segunda línea(78). Estos resultados han provocado que actualmente el T-DM1 sea considerado en la actualidad como el tratamiento estándar en segunda línea tras progresión al trastuzumab y taxanos, en combinación o sin pertuzumab.

Recientemente se han publicado estudios con diferentes compuestos frente al cáncer de mama metastásico HER2 positivo:

- Tucatinib, es un inhibidor de la tirosin-kinasa (ITK) reversible, con alta afinidad por el dominio kinasa del receptor HER2. El estudio HER2CLIMB seleccionó pacientes tratadas previamente con trastuzumab, pertuzumab y T-DM1 y aleatorizó el tratamiento que iban a recibir, tucatinib o placebo en combinación con trastuzumab y capecitabina. Demostró que tucatinib

redujo el riesgo de progresión de la enfermedad o la muerte en un 46%, con un aumento significativo de la SLP y SG, siendo el primer ITK en conseguir esto(79).

- Trastuzumab-deruxtecan (DS-801), es un anticuerpo conjugado compuesto en una parte por un anti-HER2 y ligado a un inhibidor de la topoisomerasa I presentando una ratio citostático/anticuerpo mayor al de T-DM1. En el estudio DESTINY-BREAST 01 se trató con este fármaco a pacientes pretratadas con T-DM1 y alcanzaron una respuesta del 60,9% y aumento de la SLP(80).

#### 3.4.4.2 **Medicina de precisión en el Cáncer de Mama.**

Charles M. Perou, en 2000, estableció, mediante análisis con microrrays, 5 fenotipos moleculares de cáncer de mama:

- Normal Like: sobreexpresan genes de las células mioepiteliales de la mama normal y de las células adiposas, con disminución de la expresión de genes característicos de las células luminales
- Luminal, se caracteriza por la alta expresión de genes asociados a las células epiteliales luminales del ducto mamario. Se divide en los subtipos luminal A y luminal B, siendo de mejor pronóstico el primero de ellos.
- Triple negativo, caracterizado por su negatividad a los receptores hormonales de estrógenos y progesterona y la ausencia de amplificación de HER2. El tipo basal-like se asocia con la expresión de genes característicos de las células mioepiteliales basales del acino mamario y con la expresión de BRCA1 y de EGFR, con una alta tasa de proliferación y mal pronóstico.
- HER2 +, receptores de estrógenos negativos y alta expresión de genes relacionados con la amplificación de HER2. Tiene peor pronóstico que los subtipos luminales A y B, pero dispone de una diana específica para su tratamiento(81).

PAM50 es la plataforma genómica que mide la expresión de 55 genes específicamente seleccionados junto con variables clínico-patológicas. Evaluando 50 genes, el test ofrece una información similar a la proporcionada por casi 2.000. Además, ofrece información pronóstica individualizada para cada paciente(45,82). Este predictor, conocido como Risk of Recurrence (ROR), utiliza los mismos 55 genes pero, con un algoritmo distinto, calcula un score de 0 (mejor pronóstico) a 100 puntos (peor pronóstico). El ROR clasifica a las pacientes sin afectación ganglionar en tres grupos de riesgo:

- ROR <40, bajo riesgo y cuya probabilidad de recaída es menor del 10% a los 10 años.
- ROR 40-60, riesgo intermedio y la probabilidad de recaída es de 10-20% a los 10 años.
- ROR >60, alto riesgo y probabilidad de recaída mayor al 20% a los 10 años.(83)

Las pacientes que tienen afectación ganglionar N1 y un ROR igual o menor a 15 se engloban dentro del grupo de bajo riesgo, con más de 4 ganglios afectados ya se considera alto riesgo.

El nivel de evidencia para predecir pronóstico obtenido por parte del ROR es de 1B, y recomendación positiva por parte de las guías de la American Society of Clinical Oncology. Se utiliza para decidir la necesidad de quimioterapia adyuvante en pacientes con tumores con expresión de los receptores hormonales, HER2 negativos y sin afectación ganglionar(84).

Oncotype DX Breast Recurrence Score (Figura 2) es un test para pacientes con cáncer de mama en estadio inicial con RH+ HER2-. Identifica pacientes que pueden beneficiarse de la quimioterapia, personalizarla y evaluar su beneficio, con base en una comprensión de la biología tumoral. Oncotype DX cuantifica la expresión de 21 genes en tejido tumoral, a través de la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) con transcriptasa inversa. Selecciona los 16 genes asociados al cáncer así como los 5 genes de referencia. El resultado

Recurrence Score es calculado para cada muestra tumoral a partir de los niveles de expresión de estos 21 genes(85).



16 genes de cáncer y 5 genes de referencia

**Figura 2.** Oncotype DX Breast Recurrence Score

Mammaprint es un test que se aplica en estadios precoces de la enfermedad. Analiza el perfil de más de 70 genes con el beneficio agregado de analizar simultáneamente miles de genes, proporcionando información acerca del tumor del paciente, lo que ofrece soluciones para el tratamiento del cáncer de manera individualizada(86)

Se considera una herramienta muy importante para la toma de decisión de administración de quimioterapia adyuvante a una paciente, evitar tratamientos innecesarios, dar mejor calidad de vida y ahorrar costes. Y en pacientes con datos de alto riesgo, ofrecer los beneficios de la terapia antineoplásica para reducir la probabilidad de un fracaso a plazo medio-largo(87).

La creación de terapias dirigidas en cáncer de mama en base a una única alteración biológica ha llevado a la reciente aprobación del inhibidor específico de PIK3CA Alpelisib. Es el agente dirigido más reciente y ha demostrado prolongar la SLP en más de 6 meses en comparación con el brazo de control. El aumento de

cánceres de mama metastásicos y la heterogeneidad de sus perfiles moleculares, ofrece la expectativa de que las pacientes con estos tumores malignos puedan beneficiarse de la aplicación de la oncología de precisión basada en perfiles genómicos integrales (CGP) en la atención clínica.

Otro ejemplo de terapia dirigida sería los inhibidores de la PARP (olaparib, rucaparib, niraparib), eficaces en pacientes con la mutación BRCA(88).

En el caso del cáncer de mama metastásico, las pacientes podrían beneficiarse de este tipo de terapias(89). Un ejemplo es el ensayo prospectivo multicéntrico SAFIR01, que demostró que la medicina de precisión benefició a las pacientes con cáncer de mama en un 21%, que fueron las que respondieron a la terapia dirigida recomendada, con una enfermedad estable durante más de 16 semanas(90).

En la actualidad se ha evolucionado de secuenciadores de primera generación (método Sanger) a secuenciar millones de fragmentos de ADN con equipos de segunda generación (NGS). Esta tecnología se basa en la amplificación de ADN fijado en una superficie sólida y la lectura en paralelo de millones de secuencias. La secuenciación simultánea de este ADN implica la disminución de la cantidad de reactivos necesarios y del tiempo de secuenciación, reduciendo mucho el coste. La gran cantidad de datos generados en este proceso ha supuesto el desarrollo de programas específicos de análisis de fácil manejo.

Esta secuenciación masiva permite detectar, además de mutaciones puntuales, inserciones, deleciones, variaciones en el número de copias y translocaciones. También es de notable importancia en el estudio del cáncer el uso de la NGS en la detección de variantes somáticas en subpoblaciones de células tumorales, presentes por tanto en una baja proporción en la muestra tumoral(91).

El kit AVENIO ctDNA Expanded es un ensayo de biopsia líquida de NGS para identificar aberraciones genómicas derivadas de tumores sólidos. Este panel contiene 77 genes, incluidos los que se encuentran actualmente en las Pautas de la Red Nacional Integral del Cáncer (NCCN) de EE. UU. Este panel también contiene biomarcadores emergentes investigados en ensayos clínicos y las cuatro clases de mutaciones (SNV, indels, fusiones y CNV) en un solo ensayo y más de un 99 % de sensibilidad para detectarlas(92).

#### **4. HIPÓTESIS**

La biopsia líquida utilizando la técnica de NGS con AVENIO77, permite cuantificar y caracterizar molecularmente el ctDNA en pacientes con cáncer de mama avanzado para detectar mutaciones accionables relacionadas con el pronóstico e individualizar el tratamiento.

#### **5. OBJETIVOS**

##### **5.1 Objetivo principal:**

- Describir la prevalencia de mutaciones accionables en el ADN circulante tumoral (ctDNA) en pacientes con cáncer de mama avanzado.

##### **5.2 Objetivos secundarios:**

- Describir las características clínicas de la población incluida en el estudio, seguimiento medio y supervivencia global
- Determinar los factores pronósticos clásicos (clínicos, moleculares y biológicos) de supervivencia global
- Analizar la prevalencia de las distintas mutaciones analizadas en función del fenotipo molecular (luminal, HER2, Triple Negativo).

- Hallar correlación entre la prevalencia de mutaciones y otras características de la población (terapias previas, carga tumoral, órganos afectados)
- Explicar la correlación con la expresión de otros marcadores biológicos a la inclusión (marcadores tumorales CEA, Ca15.3 y Células tumorales circulantes)
- Estudiar la correlación entre la presencia de mutaciones y la supervivencia global
- Determinar la ratio de pacientes candidatas potenciales a terapias dirigidas (aprobadas o en investigación) inferido por los resultados del test.
- Establecer la ratio de pacientes que han recibido una terapia dirigida (aprobada o en ensayo clínico) como resultado de la prueba dentro de los 12 meses subsiguientes a la realización de la prueba. (Se incluyó en el análisis solo aquellas pacientes con progresión a la línea previa, donde el estudio de ctDNA pudo tener un papel determinante).

## **6. MATERIALES Y MÉTODOS**

### **6.1 Diseño del estudio**

Se trata de un estudio transversal prospectivo observacional que incluye pacientes con carcinoma de mama avanzado irresecable.

El trabajo fue aprobado por el Comité Ético de Investigación con medicamentos del Departamento de Salud Arnau de Vilanova-Lliria (ANEXO I).

### **6.2 Población a estudio**

Se han incluido 76 pacientes con cáncer de mama metastásico, en las que se realizó biopsia líquida (secuenciación masiva de genes en muestra de sangre periférica) mediante Avenio77 ctDNA kit en un periodo de tiempo comprendido entre el 1 de noviembre de 2019 y el 31 de diciembre de 2021 en el H. Arnau de

Villanova de Valencia. Todas ellas contaban con un consentimiento informado firmado.

Se realizó un análisis descriptivo de la población basal y de las alteraciones moleculares más frecuentemente observadas, así como la frecuencia alélica de las mismas, a fin de estudiar la concordancia y realizar una validación de los datos obtenidos mediante el test y las obtenidas mediante métodos clásicos del análisis tumoral.

Los datos fueron analizados usando el programa de software estadístico SPSS para Windows en su versión 22 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA).

La asociación entre variables cualitativas se determinó por Chi-cuadrado.

La supervivencia global se estimó usando el método de Kaplan-Meier, estratificando según las variables descritas. Para comparación de la supervivencia global entre variables, se utilizó el test de long rack. Se presentan los gráficos de las curvas estimadas.

### **6.3 Criterios de inclusión**

- Edad mayor o igual a 18 años.
- Carcinoma de mama en situación de enfermedad avanzada irsecable (Estadio IV según 8ª edición de TNM).
- Progresión a línea terapéutica anterior o sin tratamiento previo a la enfermedad avanzada.
- Firmar el consentimiento informado y la toma de muestra para el biobanco.

### **6.4 Criterios de exclusión**

- Performance status según ECOG-PS (Eastern Cooperative Oncology Group) para evaluar la calidad de vida del paciente oncológico > 2.

- Estadio NED (sin evidencia de enfermedad o enfermedad no medible por pruebas de imagen).
- Esperanza de vida de la paciente inferior a 3 meses
- Severa afectación hepática, renal o de médula ósea.

## 6.5 Variables

Mediante el acceso a las historias clínicas de los pacientes, se recogieron una serie de características clínicas, analíticas, anatomopatológicas y de resultado de biopsia líquida, que se detallan a continuación.

### 6.5.1 Variables clínicas:

- Edad
- Performance status (ECOG)
- Estadio al diagnóstico (en caso de ausencia de enfermedad metastásica de inicio).
- Presencia de quimioterapia en régimen de neoadyuvancia o adyuvancia
- Intervalo libre de enfermedad (en caso de ausencia de enfermedad metastásica de inicio)
- Líneas de tratamiento recibidas previamente
- Localizaciones metastásicas.

### 6.5.2 Variables anatomopatológicas:

- Receptores hormonales (estrógenos y progesterona).
- Amplificación HER2
- Índice de proliferación Ki67.
- Subtipo tumoral

### 6.5.3 Variables relacionadas con análisis de biopsia líquida:

- Alteraciones patogénicas observadas.
- Alteraciones probablemente patogénicas
- Frecuencias alélicas de las alteraciones observadas.



- Implicación terapéutica (cambio de tratamiento) en función de resultado de biopsia líquida
- Niveles de CEA
- Niveles de Ca 15.3
- Células tumorales circulantes (CTCs)

**6.5.4 Variables de seguimiento:**

- Progresión a la línea que se estudia en NGS
- Fechas de progresión al tratamiento inicial
- Fecha de la última visita
- Estado actual (vivo o fallecido)

## 7. RESULTADOS

### 7.1 Características de la población analizada

La distribución por sexo de los 76 pacientes incluidos en el estudio fue de 74 mujeres y 2 hombres, con un promedio de edad de 61 años y con un rango entre 33 y 88 años.

En relación a las características generales de la población analizada (Tabla 3), según la clasificación TNM, 75 pacientes (98,7%) correspondían al estadio IV. En 1 solo caso, lo fue del estadio IIIB):

**Tabla 3.** Características generales de la población analizada

		Nº PACIENTES	%
ESTADÍO TNM	IIIB	1	1,3%
	IV	75	98,7%
		Nº PACIENTES	%
ESCALA ECOG	0	37	48,7%
	1	31	40,8%
	2	6	7,9%
	3	2	2,6%
		Nº PACIENTES	%
ÓRGANOS AFECTOS	1	39	51,3%
	2	27	35,5%
	≥ 3	10	13,2%
		Nº PACIENTES	%
LÍNEAS DE TRATAMIENTO PREVIO	0	46	60,5%
	1	17	22,4%
	2	4	5,3%
	>2	9	11,8%

La calidad de vida de los pacientes incluidos en el estudio, se estableció por la Escala ECOG. Así, 37 pacientes (48,7%), se consideró como 0; el 31

pacientes (40.8%), como Nivel 1; 6 pacientes (7,9%), como Nivel 2; y 2 pacientes (2,6%), como Nivel 3.

La afectación sistémica de los pacientes estudiados, evidenció que 39 pacientes (51,3%), tenía 1 órgano afectado; 27 pacientes (35,5%) tenían 2 órganos afectados; y 10 pacientes (13,2%) 3 o más órganos afectados.

Así mismo, 51 pacientes (67,1%) ya tenían afectación en el sistema óseo y 40 (52,6%), afectación visceral.

Los pacientes que no recibieron ninguna línea de tratamiento previo al inicio del estudio fueron 39 (51,3%); 17 pacientes (22,4%) habían recibido 1 línea de tratamiento; 4 pacientes (5,3%) habían recibido 2 líneas; y 9 pacientes (11,8%), habían recibido más de 2 líneas de tratamiento previamente.

En relación al fenotipo de los pacientes en el momento del diagnóstico (Figura 3), 54 casos (71,1%) era Luminal, 12 casos (15,8%) HER2 y 10 casos (13,2%) CMTN:

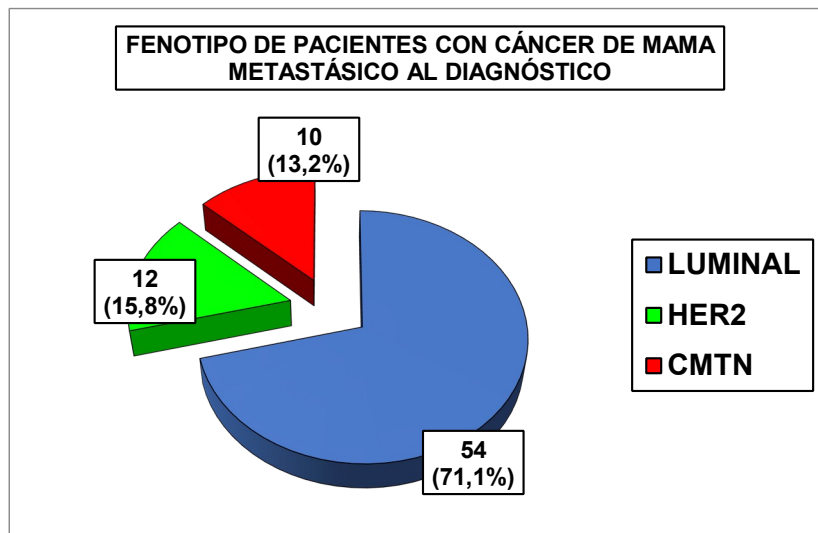


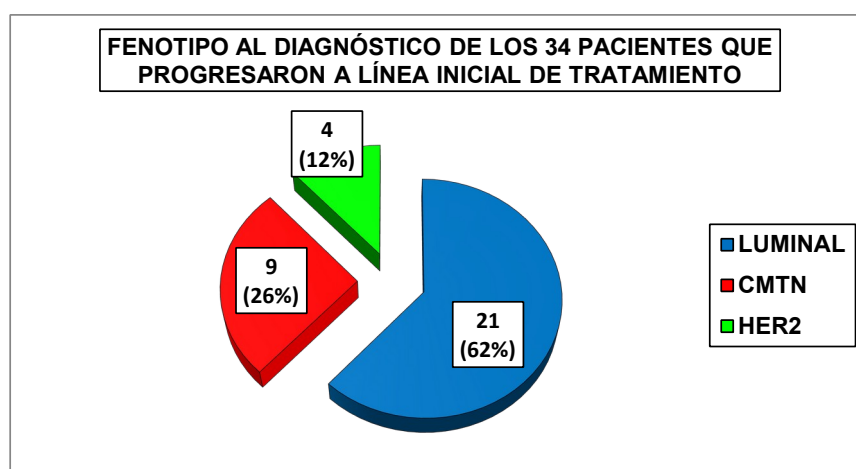
Figura 3. Fenotipo de los pacientes al diagnóstico

Los niveles circulantes de marcadores tumorales detectados en los pacientes al inicio, fueron:

- Para el antígeno carcinoembrionario (CEA), en 36 pacientes (47,4%) ha sido superior a 5 ng/dl, estando la mediana en 4,9
- Para el antígeno carbohidratado (CEA 15.3), en 46 pacientes (60,5%) ha sido superior a 42 U/ml, estando su mediana en 55,6
- Para el número de células tumorales circulantes en sangre (CTCs), en 28 pacientes (36,8%) ha sido superior a 5, siendo su mediana 2

La mediana del intervalo de tiempo transcurrido desde el diagnóstico de cáncer de mama hasta el momento de la inclusión de la paciente fue de 37,5 meses. Y la mediana desde el diagnóstico de enfermedad avanzada, de 1,6 meses. La mediana de tiempo de seguimiento de las pacientes desde la realización de NGS, fue de 8,7 meses, con un rango entre 0 y 23 meses. 34 pacientes progresaron a línea de tratamiento y hubo 21 éxitos.

El número de pacientes que progresó a indicación de terapia dirigida fue de 34 (44,74%). Todas fueron mujeres, con edad media de 61 años y en un rango de 33 a 88 años y en estadio TNM IV (100% de los casos progresados). Por orden de frecuencia, el mayor número de pacientes era del fenotipo Luminal, CMTN y HER2 (Figura 4).



**Figura 4.** Fenotipo al diagnóstico de pacientes con progresión a línea inicial de tratamiento

## 7.2 Aspectos relacionados con las mutaciones detectadas

Se hallaron mutaciones patológicas potencialmente accionables en 53 pacientes (69,7% del total), con una media de 1 mutación por paciente y un rango de entre 0 y 6 mutaciones. En el 39,5% de ellos (Figura 5), se detectó la mutación PI3K, en el 15,8% ERBB, en el 13,2% ESR1, en el 11,8% KRAS, MET en el 7,9%, BRCA1/2 en el 3,9%, en el 3,9% AKT y en el 3,9% restante BRAF, NRAS, RET y FBXW7.

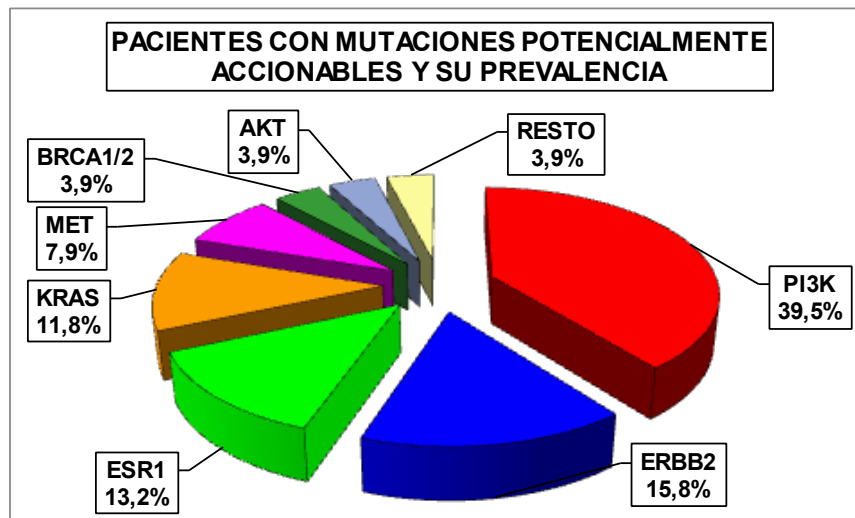


Figura 5. Prevalencia de mutaciones potencialmente accionables

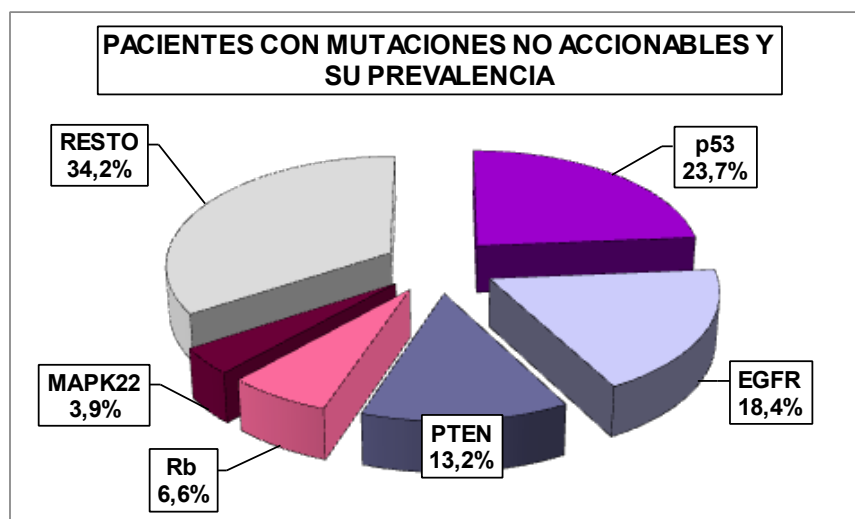


Figura 6. Prevalencia de mutaciones no accionables

Se identificaron 48 mutaciones no accionables, con un promedio de 1 por paciente y un rango de entre 0 y 3 mutaciones. En cuanto a la prevalencia (Figura 6), en el 23,7% de los pacientes fueron p53, en el 18,4% EGFR, en el 13,2% PTEN, en el 6,6% Rb y en el 3,9% MAPK22.

Relacionando la presencia de mutaciones con los subtipos moleculares (Tabla 4), por orden de frecuencia, aparecieron en el subtipo Luminal, HER2 y CMTN, tanto referidas a las patológicas potencialmente accionables como en las no accionables. Las más frecuentes fueron PI3K en Luminal y ERBB2 en HER2 para los 2 grupos. En caso de CMTN, MET de las accionables y p53 de las no accionables.

**Tabla 4.** Prevalencia de mutaciones en función del fenotipo molecular

TIPOS DE MUTACIONES POTENCIALMENTE ACCIONABLES Y PACIENTES AFECTADOS		
Nº PACIENTES INCLUIDOS	76	
Nº PACIENTES CON MUTACIONES	53	
% PACIENTES CON MUTACIONES	69,70%	
TIPO DE MUTACIÓN	Nº PACIENTES	%
PI3K	30	39,5%
ERBB2	12	15,8%
ESR1	10	13,2%
KRAS	9	11,8%
MET	6	7,9%
BRCA1/2	3	3,9%
AKT	3	3,9%

SEGÚN FENOTIPO MOLECULAR					
LUMINAL		HER2		CMTN	
54		12		10	

Nº PACIENTES	%	Nº PACIENTES	%	Nº PACIENTES	%
26	48,1%	4	33,3%	0	0,0%
6	11,1%	5	41,7%	1	10,0%
10	18,5%	0	0,0%	0	0,0%
8	14,8%	0	0,0%	1	10,0%
4	7,4%	0	0,0%	2	20,0%
1	1,9%	1	8,3%	1	10,0%
2	3,7%	0	0,0%	1	10,0%

TIPOS DE MUTACIONES NO ACCIONABLES Y PACIENTES AFECTADOS		
Nº PACIENTES INCLUIDOS	76	
Nº PACIENTES CON MUTACIONES	48	
% PACIENTES CON MUTACIONES	63,16%	
TIPO DE MUTACIÓN	Nº PACIENTES	%
p53	18	23,7%
EGFR	14	18,4%
PTEN	10	13,2%
Rb	5	6,6%
MAPK22	3	3,9%

SEGÚN FENOTIPO MOLECULAR					
LUMINAL		HER2		CMTN	
54		12		10	

Nº PACIENTES	%	Nº PACIENTES	%	Nº PACIENTES	%
13	24,1%	2	16,7%	3	30,0%
9	16,7%	4	33,3%	1	10,0%
8	14,8%	1	8,3%	1	10,0%
5	9,3%	0	0,0%	0	0,0%
2	3,7%	0	0,0%	1	10,0%

Dado el escaso número de pacientes de los subtipos HER2 y CMTN, se agruparon los datos de sus mutaciones para comparar, mediante test de Chi-cuadrado, con las del subtipo Luminal (Tabla 5), resultando ser significativa la diferencia con  $p < 0,05$  (48,1% e IC 95%; 32,68% a 58,54%) para la mutación PI3K ( $p = 0,015$ ) y ESR1 (18,5% e IC 95%; 8,16% a 28,88%) con  $p = 0,029$ . Con el resto de mutaciones no hubo diferencias significativas entre las prevalencias de las mismas y los subtipos.

**Tabla 5.** Comparativa entre prevalencia de mutaciones del fenotipo Luminal y HER2+CMTN

TIPOS DE MUTACIONES POTENCIALMENTE ACCIONABLES Y PACIENTES AFECTADOS				
Nº PACIENTES INCLUIDOS		76		
Nº PACIENTES CON MUTACIONES		53		
% PACIENTES CON MUTACIONES		69,70%		
TIPO DE MUTACIÓN	Nº PACIENTES	%		
PI3K	30	39,5%		
ERBB2	12	15,8%		
ESR1	10	13,2%		
KRAS	9	11,8%		
MET	6	7,9%		
BRCA1/2	3	3,9%		
AKT	3	3,9%		

SEGÚN FENOTIPO MOLECULAR				
LUMINAL		HER2 + CMTN		Chi Test
54		22		
39		14		
72,22%		63,64%		0,46
Nº PACIENTES	%	Nº PACIENTES	%	Chi Test
26	48,1%	4	18,2%	0,015
6	11,1%	6	27,3%	0,083
10	18,5%	0	0,0%	0,029
8	14,8%	1	4,5%	
4	7,4%	2	9,1%	
1	1,9%	2	9,1%	
2	3,7%	1	4,5%	

TIPOS DE MUTACIONES NO ACCIONABLES Y PACIENTES AFECTADOS				
Nº PACIENTES INCLUIDOS		76		
Nº PACIENTES CON MUTACIONES		48		
% PACIENTES CON MUTACIONES		63,16%		
TIPO DE MUTACIÓN	Nº PACIENTES	%		
p53	18	23,7%		
EGFR	14	18,4%		
PTEN	10	13,2%		
Rb	5	6,6%		
MAPK22	3	3,9%		

SEGÚN FENOTIPO MOLECULAR				
LUMINAL		HER2 + CMTN		
54		22		
Nº PACIENTES	%	Nº PACIENTES	%	Chi Test
13	24,1%	5	22,7%	0,361
9	16,7%	5	22,7%	0,536
8	14,8%	2	9,1%	0,456
5	9,3%	0	0,0%	0,140
2	3,7%	1	4,5%	

Al correlacionar las mutaciones por medio de Chi-cuadrado con algunas variables características de la población estudiada (Tabla 6), no comprobamos diferencias significativas entre todas ellas y enfermedad visceral previa, afectación

ósea, primera línea de tratamiento y nivel de ECOG 0. Sin embargo, sí apreciamos diferencias entre la mutación ESR1 y tratamiento de primera línea previo ( $p=0,038$ ), así como entre mutación p53 y enfermedad visceral ( $p=0,014$ ).

**Tabla 6.** Correlación entre características de la población y presencia de mutaciones (Chi-cuadrado para  $p<0,05$ )

VARIABLES RELACIONADAS CON LAS CARACTERÍSTICAS DE LA POBLACIÓN	Presencia de Mutaciones Patológicas	TIPO DE MUTACIÓN			
		ESR1	PI3K	ERBB2	p53
ENFERMEDAD VISCERAL	0,12	0,65	0,57	0,67	<b>0,014</b>
ENFERMEDAD OSEA	0,764	0,382	0,948	0,972	0,817
PRIMERA LINEA vs. OTRAS	0,968	<b>0,038</b>	0,13	0,64	0,58
ECOG NIVEL 0	0,368	0,892	0,853	0,466	0,55

Respecto a la relación existente entre la presencia de mutaciones y la de marcadores tumorales detectados (Tabla 7), hayamos diferencias significativas ( $p<0,05$ ) entre la mutación no accionable p53 y un nivel alto de CEA ( $p=0,04$ ); también entre niveles altos de Ca 15.3 y las mutaciones accionables ESR1 ( $p=0,046$ ) y p53 ( $p=0,037$ ); y entre CTCs > 5 y el total de mutaciones patológicas ( $p=0,004$ ) y la mutación ESR1 ( $p=0,024$ ).

**Tabla 7.** Correlación entre marcadores tumorales y presencia de mutaciones (Chi-cuadrado para  $p<0,05$ )

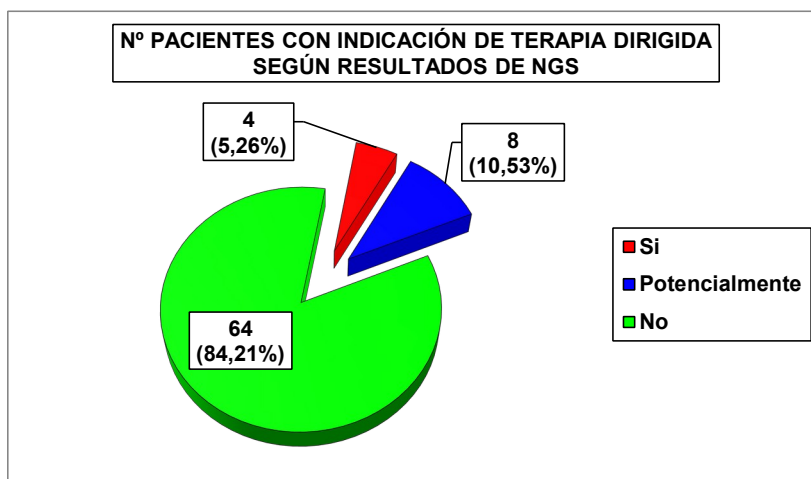
MARCADORES TUMORALES	Presencia de Mutaciones Patológicas	TIPO DE MUTACIÓN			
		ESR1	PI3K	ERBB2	p53
CEA Alto	0,148	0,42	0,075	0,84	<b>0,04</b>
Ca15.3 Alto	0,326	<b>0,046</b>	0,578	0,64	<b>0,037</b>
CTCS >5	<b>0,004</b>	<b>0,024</b>	0,172	0,547	0,212

Tras estudio por NGS en las 34 mujeres que progresaron a la línea anterior de tratamiento, se obtuvieron las mutaciones patológicas (Tabla 8) y relacionaron con los fenotipos de las mismas.

**Tabla 8.** Mutaciones accionables detectadas en pacientes con progresión a primera línea de tratamiento y relación con fenotipo molecular

	FENOTIPO MOLECULAR				
			LUMINAL	CMTN	HER2
<b>MUTACIONES POTENCIALMENTE ACCIONABLES MÁS PREVALENTES</b>					
<b>PACIENTES</b>	<b>34</b>		21	9	4
	<b>MUTACIONES</b>				
	<b>Nº</b>	<b>%</b>	<b>Nº</b>	<b>Nº</b>	<b>Nº</b>
<b>PI3K</b>	15	19,7%	12	2	1
<b>ESR1</b>	9	11,8%	8	0	1
<b>ERBB2</b>	5	6,6%	4	1	0
<b>KRAS</b>	3	3,9%	1	1	1
<b>MET</b>	3	3,9%	1	3	0
<b>AKT</b>	2	2,6%	1	1	0
<b>BRCA1/2</b>	1	1,3%	0	1	0

Se consideró, de inicio, terapia dirigida a 4 pacientes (5,26%). Se valoró potencialmente en 8 pacientes (10,53%) (Figura 7). No se contempló en 64 pacientes (84,21%).



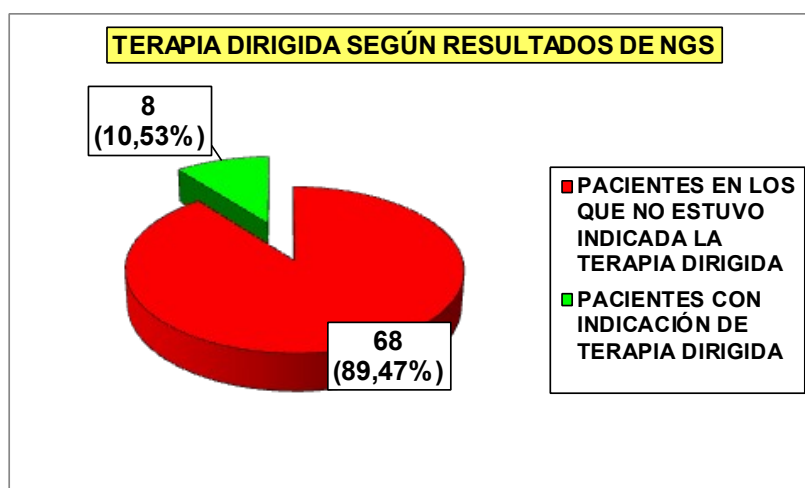
**Figura 7.** Indicación inicial de terapia dirigida a los pacientes según resultados de NGS

En total, se indicó terapia dirigida a 8 pacientes (Tabla 9 y Figura 8) durante los 12 meses siguientes a la realización de la prueba, Mayoritariamente, se les

detectó, (6 de ellos), mutación PI3K. 4 pacientes, fueron tratados con terapia dirigida ya aprobada y a 2 se les incluyó en ensayo clínico. A los 2 pacientes restantes (con mutación ERBB2 y AKT), se les incluyó directamente en ensayo clínico.

**Tabla 9.** Pacientes que han recibido terapia dirigida

Nº PACIENTES	MUTACIÓN DETECTADA	TERAPIA DIRIGIDA	
		APROBADA	ENSAYO CLINICO
6	PI3K	4	2
1	ERBB2		1
1	AKT		1



**Figura 8.** Pacientes con indicación final de terapia guiada según resultados de NGS

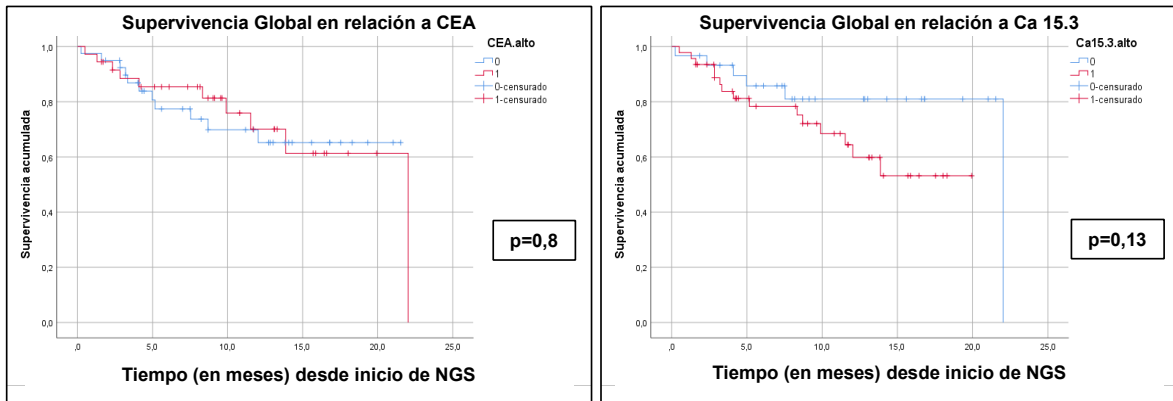
El fenotipo de estos pacientes (Tabla 10) fue, mayoritariamente, Luminal.

**Tabla 10.** Fenotipo de los pacientes que han recibido terapia dirigida

FENOTIPO	Nº PACIENTES QUE PROGRESARON A LÍNEA INICIAL DE TRATAMIENTO	Nº PACIENTES CON INDICACIÓN DE TERAPIA DIRIGIDA	% PACIENTES
LUMINAL	21	7	33,33%
CMTN	9	1	11,11%
HER2	4	0	0%
<b>TOTAL</b>	<b>34</b>	<b>8</b>	

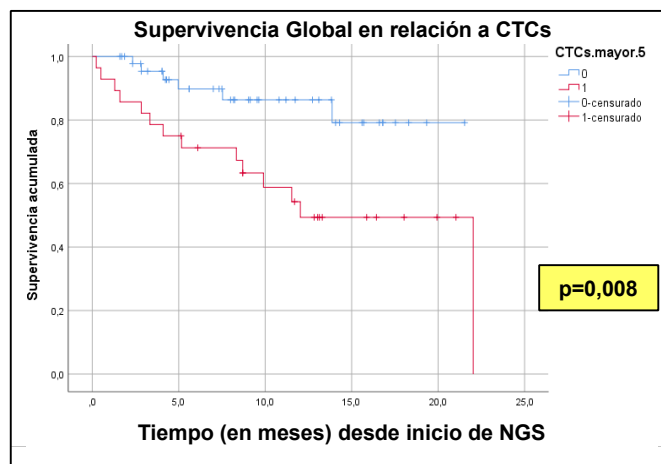
### 7.3 Correlación de los resultados con la supervivencia global

En referencia a las características generales de la población estudiada, no hubo relación entre la SG y la presencia de los marcadores tumorales CEA y Ca 15.3 (Figura 9).



**Figura 9.** SG relacionada con la presencia de marcadores tumorales CEA y Ca 15.3

Pero sí fue menor la SG en presencia del marcador tumoral CTCs>5 (Figura 10)



**Figura 10.** SG relacionada con la presencia de CTCs>5

También hubo menor SG en presencia de enfermedad visceral (Figura 11).



Figura 11. SG relacionada con la presencia de enfermedad visceral

Así mismo, menor SG cuanto mayor era el nivel de ECOG (2<1<0) (Figura 12).

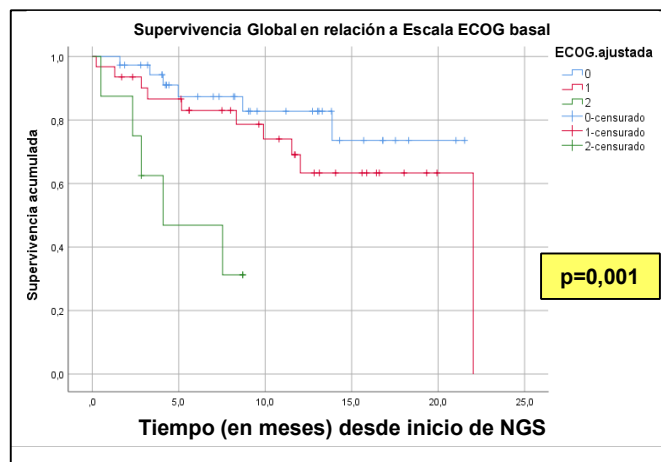
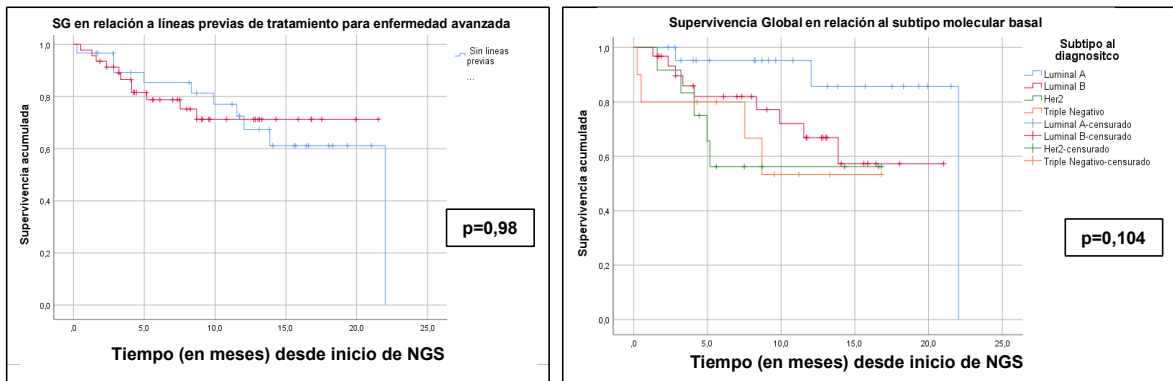


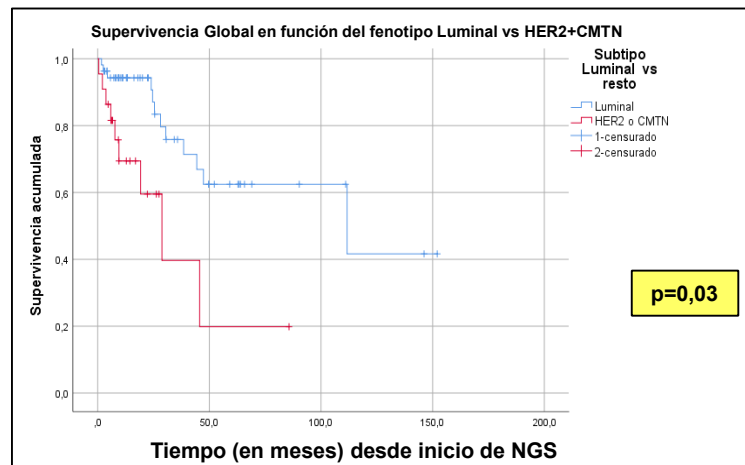
Figura 12. SG relacionada con ECOG basal

No se han observado diferencias significativas (Figura 13) en relación a líneas previas de tratamiento en enfermedad avanzada (p=0,98) y entre los 4 subtipos moleculares basales (p=0,104).



**Figura 13.** Supervivencia Global en relación a tratamientos previos para enfermedad avanzada y entre subtipos moleculares del cáncer de mama

Sí hubo diferencias ( $p=0,03$ ) al relacionar la supervivencia global observada entre los pacientes con fenotipo molecular Luminal y la agrupación de pacientes con fenotipos moleculares HER2 y CMTN (Figura 14), utilizando el test de Long Rank o Prueba de Mantel Cox.



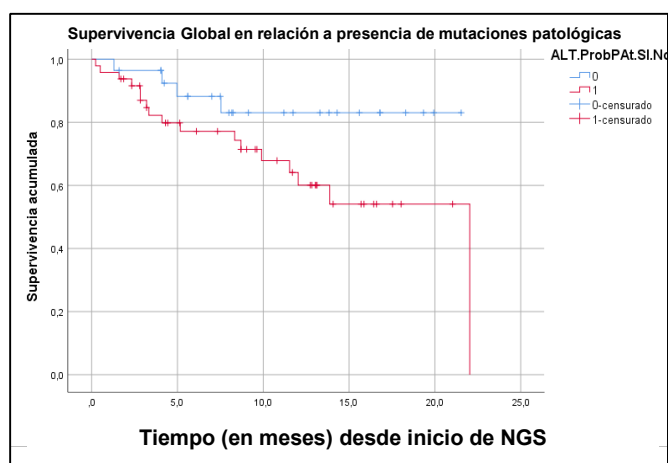
**Figura 14.** Supervivencia global entre pacientes con Fenotipo Luminal y el resto (HER2+CMTN)

En la correlación entre la enfermedad Luminal con otros factores clínicos (Tabla 11), solo se observó significación estadística ( $p=0,025$ ) con nivel alto del marcador CEA.

**Tabla 11.** Correlación entre Enfermedad Luminal y factores clínicos

FACTORES CLÍNICOS	N	%	p
ENF. OSEA	76	100,0%	0,681
ENF VISCERAL	76	100,0%	0,220
PRIMERA LINEA vs NO	76	100,0%	0,570
ECOG 0	76	100,0%	0,514
CEA alto	76	100,0%	0,025
Ca15.3 Alto	76	100,0%	0,086
CTcs >5	75	98,7%	0,655

En cuanto a la presencia o no de mutaciones patológicas detectadas, la supervivencia global (Figura 15) ha sido mayor si no estaban presentes, pero sin diferencia significativa.



**Figura 15.** Supervivencia Global en relación a la presencia de mutaciones patológicas

En las mutaciones accionables más prevalentes detectadas por NGS durante el estudio (Figuras 16, 17, 18 y 19), no hubo diferencias significativas en las supervivencias globales de los pacientes con presencia de alguna de ellas y en los que no se detectaron.

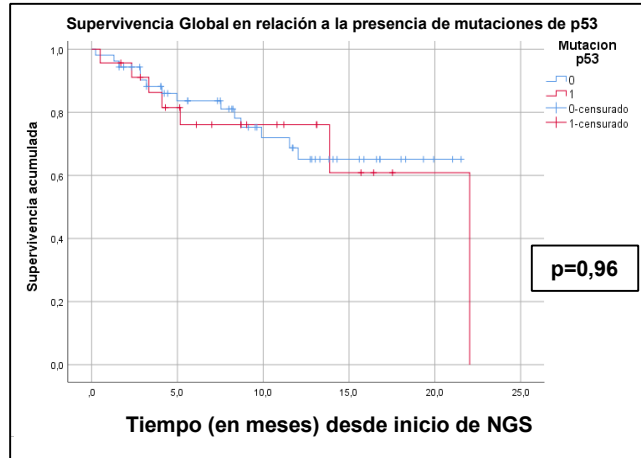


Figura 16. Supervivencia Global en relación a la presencia de mutaciones p53

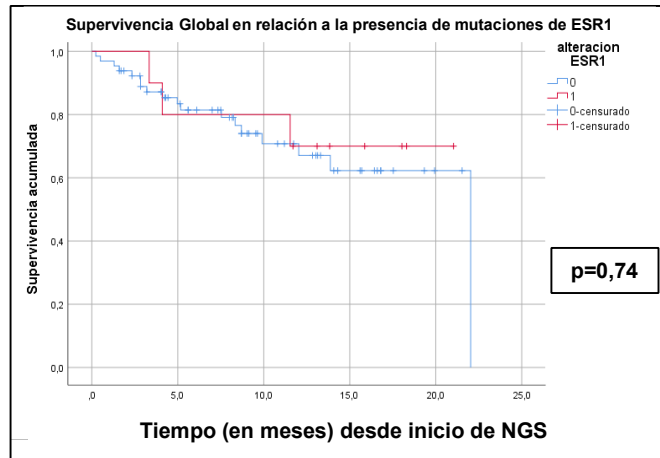


Figura 17. Supervivencia Global en relación a la presencia de mutaciones ESR1

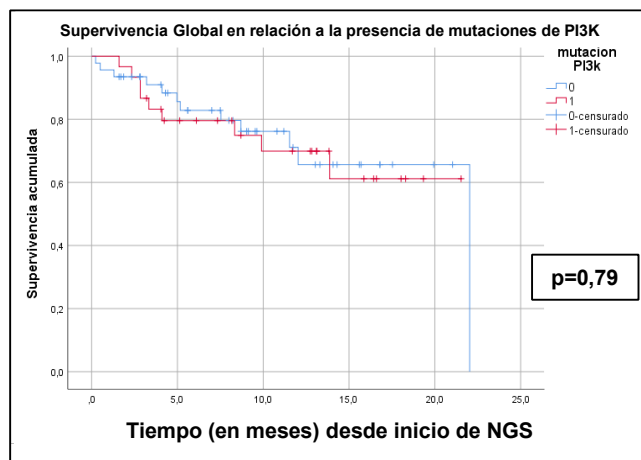


Figura 18. Supervivencia Global en relación a la presencia de mutaciones PI3K

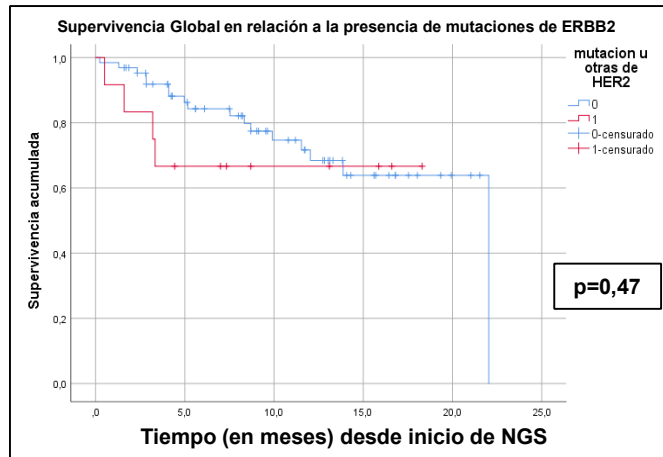


Figura 19. Supervivencia Global en relación a la presencia de mutaciones ERBB2

## 8. DISCUSIÓN

En nuestra serie de 76 pacientes con cáncer de mama metastático, el objetivo principal era describir la frecuencia y prevalencia de mutaciones genómicas imputables al tumor en el total del ADN circulante en sangre. La tecnología utilizada, test AVENIo-77, permanece en el ámbito de la investigación clínica y no ha sido todavía validada como herramienta asistencial. Las pacientes fueron recogidas de forma consecutiva a lo largo de un periodo de casi dos años, acumulando un seguimiento medio de 8,7 meses. La media de edad de las pacientes se situó en 61 años. La distribución por sexos fue de 2 hombres (1,52%) y 74 mujeres (98,48%). Del total de pacientes, en un 69,7% se identificaron mutaciones patológicas tras la realización del diagnóstico de biopsia líquida, siendo dichas mutaciones en orden de frecuencia: PI3K (39,5%), ERBB2 (15,8%), ESR1 (13,2%), KRAS (11,8%), MET (7,9%), BRCA (3,9%), AKT (3,9%) y el resto pertenecen a mutaciones con una prevalencia muy baja, respondiendo así a nuestro principal objetivo. Dentro de las mutaciones potencialmente patológicas encontramos por orden de prevalencia en nuestra población de pacientes: p53 (23,7%), EGFR (18,4%), PTEN (13,2%), Rb (6,6%) y MAPK22 (3,9%).

Como era de esperar, los factores clásicos de mal pronóstico que analizamos en nuestra serie guardan una significación estadística sólida. Tanto un ECOG elevado como la presencia de enfermedad visceral, la presencia de CTCs elevadas en el análisis basal, y el fenotipo molecular no luminal son marcadores que impactaron negativamente de forma significativa en la supervivencia de nuestro grupo aun con un seguimiento medio corto. No observamos una correlación clara con otros marcadores más discutidos como los marcadores tumorales. Sorprendentemente, el fenotipo molecular triple negativo no se identifica de forma independiente como un factor de mal pronóstico; probablemente la baja prevalencia de este fenotipo en nuestra serie explique la falta de poder estadístico de este factor.

La prevalencia del fenotipo molecular en nuestro estudio fue del 30,3% asociada al subtipo luminal A, con un total de 23 pacientes. La mayor prevalencia fue del subtipo luminal B con un 40,8% y 31 pacientes. En tercer lugar, obtuvimos una prevalencia del 15,8% ligada al fenotipo HER2 con 12 pacientes y por último el fenotipo triple negativo presentó una prevalencia del 13,2% que presentaron 10 pacientes. Los trabajos de Arrechea Irigoyen M.A. et al.(93) y Blows FM et al.(94), aunque con análisis de mayor número de casos (272 en el primero y 10.159 correspondientes a 12 estudios en el segundo), coinciden con nuestros resultados en la mayor frecuencia del fenotipo Luminal respecto a los otros subtipos, con cifras de 80,5% y 77,4% en los citados y 71,1% en nuestra serie. Sin embargo, detectamos mayor porcentaje de los tipos HER2 y CMTN (29%) que en los otros estudios (19,7% y 22%).

La dificultad de identificar terapias sistémicas está generando la necesidad de implementar técnicas de cribado masivo para la identificación de mutaciones – dianas accionables. En nuestro trabajo hemos incorporado la biopsia líquida en la búsqueda sistemática de potenciales dianas par aun rango variado de patologías tumorales. La biopsia líquida es uno de los campos que más están evolucionando en el diagnóstico del cáncer, permitiendo la detección, aislamiento y caracterización tanto de células tumorales circulantes como del ADN circulante en muestras de sangre. Las principales ventajas e inconvenientes con respecto a la biopsia del tejido tumoral son las siguientes:

- Es una técnica mínimamente invasiva con respecto a la biopsia convencional.
- Es sencilla de ejecutar y tiene menos complicaciones.
- Se pueden realizar en varias ocasiones debido a su fácil acceso, al contrario que la biopsia tumoral, que depende más de la localización y del riesgo de la intervención.
- Actualmente no es el método de elección para la detección de las mutaciones tumorales en cáncer de mama.

- La biopsia líquida da una visión mucho más completa de lo que pueda aportar la biopsia de tejido. Esto es así dado que la biopsia convencional no asegura recoger todas las posibles mutaciones que esté manifestando el tumor, al contrario que la biopsia líquida.

Un estudio del equipo de Maxwell, K.N. et al.(95) recogieron muestras del tumor y sangre en el momento de la progresión de la enfermedad de pacientes con cáncer de mama avanzado antes de su siguiente línea terapéutica, y se siguió a los pacientes para determinar la respuesta al tratamiento posterior. La proporción de pacientes con alteración genómica fue menor en tumor que en sangre (69% vs 91%;  $p=0,06$ ). El 83% de las alteraciones tumorales se detectaron en sangre, mientras que el 90% de las alteraciones sanguíneas se detectaron en tumor. Estos resultados apoyan la rentabilidad de la biopsia líquida frente a la del propio tumor. Varios grupos coinciden en la utilidad del estudio en sangre del ctDNA tumoral como medida sustitutiva al acceso por biopsia del tumor(96)

En nuestro estudio hemos podido confirmar que la presencia de mutaciones (carga mutacional) en las pacientes es un sólido factor de mal pronóstico y está relacionado significativamente con otros factores de similar pronóstico. Es particularmente interesante la correlación de la carga mutacional con la presencia de CTCs. La determinación de CTCs como marcador pronóstico está muy consolidado, aunque su rentabilidad clínica es cuestionable al no haber podido ser validado como marcador predictivo. Aunque la negativización precoz de CTCs en curso de quimioterapia es un indicador de eficacia del tratamiento, un ensayo clínico no demostró utilidad en modificar el esquema de tratamiento de forma precoz en pacientes que mantenían niveles altos de CTCs tras los dos primeros ciclos de quimioterapia(97). En esta línea del valor predictivo como biomarcador, al menos dos estudios han estudiado el papel del aclaramiento de mutaciones específicas de ctDNA como un marcador precoz de eficacia. Un estudio con terapia hormonal incluyendo el inhibidor de CDK4/6 ribociclib, observó que la disminución o desaparición de niveles de ctDNA en la mutación más prevalente de inicio identificaban a pacientes con unas expectativas de eficacia de

la terapia hormonal mucho mayores que las pacientes que por el contrario no reducían dichos niveles en las primeras 2 semanas(98). Nuestro estudio no contemplaba la realización de otras determinaciones de ctDNA en ausencia de progresión a la terapia iniciada y por tanto queda fuera de nuestros objetivos la utilidad de los cambios en el ctDNA como marcador predictivo de eficacia. Cabe señalar que el coste actual de este tipo de análisis hace inviable económicamente su utilización como un mero marcador de eficacia a terapias convencionales.

Analizando la prevalencia de las distintas mutaciones en función del fenotipo molecular nuestros resultados aportaron que dentro del fenotipo luminal (54 pacientes), el 48,1% presentaron al menos una mutación en PI3K, frente al 33,3% del fenotipo HER2 (12 pacientes) y ninguna del fenotipo triple negativo (10 pacientes). Chang DY, et al.(99), así lo recoge en su estudio y de acuerdo con la literatura actual, PI3K muta especialmente en el cáncer de mama con receptor hormonal positivo/receptor del factor de crecimiento epidérmico humano 2 negativo (HR+/HER2-), siendo además una de las mutaciones más frecuentemente observadas (28% - 47%). En los tumores HER2 su prevalencia ronda entre el 23% y el 33% y en los triples negativos 8-25%, exceptuando este último fenotipo, el resto de las prevalencias son prácticamente idénticas a las descritas en la literatura. Concretamente, el gen PIK3CA, codifica la p110 $\alpha$  (subunidad catalítica alfa) de la proteína PI3K tiene una especial relevancia ya que es una de las pocas mutaciones accionables con un fármaco aprobado, el Alpelisib. Este es un inhibidor oral  $\alpha$ -específico de PI3K que en el estudio de fase III SOLAR-1 se comparó fulvestrant más alpelisib frente a placebo en 572 hombres o mujeres posmenopáusicas con cáncer de mama avanzado HR+/HER2- que recidivó o progresó con el tratamiento con inhibidores de aromatasa. Los pacientes se estratificaron en función del estado de la mutación PIK3CA, 341 con mutaciones en PIK3CA y 231 sin mutaciones. El criterio de valoración principal fue la SLP con mutación de PIK3CA. La mediana de la SLP de los pacientes con mutaciones en PIK3CA fue de 11,0 meses en el brazo de alpelisib/fulvestrant frente a 5,7 meses en el brazo de placebo/fulvestrant (HR 0,65 IC 95% 0,50-0,85; p < 0,001). Se han intentado desarrollar más terapias

accionables frente a PI3K que al no ser específicas de la subunidad catalítica alfa los resultados fueron negativos por mayor número de acontecimientos adversos, estos fármacos fueron Buparlisib y Pictilisib.

La mutación BRCA1/2 fue relacionada con un 1,9% del fenotipo luminal (1 paciente), con un 8,3% del fenotipo HER2 (1 paciente) y con un 10% del fenotipo triple negativo (1 paciente). Este tipo de mutación cobra especial interés cuando está relacionado a nivel familiar, en el que la literatura sitúa la prevalencia en un 15-20%. Si hablamos de la prevalencia de la mutación sin relacionar la agregación familiar, se situaría en 1-7% de BRCA1 y 1-3% de BRCA2 de acuerdo con la literatura.(100) El principal interés de esta mutación es encontrarla en pacientes que la tengan de forma germinal y no a causa de la mutación del propio tumor primario. Los agentes accionables sobre esta mutación son los inhibidores de la PARP, fármacos que bloquean la reparación del daño en el DNA de forma alternativa a BRCA. Su acción genera un bloqueo completo para las células tumorales en la reparación de DNA, siendo ya deficitarias para los mecanismos de reparación ligados a la vía BRCA. Los inhibidores de la PARP han sido desarrollados en monoterapia (olaparib y talazoparib) y fue en el estudio de fase III OLYMPIAD donde 302 pacientes fueron aleatorizados a olaparib (n = 205) o tratamiento a elección del médico (n=97). La tasa de respuesta objetiva (ORR) fue del 59,9% para los pacientes con olaparib y del 28,8% para los pacientes con tratamiento a elección del médico(101) En el estudio EMBRACA, el talazoparib mejoró la supervivencia libre de progresión (SLP), la tasa de respuesta objetiva (TRO), la tasa de beneficio clínico (TBC) y la duración de la respuesta frente a la terapia elegida por el médico. El 22% de los pacientes en el brazo de talazoparib tuvieron una respuesta objetiva continuada en el mes 12 frente a 0 pacientes en el brazo de la terapia a elección del médico demostrando mejoras significativas en los resultados frente con un perfil de seguridad manejable frente a un esquema quimioterapéutico convencional(102). Estas terapias desarrolladas implementan un esquema terapéutico más específico para las pacientes que muestren esta mutación en tu estado germinal, aportándoles mayor beneficio y supervivencia.

La presencia de mutaciones en ERBB2 es frecuente, particularmente en tumores con el fenotipo HER2 (42%), aunque esporádicamente identificado también en enfermedad luminal y CMTN (11% y 10% respectivamente). Varios estudios encuentran esta correlación, pero desconocemos el valor de esta mutación en tumores HER2. La enfermedad HER2 se caracteriza por la sobreexpresión de ERBB2, un mecanismo que no precisa de una mutación específica en dicho gen. No está estudiado si la cohabitación de una mutación y la sobreexpresión de ERBB2 en un tumor confiere un interés clínico, pero en el estado actual de nuestro conocimiento, la mutación no aporta una ayuda relevante a la decisión terapéutica ya definida por terapias frente a ERBB2.

En contraposición a lo anterior, la presencia de mutaciones de ERBB2 en tumores sin sobreexpresión de la proteína se ha convertido en un campo fértil de investigación para terapias frente a ERBB2. En nuestro caso, dos pacientes fueron derivadas a un centro asociado para valorar su inclusión en un estudio clínico explorando Neratinib, y una de ellas finalmente está participando. Neratinib es un inhibidor de tirosina-cinasa frente a ERBB2 ya aprobado en cáncer de mama HER2. Un primer estudio demostró su eficacia en pacientes con mutaciones de ERBB2 en ausencia de sobreexpresión y el estudio actual es de confirmación. Por motivos de confidencialidad no podemos aportar información sobre la evolución de la paciente dentro del estudio, aunque a fecha del último análisis la paciente proseguía en el estudio con una duración de 7 meses.

La mutación de ESR1 que está ligada al fenotipo luminal, encontramos que un 18,5% (10 pacientes) la presentaron. Esta prevalencia entra dentro de la descrita por la literatura y así la recoge el estudio de Zundeleovich A, et al.(103), donde describe que la prevalencia de esta mutación se encuentra entre el 10% y el 50% de los cánceres metastásicos resistentes a terapia endocrina. La aparición de mutaciones adquiridas tras la terapia con IA en el dominio de unión al ligando del gen receptor de estrógenos  $\alpha$  (ESR1), que codifica el RE es lo que da lugar a una activación del RE independiente del ligando y se produzca la resistencia a las terapias endocrinas. Bardia A, et al.(104) pusieron a prueba un fármaco llamado

elacestrant en el estudio en fase III EMERALD. Dicho fármaco es un nuevo SERD (degradador selectivo de receptores de estrógeno) no esteroideo que ha demostrado una degradación del RE dependiente de la dosis y la inhibición de la inducción de la transcripción del gen diana del RE y la proliferación celular dependiente del estradiol. En el estudio se observaron respuestas o beneficios clínicos con elacestrant en pacientes con tratamiento previo con inhibidores de CDK4/6, y en pacientes con tumores con mutación de ESR1, así como en aquellos con mutación de ESR1 no detectada. Toda esta información orienta hacia la nueva investigación en SERDs para un mayor número de terapias accionables para ESR1.

Las mutaciones en el receptor de estrógenos (ESR1) representan una oportunidad para el desarrollo de nuevas estrategias terapéuticas basadas en restablecimiento de la sensibilidad endocrina. Como era lógico, en nuestra serie la correlación entre mutaciones de ESR1 y fenotipo luminal es muy alta. La presencia ocasional de esta mutación en los fenotipos HER2 y CMTN probablemente guarda relación con terapias hormonales previas en el contexto de un fenotipo mixto (HER2 con expresión de RE/RP) o en un cambio de fenotipo (luminal inicial que posteriormente vira a CMTN). De hecho, ESR1 es una mutación adquirida, inducida como mecanismo de resistencia a terapias hormonales y particularmente a inhibidores de la aromatasa. La mayor parte de mutaciones en ESR1 confieren a la proteína final la capacidad de permanecer activada de forma constitutiva, sin precisar por tanto del sustrato (estradiol) para activarse. En la medida que la deprivación de estradiol es el mecanismo de acción de los inhibidores de la aromatasa, este mecanismo es la solución biológica del tumor para progresar. En tumores con mutación de ESR1 los fármacos como tamoxifeno y fulvestrant, anti-estrógenos con la función de bloquear el receptor siguen demostrando cierto grado de actividad. Las tasas de respuesta objetiva (ORR) observadas con fulvestrant en esta población ronda el 10%. Los inhibidores de CDK4/6 (palbociclib, abemaciclib y ribociclib), parece que pueden revertir en parte este mecanismo de resistencia, aunque su utilización en primera línea conlleva un riesgo de que esta mutación se presente en mayor frecuencia

como mecanismo de resistencia. En los últimos años diversas compañías vienen desarrollando anti-estrógenos más potentes y particularmente eficaces frente a mutaciones de ESR1. Un primer estudio fase III ha demostrado que elacestrant es superior a fulvestrant en pacientes pretratadas con inhibidores de la aromatasa y CDK4/6i y particularmente cuando hay presencia de mutaciones en ESR1(104). Hasta la fecha no hay ningún estudio abierto en la Comunidad Valenciana requiriendo de forma específica dicha mutación, pero en la estrategia de varias compañías está el abrir ensayos en ese nicho específico en el próximo año.

Como estaba previsto, la prevalencia de ESR1 en nuestra serie de pacientes con enfermedad luminal es mayor en pacientes con líneas de tratamiento previas frente a las no previamente tratadas y revela la necesidad de cuestionar cuando es el momento óptimo de proponer estudios de ctDNA en la población luminal. La presencia de esta mutación es muy excepcional en tumores al diagnóstico (<3%), y va aumentando hasta alcanzar tasas del 30-40% en pacientes tratadas con distintas líneas de terapia hormonal. En la actualidad, la primera línea de tratamiento en enfermedad luminal avanzada está consolidada (inhibidor de aromatasa más un inhibidor de CDK4/6). Es por ello que la información aportada por estudios de ctDNA en este momento no aporta un valor claro en la decisión terapéutica inicial. Es razonable pensar que posponer el estudio de ctDNA al momento de la progresión a esta primera línea puede aportar mucha más información de interés clínico, permitiendo además capturar los mecanismos de resistencia inducidos por dicho tratamiento.

Este estudio presenta algunas limitaciones que deben ser señaladas. En primer lugar, el estudio se ha realizado en único centro y la población seleccionada puede incluir sesgos relacionados con las terapias previas, así como en las decisiones terapéuticas de la primera línea de tratamiento. Además, el número de pacientes en el estudio es pequeño, con una población enriquecida en pacientes con enfermedad luminal. En la medida que este fenotipo es el que mejor supervivencia obtiene en enfermedad avanzada la prevalencia de estas pacientes en líneas avanzadas era significativamente mayor. Cabe señalar que

este mismo fenómeno se observa en todos los estudios analizados. Este primer análisis conlleva un seguimiento medio relativamente corto y no ha permitido capturar en muchas pacientes la relevancia de las mutaciones específicas al no haber todavía progresado a la primera maniobra terapéutica iniciada en el momento de la inclusión en el estudio. Por último, el Hospital Arnau de Vilanova puede tener limitaciones en el acceso a terapias que, aunque hayan demostrado su actividad todavía no estén en la cartera de prestaciones del sistema público de salud. Además, el acceso potencial a estudios clínicos se puede ver reducido frente a otras áreas con mayor número o nivel de centros asistenciales.

## 9. CONCLUSIONES

1. La Next-Generation Sequencing (NGS) con “AVENIO-77 ctDNA Expanded Kit”, en pacientes con cáncer de mama metastásico, ha permitido identificar mutaciones accionables en un 69,7% de las pacientes. Las más prevalentes fueron PI3K (39,5%), ERBB2 (15,8%) y ESR1 (13,2%).
2. La presencia de mutaciones condiciona un mal pronóstico y se correlaciona con otros factores de mal pronóstico como son: enfermedad visceral, CTCs>5 y el haber recibido terapias previas para enfermedad avanzada.
3. Se observa una mayor prevalencia de mutaciones PI3K y ESR1 con tumores de extirpe Luminal.
4. Hasta la fecha, el resultado del test ha derivado a 8 pacientes (10,53%) a una terapia dirigida, mayoritariamente a alpelisib por mut-PI3K. La eficiencia de esta tecnología es aun modesta y requerirá en el futuro de un mayor número de terapias dirigidas disponibles

## **10. TABLAS Y FIGURAS**

### **10.1 Tablas**

Tabla 1. Clasificación BIDRADS)

Tabla 2. Criterios RECIST 1.1 (European Society of Radiology)

Tabla 3. Características generales de la población analizada

Tabla 4. Prevalencia de mutaciones en función del fenotipo molecular

Tabla 5. Comparativa entre prevalencia de mutaciones del fenotipo Luminal y HER2+CMTN

Tabla 6. Correlación entre características de la población y presencia de mutaciones)

Tabla 7. Correlación entre marcadores tumorales y presencia de mutaciones

Tabla 8. Mutaciones accionables detectadas en pacientes con progresión a primera línea de tratamiento y relación con fenotipo molecular

Tabla 9. Pacientes que han recibido terapia dirigida

Tabla 10. Fenotipo de los pacientes que han recibido terapia dirigida

Tabla 11. Correlación entre Enfermedad Luminal y factores clínicos

## 10.2 Figuras

Figura 1. Anatomía de la mama

Figura 2. Oncotype DX Breast Recurrence Score

Figura 3. Fenotipo de los pacientes al diagnóstico

Figura 4. Fenotipo al diagnóstico de pacientes con progresión a línea inicial de tratamiento

Figura 5. Prevalencia de mutaciones potencialmente accionables

Figura 6. Prevalencia de mutaciones no accionables

Figura 7. Indicación inicial de terapia dirigida a los pacientes según resultados de NGS

Figura 8. Pacientes con indicación final de terapia guiada según resultados de NGS

Figura 9. SG relacionada con presencia de marcadores tumorales CEA y Ca 15.3

Figura 10. SG relacionada con la presencia de CTCs>5

Figura 11. SG relacionada con la presencia de enfermedad visceral

Figura 12. SG relacionada con ECOG basal

Figura 13. SG en relación a tratamientos previos para enfermedad avanzada y entre subtipos moleculares del cáncer de mama

Figura 14. SG entre pacientes con Fenotipo Luminal y el resto (HER2+CMTN)

Figura 15. SG en relación a la presencia de mutaciones patológicas

Figura 16. SG en relación a la presencia de mutaciones p53

Figura 17. SG en relación a la presencia de mutaciones ESR1

Figura 18. SG en relación a la presencia de mutaciones PI3K

Figura 19. SG en relación a la presencia de mutaciones ERBB2

11. **ANEXO I:** Aprobación del estudio por el Comité Ético de Investigación con medicamentos del Departamento de Salud Arnau de Vilanova-Lliria



CEIm: 26/2019

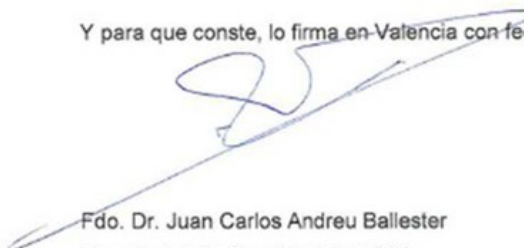
**Dr. Juan Carlos Andreu Ballester, Secretario del Comité Ético de Investigación con medicamentos del Departamento de Salud Arnau de Vilanova – Lliria**

**INFORMA**

Reunidos los miembros del Comité Ético de Investigación con medicamentos del Hospital Arnau de Vilanova, en su sesión ordinaria del día **31 de Octubre de 2019 (Acta 12/2019)**, y una vez estudiada la documentación presentada por el Dr. Jose Vidal Martínez Bioquímico en calidad de investigador principal, del proyecto que se llevara a cabo en el Laboratorio de Analisis Clínicos del Hospital Arnau de Vilanova-Lliria en colaboración con el servicio de Oncología de dicho hospital, como miembros del equipo tiene a bien informar que el proyecto de investigación, titulado: *"Utilidad clínica de AVENIO ctDNA Expanded Kit en la identificación de terapias dirigidas aprobadas o en investigación (ensayos clínicos) en una población de pacientes con tumores sólidos avanzados en el Area de Salud Arnau-Lliria."*, se ajusta a las normas deontológicas establecidas para tales casos.

Se emite **dictamen favorable** a la realización de dicho proyecto.

Y para que conste, lo firma en Valencia con fecha 31 de Octubre del 2019



Fdo. Dr. Juan Carlos Andreu Ballester  
Secretaría Técnica del CEIm HAV



## 12. BIBLIOGRAFÍA

1. Cancer de mama - SEOM: Sociedad Española de Oncología Médica © 2019 [Internet]. [cited 2022 Feb 20]. Available from: <https://seom.org/info-sobre-el-cancer/cancer-de-mama?showall=1>
2. Desantis CE, Bray F, Ferlay J, Lortet-Tieulent J, Anderson BO, Jemal A. International Variation in Female Breast Cancer Incidence and Mortality Rates. Available from: <http://cebp.aacrjournals.org/>
3. Las cifras del cáncer en España 2021 [Internet]. [cited 2022 Feb 20]. Available from: [https://seom.org/images/Cifras\\_del\\_cancer\\_en\\_Espnaha\\_2021.pdf](https://seom.org/images/Cifras_del_cancer_en_Espnaha_2021.pdf)
4. El cáncer de mama en España - GEICAM - Investigación en Cáncer de Mama [Internet]. [cited 2022 Feb 20]. Available from: <https://www.geicam.org/sala-de-prensa/el-cancer-de-mama-en-espana>
5. Sun YS, Zhao Z, Yang ZN, Xu F, Lu HJ, Zhu ZY, et al. Risk Factors and Preventions of Breast Cancer. *Int J Biol Sci* [Internet]. 2017;13(11):1387–97. Available from: <http://www.ijbs.com>
6. Anatomía de la mama | Glándula, complejo areola-pezones, Cooper, lóbulo [Internet]. [cited 2022 Feb 20]. Available from: <https://www.cirurgiasdelamama.com/anatomia-de-la-mama>
7. Calero Cuerda F. Factores de riesgo en el cáncer de mama | *Progresos de Obstetricia y Ginecología* [Internet]. 1999 [cited 2022 Feb 20]. p. 9065–88. Available from: <https://www.elsevier.es/es-revista-progresos-obstetricia-ginecologia-151-articulo-factores-riesgo-el-cancer-mama-13009702>
8. Prevención del cáncer de seno (mama) (PDQ®)–Versión para profesionales de salud - Instituto Nacional del Cáncer [Internet]. [cited 2022 Mar 7]. Available from: <https://www.cancer.gov/espanol/tipos/seno/pro/prevencion-seno-pdq>
9. Pruebas genéticas - Cáncer de mama (Breast cancer) – Genes ATM, BARD1, BRCA1, BRCA2, BRIP1, CASP8, CDH1, CHEK2, CTLA4, CYP19A1, FGFR2, H19, LSP1, MAP3K1, MRE11A, NBN, PALB2, PTEN, RAD51, RAD51C, STK11, TERT, TOX3, TP53, XRCC2 y XRCC3. - IVAMI [Internet]. [cited 2022 Mar 7]. Available from: <https://www.ivami.com/es/pruebas-geneticas-mutaciones-de-genes-humanos-enfermedades-neoplasias-y-farmacogenetica/1463-pruebas-geneticas-cancer-de-mama-breast-cancer-genes-brca1-brca2-cdh1-stk11-y-tp53-otros-genes-ar-atm-bard1-brip1-chek2-diras3-erbb2-nbn-palb2-rad50-y-rad51>
10. Boyd NF, Martin LJ, Rommens JM, Paterson AD, Minkin S, Yaffe MJ, et al. Mammographic Density: A Heritable Risk Factor for Breast Cancer. In 2009. p. 343–60.
11. McCormack VA, dos Santos Silva I. Breast density and parenchymal patterns as markers of breast cancer risk: a meta-analysis. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* [Internet]. 2006 Jun [cited 2022 Mar 7];15(6):1159–69. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16775176/>

12. Gompel A. Hormones et cancers du sein. *La Presse Médicale*. 2019 Oct;48(10):1085–91.
13. Li Y, Ma L. Exposure to solar ultraviolet radiation and breast cancer risk. *Medicine*. 2020 Nov 6;99(45):e23105.
14. Lee K, Kruper L, Dieli-Conwright CM, Mortimer JE. The Impact of Obesity on Breast Cancer Diagnosis and Treatment. *Curr Oncol Rep [Internet]*. 2019 May 1 [cited 2022 Mar 7];21(5). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30919143/>
15. Liu Y, Nguyen N, Colditz GA. Links between alcohol consumption and breast cancer: a look at the evidence. *Womens Health (Lond) [Internet]*. 2015 Jan 1 [cited 2022 Mar 7];11(1):65. Available from: [/pmc/articles/PMC4299758/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/264299758/)
16. Cáncer de mama: Diagnóstico | Cancer.Net [Internet]. [cited 2022 Mar 7]. Available from: <https://www.cancer.net/es/tipos-de-cancer/cancer-de-mama/diagnostico>
17. Saz-Parkinson Z, Monteagudo-Piqueras O, Granados Ortega J, Martínez Mondéjar E, Vicenta Labrador Cañadas M. “EUROPEAN COMMISSION INITIATIVE ON BREAST CANCER”: RECOMENDACIONES SELECCIONADAS DE CRIBADO DE CÁNCER DE MAMA DE LAS GUÍAS EUROPEAS (\*). [cited 2022 Mar 7]; Available from: <https://healthcare-quality.jrc.ec.europa.eu/>
18. Trejo DS, Martí A, Riera CB, Galiano MC, Paulino C, Cuevas Cuerda I, et al. Comisión redactora de la Estrategia.
19. Fujii MH, Herschorn SD, Sowden M, Hotaling EL, Vacek PM, Weaver DL, et al. Detection Rates for Benign and Malignant Diagnoses on Breast Cancer Screening With Digital Breast Tomosynthesis in a Statewide Mammography Registry Study. *AJR Am J Roentgenol*. 2019;212(3):706–11.
20. Ohuchi N, Suzuki A, Sobue T, Kawai M, Yamamoto S, Zheng YF, et al. Sensitivity and specificity of mammography and adjunctive ultrasonography to screen for breast cancer in the Japan Strategic Anti-cancer Randomized Trial (J-START): a randomised controlled trial. *Lancet*. 2016 Jan 23;387(10016):341–8.
21. Lord SJ, Lei W, Craft P, Cawson JN, Morris I, Walleiser S, et al. A systematic review of the effectiveness of magnetic resonance imaging (MRI) as an addition to mammography and ultrasound in screening young women at high risk of breast cancer. *Eur J Cancer*. 2007 Sep;43(13):1905–17.
22. Mercado CL. BI-RADS update. *Radiol Clin North Am*. 2014 May;52(3):481–7.
23. Tipos de tumores de mama | GEICAM - Investigación en cáncer de mama [Internet]. [cited 2022 Mar 7]. Available from: <https://www.geicam.org/cancer-de-mama/tengo-cancer-de-mama/conoce-mejor-tu-enfermedad/tipos-de-tumores>
24. Cáncer de mama: Estadios | Cancer.Net [Internet]. [cited 2022 Mar 7]. Available from: <https://www.cancer.net/es/tipos-de-cancer/cancer-de-mama/estadios>
25. Martínez Gálvez M. CAPÍTULO 6. ESTADIFICACIÓN CLÍNICA PRETRATAMIENTO EN EL CÁNCER DE MAMA [Internet]. 2015 [cited 2022 Mar 7]. Available from: <https://docplayer.es/4128695-Capitulo-6-estadificacion-clinica-pretratamiento-en-el-cancer-de-mama.html>
26. Cserni G, Chmielik E, Cserni B, Tot T. The new TNM-based staging of breast cancer. *Virchows Arch*. 2018 May;472(5):697–703.
27. Anders CK, Johnson R, Litton J, Phillips M, Bleyer A. Breast cancer before age 40 years. *Semin Oncol*. 2009 Jun;36(3):237–49.

28. Weigelt B, Geyer FC, Reis-Filho JS. Histological types of breast cancer: how special are they? *Mol Oncol* [Internet]. 2010 [cited 2022 Mar 7];4(3):192–208. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20452298/>
29. Rakha EA, Reis-Filho JS, Baehner F, Dabbs DJ, Decker T, Eusebi V, et al. Breast cancer prognostic classification in the molecular era: the role of histological grade. *Breast Cancer Res* [Internet]. 2010 Aug 24 [cited 2022 Mar 7];12(4). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20804570/>
30. Estadificación del cáncer de mama: MedlinePlus enciclopedia médica [Internet]. [cited 2022 Mar 7]. Available from: <https://medlineplus.gov/spanish/ency/patientinstructions/000911.htm>
31. Goldhirsch A, Winer EP, Coates AS, Gelber RD, Piccart-Gebhart M, Thürlimann B, et al. Personalizing the treatment of women with early breast cancer: highlights of the St Gallen International Expert Consensus on the Primary Therapy of Early Breast Cancer 2013. *Ann Oncol*. 2013 Sep;24(9):2206–23.
32. Duffy MJ. Urokinase plasminogen activator and its inhibitor, PAI-1, as prognostic markers in breast cancer: from pilot to level 1 evidence studies. *Clin Chem*. 2002 Aug;48(8):1194–7.
33. Harris LN, Ismaila N, McShane LM, Andre F, Collyar DE, Gonzalez-Angulo AM, et al. Use of Biomarkers to Guide Decisions on Adjuvant Systemic Therapy for Women With Early-Stage Invasive Breast Cancer: American Society of Clinical Oncology Clinical Practice Guideline. *J Clin Oncol* [Internet]. 2016 Apr 1 [cited 2022 Mar 7];34(10):1134–50. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26858339/>
34. Roulot A, Héquet D, Guinebretière JM, Vincent-Salomon A, Lerebours F, Dubot C, et al. Tumoral heterogeneity of breast cancer. *Ann Biol Clin (Paris)*. 2016 Dec 1;74(6):653–60.
35. Gao JJ, Swain SM. Luminal A Breast Cancer and Molecular Assays: A Review. *Oncologist*. 2018;23(5):556–65.
36. Cheang MCU, Chia SK, Voduc D, Gao D, Leung S, Snider J, et al. Ki67 index, HER2 status, and prognosis of patients with luminal B breast cancer. *J Natl Cancer Inst*. 2009 May 20;101(10):736–50.
37. Choi BB, Jang HJ, Choi SI. Basal-like Breast Cancer: Comparison of Imaging Characteristics. *Curr Med Imaging*. 2020;16(3):241–8.
38. Tratamiento del cáncer de seno (mama) en adultas (PDQ®)–Versión para profesionales de salud - Instituto Nacional del Cáncer [Internet]. [cited 2022 Mar 7]. Available from: <https://www.cancer.gov/espanol/tipos/seno/pro/tratamiento-seno-pdq>
39. Eifel P, Axelson JA, Costa J, Crowley J, Curran WJ, Deshler A, et al. National Institutes of Health Consensus Development Conference Statement: adjuvant therapy for breast cancer, November 1-3, 2000. *J Natl Cancer Inst*. 2001 Jul 4;93(13):979–89.
40. Darby S, McGale P, Correa C, Taylor C, Arriagada R, Clarke M, et al. Effect of radiotherapy after breast-conserving surgery on 10-year recurrence and 15-year breast cancer death: Meta-analysis of individual patient data for 10 801 women in 17 randomised trials. *The Lancet* [Internet]. 2011 Nov 1 [cited 2022 Mar 7];378(9804):1707–16. Available from: <http://www.thelancet.com/article/S0140673611616292/fulltext>

41. Scully OJ, Bay BH, Yip G, Yu Y. Breast cancer metastasis. *Cancer Genomics Proteomics*. 9(5):311–20.
42. Massagué J, Obenauf AC. Metastatic colonization by circulating tumour cells. *Nature* [Internet]. 2016 Jan 20 [cited 2022 Mar 7];529(7586):298–306. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26791720/>
43. Eisenhauer EA, Therasse P, Bogaerts J, Schwartz LH, Sargent D, Ford R, et al. New response evaluation criteria in solid tumours: revised RECIST guideline (version 1.1). *Eur J Cancer*. 2009 Jan;45(2):228–47.
44. Cervera Deval J. RECIST y el radiólogo. *Radiología*. 2014 May;56(3):193–205.
45. Dr. Miguel Martín Jiménez. *MANUAL PRÁCTICO DE ONCOLOGÍA. CANCER DE MAMA*. 1ª. Amazing Books; 2021.
46. Reyes García N, Miranda Devora G. *REVISTA MEXICANA DE MASTOLOGÍA* Marcadores tumorales en cáncer de mama: CA 15-3 y antígeno carcinoembrionario. [cited 2022 Mar 7]; Available from: <http://www.medigraphic.com/revmexmastol>
47. Fu Y, Li H. Assessing Clinical Significance of Serum CA15-3 and Carcinoembryonic Antigen (CEA) Levels in Breast Cancer Patients: A Meta-Analysis. *Med Sci Monit*. 2016 Sep 6;22:3154–62.
48. Cardoso F, Paluch-Shimon S, Senkus E, Curigliano G, Aapro MS, André F, et al. 5th ESO-ESMO international consensus guidelines for advanced breast cancer (ABC 5). *Ann Oncol*. 2020;31(12):1623–49.
49. Chacón López-Muñiz JI, de la Cruz Merino L, Gavilá Gregori J, Martínez Dueñas E, Oliveira M, Seguí Palmer MA, et al. SEOM clinical guidelines in advanced and recurrent breast cancer (2018). *Clin Transl Oncol*. 2019 Jan;21(1):31–45.
50. Lutz S, Balboni T, Jones J, Lo S, Petit J, Rich SE, et al. Palliative radiation therapy for bone metastases: Update of an ASTRO Evidence-Based Guideline. *Pract Radiat Oncol*. 7(1):4–12.
51. Bachelot T, Romieu G, Campone M, Diéras V, Cropet C, Dalenc F, et al. Lapatinib plus capecitabine in patients with previously untreated brain metastases from HER2-positive metastatic breast cancer (LANDSCAPE): a single-group phase 2 study. *Lancet Oncol*. 2013 Jan;14(1):64–71.
52. Hammond MEH, Hayes DF, Dowsett M, Allred DC, Hagerty KL, Badve S, et al. American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists guideline recommendations for immunohistochemical testing of estrogen and progesterone receptors in breast cancer (unabridged version). *Arch Pathol Lab Med*. 2010 Jul;134(7):e48-72.
53. Nielsen TO, Parker JS, Leung S, Voduc D, Ebbert M, Vickery T, et al. A comparison of PAM50 intrinsic subtyping with immunohistochemistry and clinical prognostic factors in tamoxifen-treated estrogen receptor-positive breast cancer. *Clin Cancer Res*. 2010 Nov 1;16(21):5222–32.
54. Prat A, Parker JS, Karginova O, Fan C, Livasy C, Herschkowitz JI, et al. Phenotypic and molecular characterization of the claudin-low intrinsic subtype of breast cancer. *Breast Cancer Res*. 2010;12(5):R68.
55. Cancer Genome Atlas Network. Comprehensive molecular portraits of human breast tumours. *Nature*. 2012 Oct 4;490(7418):61–70.
56. Miller LD, Chou JA, Black MA, Print C, Chifman J, Alistar A, et al. Immunogenic Subtypes of Breast Cancer Delineated by Gene Classifiers of Immune Responsiveness. *Cancer Immunol Res*. 2016;4(7):600–10.

57. Cardoso F, Senkus E, Costa A, Papadopoulos E, Aapro M, André F, et al. 4th ESO-ESMO International Consensus Guidelines for Advanced Breast Cancer (ABC 4)†. *Ann Oncol*. 2018;29(8):1634–57.
58. Miles DW, Diéras V, Cortés J, Duenne AA, Yi J, O’Shaughnessy J. First-line bevacizumab in combination with chemotherapy for HER2-negative metastatic breast cancer: pooled and subgroup analyses of data from 2447 patients. *Ann Oncol*. 2013 Nov;24(11):2773–80.
59. Tutt A, Tovey H, Cheang MCU, Kernaghan S, Kilburn L, Gazinska P, et al. Carboplatin in BRCA1/2-mutated and triple-negative breast cancer BRCAness subgroups: the TNT Trial. *Nat Med*. 2018;24(5):628–37.
60. Cortes J, O’Shaughnessy J, Loesch D, Blum JL, Vahdat LT, Petrakova K, et al. Eribulin monotherapy versus treatment of physician’s choice in patients with metastatic breast cancer (EMBRACE): a phase 3 open-label randomised study. *Lancet*. 2011 Mar 12;377(9769):914–23.
61. Garber HR, Litton JK. Integrating poly(ADP-ribose) polymerase (PARP) inhibitors in the treatment of early breast cancer. *Curr Opin Oncol*. 2019;31(3):247–55.
62. Robson ME, Tung N, Conte P, Im SA, Senkus E, Xu B, et al. OlympiAD final overall survival and tolerability results: Olaparib versus chemotherapy treatment of physician’s choice in patients with a germline BRCA mutation and HER2-negative metastatic breast cancer. *Ann Oncol* [Internet]. 2019 Apr 1 [cited 2022 Mar 7];30(4):558–66. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30689707/>
63. Litton JK, Rugo HS, Ettl J, Hurvitz SA, Gonçalves A, Lee KH, et al. Talazoparib in Patients with Advanced Breast Cancer and a Germline BRCA Mutation. *N Engl J Med*. 2018;379(8):753–63.
64. García-Tejido P, Cabal ML, Fernández IP, Pérez YF. Tumor-Infiltrating Lymphocytes in Triple Negative Breast Cancer: The Future of Immune Targeting. *Clin Med Insights Oncol*. 2016;10(Suppl 1):31–9.
65. Schmid P, Rugo HS, Adams S, Schneeweiss A, Barrios CH, Iwata H, et al. Atezolizumab plus nab-paclitaxel as first-line treatment for unresectable, locally advanced or metastatic triple-negative breast cancer (IMpassion130): updated efficacy results from a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 3 trial. *Lancet Oncol* [Internet]. 2020 Jan 1 [cited 2022 Mar 7];21(1):44–59. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31786121/>
66. Cortes J, Cescon DW, Rugo HS, Nowecki Z, Im SA, Yusof MM, et al. KEYNOTE-355: Randomized, double-blind, phase III study of pembrolizumab + chemotherapy versus placebo + chemotherapy for previously untreated locally recurrent inoperable or metastatic triple-negative breast cancer. *Journal of Clinical Oncology*. 2020 May 20;38(15\_suppl):1000–1000.
67. Xiao W, Zheng S, Yang A, Zhang X, Zou Y, Tang H, et al. Breast cancer subtypes and the risk of distant metastasis at initial diagnosis: a population-based study. *Cancer Manag Res*. 2018;10:5329–38.
68. Kennecke H, Yerushalmi R, Woods R, Cheang MCU, Voduc D, Speers CH, et al. Metastatic behavior of breast cancer subtypes. *J Clin Oncol*. 2010 Jul 10;28(20):3271–7.
69. di Leo A, Jerusalem G, Petruzella L, Torres R, Bondarenko IN, Khasanov R, et al. Final overall survival: fulvestrant 500 mg vs 250 mg in the randomized CONFIRM trial. *J Natl Cancer Inst*. 2014 Jan;106(1):djt337.

70. Im SA, Lu YS, Bardia A, Harbeck N, Colleoni M, Franke F, et al. Overall Survival with Ribociclib plus Endocrine Therapy in Breast Cancer. *N Engl J Med*. 2019;381(4):307–16.
71. Turner NC, Slamon DJ, Ro J, Bondarenko I, Im SA, Masuda N, et al. Overall Survival with Palbociclib and Fulvestrant in Advanced Breast Cancer. *New England Journal of Medicine*. 2018 Nov 15;379(20):1926–36.
72. Sledge GW, Toi M, Neven P, Sohn J, Inoue K, Pivot X, et al. The Effect of Abemaciclib Plus Fulvestrant on Overall Survival in Hormone Receptor-Positive, ERBB2-Negative Breast Cancer That Progressed on Endocrine Therapy-MONARCH 2: A Randomized Clinical Trial. *JAMA Oncol*. 2020 Jan 1;6(1):116–24.
73. André F, Ciruelos E, Rubovszky G, Campone M, Loibl S, Rugo HS, et al. Alpelisib for PIK3CA-Mutated, Hormone Receptor-Positive Advanced Breast Cancer. *New England Journal of Medicine*. 2019 May 16;380(20):1929–40.
74. Baselga J, Campone M, Piccart M, Burris HAI, Rugo HS, Sahmoud T, et al. Everolimus in Postmenopausal Hormone-Receptor-Positive Advanced Breast Cancer. <http://dx.doi.org/10.1056/NEJMoa1109653> [Internet]. 2012 Feb 8 [cited 2022 Mar 7];366(6):520–9. Available from: <https://www.nejm.org/doi/full/10.1056/nejmoa1109653>
75. Royce M, Bachelot T, Villanueva C, Özgüroglu M, Azevedo SJ, Cruz FM, et al. Everolimus Plus Endocrine Therapy for Postmenopausal Women With Estrogen Receptor-Positive, Human Epidermal Growth Factor Receptor 2-Negative Advanced Breast Cancer: A Clinical Trial. *JAMA Oncol* [Internet]. 2018 Jul 1 [cited 2022 Mar 7];4(7):977–84. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29566104/>
76. Slamon DJ, Leyland-Jones B, Shak S, Fuchs H, Paton V, Bajamonde A, et al. Use of chemotherapy plus a monoclonal antibody against HER2 for metastatic breast cancer that overexpresses HER2. *N Engl J Med*. 2001 Mar 15;344(11):783–92.
77. Swain SM, Baselga J, Kim SB, Ro J, Semiglazov V, Campone M, et al. Pertuzumab, trastuzumab, and docetaxel in HER2-positive metastatic breast cancer. *N Engl J Med*. 2015 Feb 19;372(8):724–34.
78. Verma S, Miles D, Gianni L, Krop IE, Welslau M, Baselga J, et al. Trastuzumab emtansine for HER2-positive advanced breast cancer. *N Engl J Med*. 2012 Nov 8;367(19):1783–91.
79. Murthy RK, Loi S, Okines A, Paplomata E, Hamilton E, Hurvitz SA, et al. Tucatinib, Trastuzumab, and Capecitabine for HER2-Positive Metastatic Breast Cancer. *New England Journal of Medicine*. 2020 Feb 13;382(7):597–609.
80. Modi S, Saura C, Yamashita T, Park YH, Kim SB, Tamura K, et al. Trastuzumab Deruxtecan in Previously Treated HER2-Positive Breast Cancer. *N Engl J Med*. 2020;382(7):610–21.
81. Perou CM, Sørile T, Eisen MB, van de Rijn M, Jeffrey SS, Renshaw CA, et al. Molecular portraits of human breast tumours. *Nature* [Internet]. 2000 Aug 17 [cited 2022 Mar 7];406(6797):747–52. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10963602/>
82. Filipits M, Nielsen TO, Rudas M, Greil R, Stöger H, Jakesz R, et al. The PAM50 risk-of-recurrence score predicts risk for late distant recurrence after endocrine therapy in postmenopausal women with endocrine-responsive early breast cancer. *Clin Cancer Res*. 2014 Mar 1;20(5):1298–305.

83. Gnant M, Filipits M, Greil R, Stoeger H, Rudas M, Bago-Horvath Z, et al. Predicting distant recurrence in receptor-positive breast cancer patients with limited clinicopathological risk: using the PAM50 Risk of Recurrence score in 1478 postmenopausal patients of the ABCSG-8 trial treated with adjuvant endocrine therapy alone. *Ann Oncol*. 2014 Feb;25(2):339–45.
84. Dowsett M, Sestak I, Lopez-Knowles E, Sidhu K, Dunbier AK, Cowens JW, et al. Comparison of PAM50 risk of recurrence score with oncotype DX and IHC4 for predicting risk of distant recurrence after endocrine therapy. *J Clin Oncol*. 2013 Aug 1;31(22):2783–90.
85. Qué es el test | Oncotype DX Breast Recurrence Score® | Oncotype IQ® Spain [Internet]. [cited 2022 Mar 7]. Available from: <https://www.oncotypeiq.com/es-ES/cancer-de-mama/profesional-sanitario/oncotype-dx-breast-recurrence-score/que-es-el-test>
86. Mammaprint - Respuesta Genética [Internet]. [cited 2022 Mar 7]. Available from: <http://www.respuestagenetica.com/mammaprint/>
87. Sánchez-Forgach ER, Carpinteyro-Espín U, Alemán-Áviles JA, Sánchez-Basurto C. Validación y aplicación clínica de MammaPrint® en pacientes con cáncer de mama. *Cirugía y Cirujanos*. 2017 Jul;85(4):320–4.
88. Taylor AM, Chan DLH, Tio M, Patil SM, Traina TA, Robson ME, et al. PARP (Poly ADP-Ribose Polymerase) inhibitors for locally advanced or metastatic breast cancer. *Cochrane Database of Systematic Reviews*. 2021 Apr 22;2021(4).
89. Sultova E, Westphalen CB, Jung A, Kumbrink J, Kirchner T, Mayr D, et al. NGS-guided precision oncology in metastatic breast and gynecological cancer: first experiences at the CCC Munich LMU. *Arch Gynecol Obstet*. 2021;303(5):1331–45.
90. André F, Bachelot T, Commo F, Campone M, Arnedos M, Dieras V, et al. Comparative genomic hybridisation array and DNA sequencing to direct treatment of metastatic breast cancer: a multicentre, prospective trial (SAFIR01/UNICANCER). *Lancet Oncol*. 2014 Mar;15(3):267–74.
91. Calabria I, Pedrola L, Berlanga P, Aparisi MJ, Sánchez-Izquierdo D, Cañete A, et al. El nuevo reto en oncología: la secuenciación NGS y su aplicación a la medicina de precisión. *Anales de Pediatría* [Internet]. 2016 Nov 1 [cited 2022 Mar 7];85(5):273.e1-273.e7. Available from: <https://www.analesdepediatria.org/es-el-nuevo-reto-oncologia-secuenciacion-articulo-S1695403316301990>
92. ctDNA Expanded Kits for NGS Liquid Biopsy - Roche Sequencing Solutions [Internet]. [cited 2022 Mar 8]. Available from: <https://sequencing.roche.com/en/products-solutions/products/ngs-oncology-assays/ctdna-analysis-kits/ctdna-expanded-kits.html>
93. Arrechea Irigoyen MA, Vicente García F, Córdoba Iturriagoitia A, Ibáñez Beroiz B, Santamaría Martínez M, Guillén Grima F. [Molecular subtypes of breast cancer: prognostic implications and clinical and immunohistochemical characteristics]. *An Sist Sanit Navar* [Internet]. 2011 [cited 2022 Apr 10];34(2):219–33. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21904404/>
94. Blows FM, Driver KE, Schmidt MK, Broeks A, van Leeuwen FE, Wesseling J, et al. Subtyping of breast cancer by immunohistochemistry to investigate a relationship between subtype and short and long term survival: a collaborative analysis of data for 10,159 cases from 12 studies. *PLoS Med* [Internet]. 2010 May [cited 2022 Apr 10];7(5). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20520800/>

95. Maxwell KN, Soucier-Ernst D, Tahirovic E, Troxel AB, Clark C, Feldman M, et al. Comparative clinical utility of tumor genomic testing and cell-free DNA in metastatic breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* [Internet]. 2017 May 12 [cited 2022 Apr 10];164(3):1–12. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28500398/>
96. Yoo TK. Liquid Biopsy in Breast Cancer: Circulating Tumor Cells and Circulating Tumor DNA. *Adv Exp Med Biol* [Internet]. 2021 [cited 2022 Apr 10];1187:337–61. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33983587/>
97. Smerage JB, Barlow WE, Hortobagyi GN, Winer EP, Leyland-Jones B, Srkalovic G, et al. Circulating Tumor Cells and Response to Chemotherapy in Metastatic Breast Cancer: SWOG S0500. *Journal of Clinical Oncology*. 2014 Nov 1;32(31):3483–9.
98. G. Allegrini MOLDMCZRTVGIPGSFPMACFMAZMECMRVGBERMCSDCGA. Study of the Molecular Features of Postmenopausal Women With HR+ HER2-negative aBC on First-line Treatment With Ribociclib and Letrozole and, in Patients With a PIK3CA Mutation, on Second-line Treatment With Alpelisib Plus Fulvestrant [Internet]. 2021 [cited 2022 May 7]. Available from: <https://www.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03439046>
99. Chang DY, Ma WL, Lu YS. Role of Alpelisib in the Treatment of PIK3CA-Mutated Breast Cancer: Patient Selection and Clinical Perspectives. *Ther Clin Risk Manag* [Internet]. 2021 [cited 2022 Apr 10];17:193–207. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33707948/>
100. O’Shaughnessy J, Brezden-Masley C, Cazzaniga M, Dalvi T, Walker G, Bennett J, et al. Prevalence of germline BRCA mutations in HER2-negative metastatic breast cancer: global results from the real-world, observational BREAKOUT study. *Breast Cancer Res* [Internet]. 2020 Dec 1 [cited 2022 Apr 10];22(1). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33109210/>
101. Delaloge S, Conte PF, Im SA, Senkus-Konefka E, Xu B, Domchek SM, et al. OlympiAD: Further efficacy outcomes in patients with HER2-negative metastatic breast cancer and a germline BRCA mutation receiving olaparib monotherapy vs standard single-agent chemotherapy treatment of physician’s choice. *Annals of Oncology* [Internet]. 2017 Sep 1 [cited 2022 Apr 10];28:v77. Available from: <http://www.annalsofoncology.org/article/S0923753420376675/fulltext>
102. Diab S, Rugo HS, Mina LA, Puhalla S, Mahtani RL, Henry NL, et al. Efficacy and safety of talazoparib (TALA) or physician’s choice of therapy (PCT) in United States patients (pts) with HER2- germline BRCA1/2-mutated (gBRCAm) locally advanced/metastatic breast cancer (LA/MBC) in the EMBRACA study. [https://doi.org/101200/JCO20193715\\_suppl1044](https://doi.org/101200/JCO20193715_suppl1044). 2019 May 26;37(15\_suppl):1044–1044.
103. Zundelovich A, Dadiani M, Kahana-Edwin S, Itay A, Sella T, Gadot M, et al. Correction to: ESR1 mutations are frequent in newly diagnosed metastatic and loco-regional recurrence of endocrine-treated breast cancer and carry worse prognosis. *Breast Cancer Research : BCR* [Internet]. 2020 Mar 12 [cited 2022 Apr 10];22(1). Available from: [/pmc/articles/PMC7068888/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33109210/)
104. Bardia A, Aftimos P, Bihani T, Anderson-Villaluz AT, Jung J, Conlan MG, et al. EMERALD: Phase III trial of elacestrant (RAD1901) vs endocrine therapy for previously treated ER+ advanced breast cancer. *Future Oncol* [Internet]. 2019



Universidad  
Católica  
de Valencia  
San Vicente Mártir

**FACULTAD DE MEDICINA Y CIENCIAS DE LA SALUD**

[cited 2022 Apr 10];15(28):3209–18. Available from:  
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31426673/>

# CÁNCER DE MAMA AVANZADO: ANÁLISIS DE ctDNA Y NEXT GENERATION SEQUENCING (AVENIO-77) EN LA IDENTIFICACIÓN DE BIOMARCADORES Y SU COMPORTAMIENTO CLÍNICO

AUTOR: ALBERTO BARRAGÁN GARCÍA – Facultad de Medicina. Universidad Católica San Vicente Mártir  
DIRECTOR: ANTONIO LLOMBART CUSSAC – Jefe del Servicio de Oncología Médica. Hospital Arnau de Vilanova. Valencia

## INTRODUCCIÓN:

El ADN tumoral circulante (ADNc) se encuentra en las fracciones de suero y plasma de la sangre. Su liberación se supone por apoptosis, necrosis y secreción activa de las células tumorales. Una vez que se aísla el ADNc, se puede secuenciar para análisis mutacional y detectar, además, inserciones, deleciones, variaciones en el número de copias y translocaciones (1). El kit AVENIO ctDNA Expanded es un ensayo de biopsia líquida de NGS con más de un 99 % de sensibilidad para detectarlas (2).

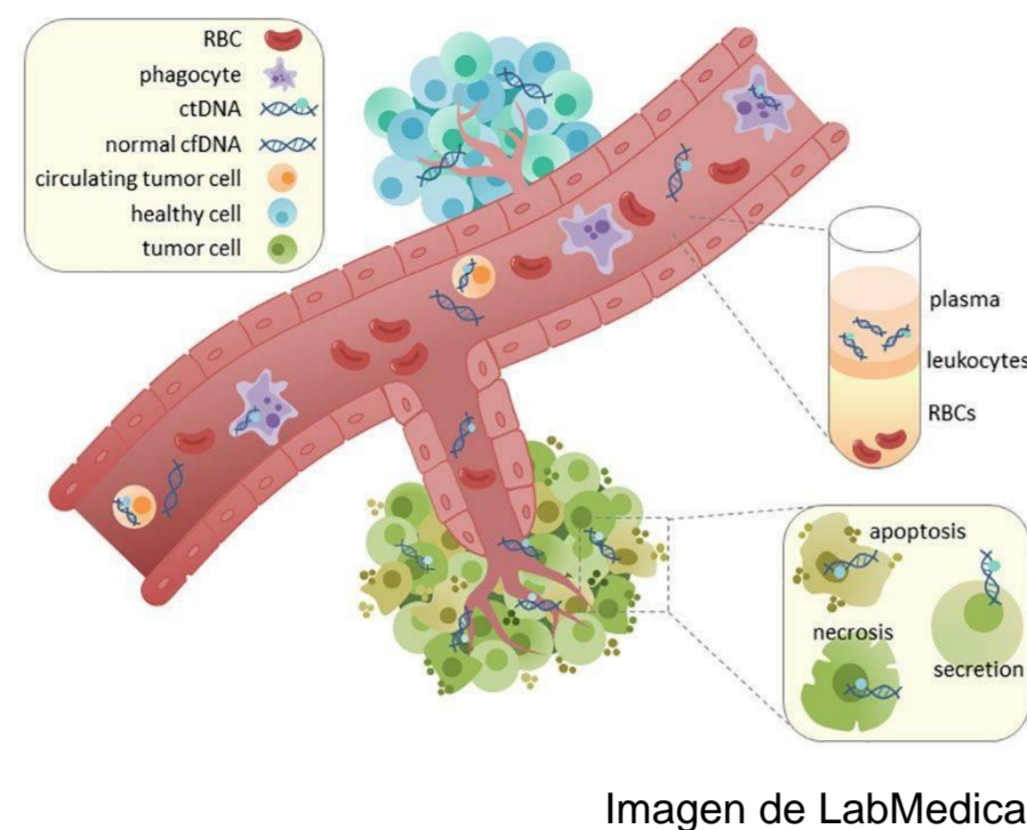


Imagen de LabMedica

## HIPÓTESIS Y OBJETIVOS:

La biopsia líquida utilizando la técnica de NGS, permite cuantificar y caracterizar molecularmente el ctDNA en pacientes con cáncer de mama avanzado (CMM) para detectar mutaciones accionables relacionadas con el pronóstico e individualizar el tratamiento. Se plantea describir la prevalencia de mutaciones por plataforma molecular (Avenio-77) en pacientes con CMM y su relación con factores clínicos, biológicos y moleculares, para identificar pacientes con indicación de terapia dirigida y correlacionar variables con la supervivencia global.

## MATERIAL Y MÉTODOS:

Pacientes con edad media de 61 años (estadio IV-TNM) entre 1-11-2019 y 31-12-2021 del Hospital Arnau de Vilanova (Valencia). Variables de situación clínica inicial, histoquímicas, mutaciones genómicas y de seguimiento terapéutico. Intervención: secuenciación masiva de genes en muestra de sangre periférica. Análisis: de frecuencias, correlación en variables cualitativas por Chi-cuadrado y supervivencia global por Kaplan-Meier y long rack.

## RESULTADOS:

**74 MUJERES / 2 HOMBRES – EDAD MEDIA: 61 AÑOS (33-88)**

### CARACTERÍSTICAS GENERALES DE LA POBLACIÓN ESTUDIADA

ESTADIO TNM	IIIb	IV	Nº PACIENTES	%
	1	75	1	1,3%
			75	98,7%

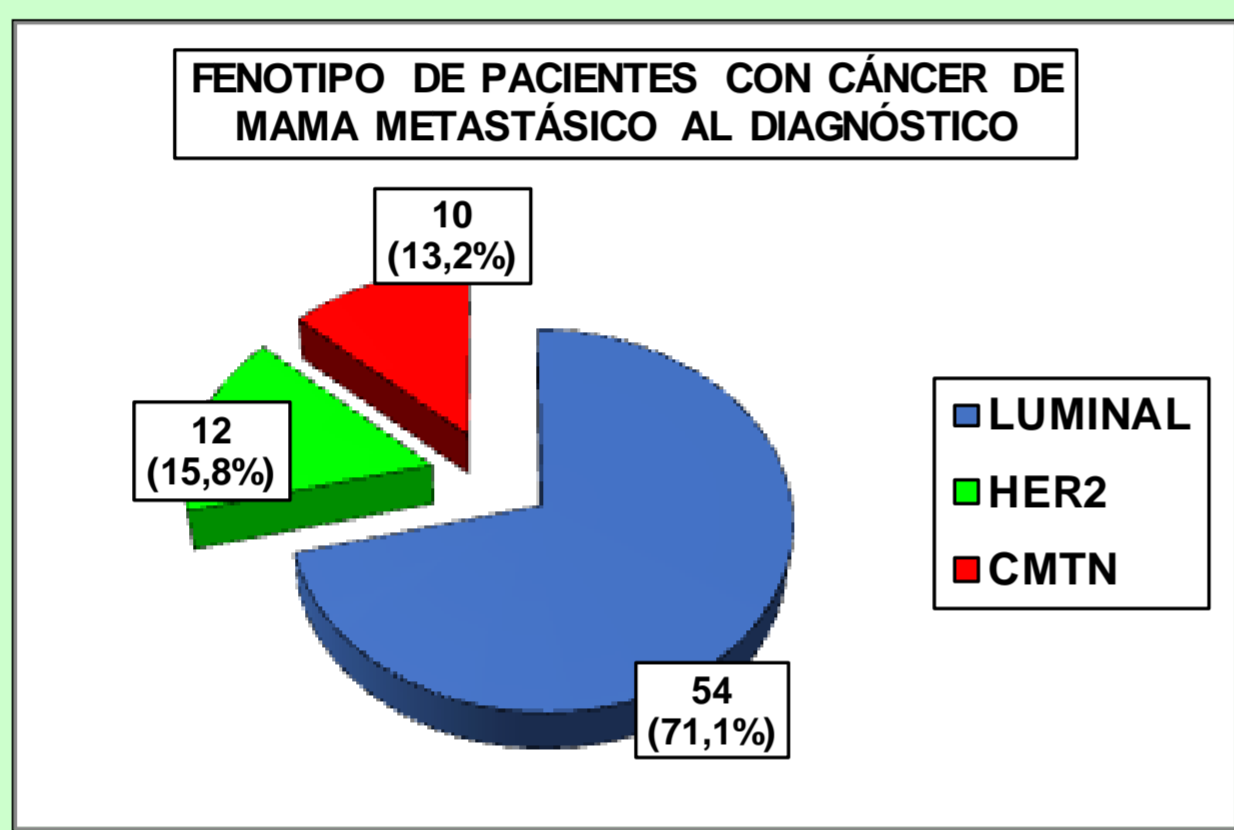
ESCALA ECOG	0	1	2	3	Nº PACIENTES	%
	37	31	6	2	74	100%
					48,7%	40,8%
					7,9%	2,6%

ÓRGANOS AFECTOS	1	2	≥ 3	Nº PACIENTES	%
	39	27	10	76	100%
					51,3%
					35,5%
					13,2%

LÍNEAS DE TRATAMIENTO PREVIO	0	1	2	>2	Nº PACIENTES	%
	46	17	4	9	76	100%
					60,5%	
					22,4%	
					5,3%	
					11,8%	



### MARCADORES TUMORALES AL INICIO

CEA BASAL	Mediana	4,9 ng/dl	
CEA > 5.0	36	47,4%	

CA15,3	Mediana	55,6 U/ml	
Ca15,3 > 42	46	60,5%	

CTCs	Mediana	2	
CTCs > 5	28	36,8%	

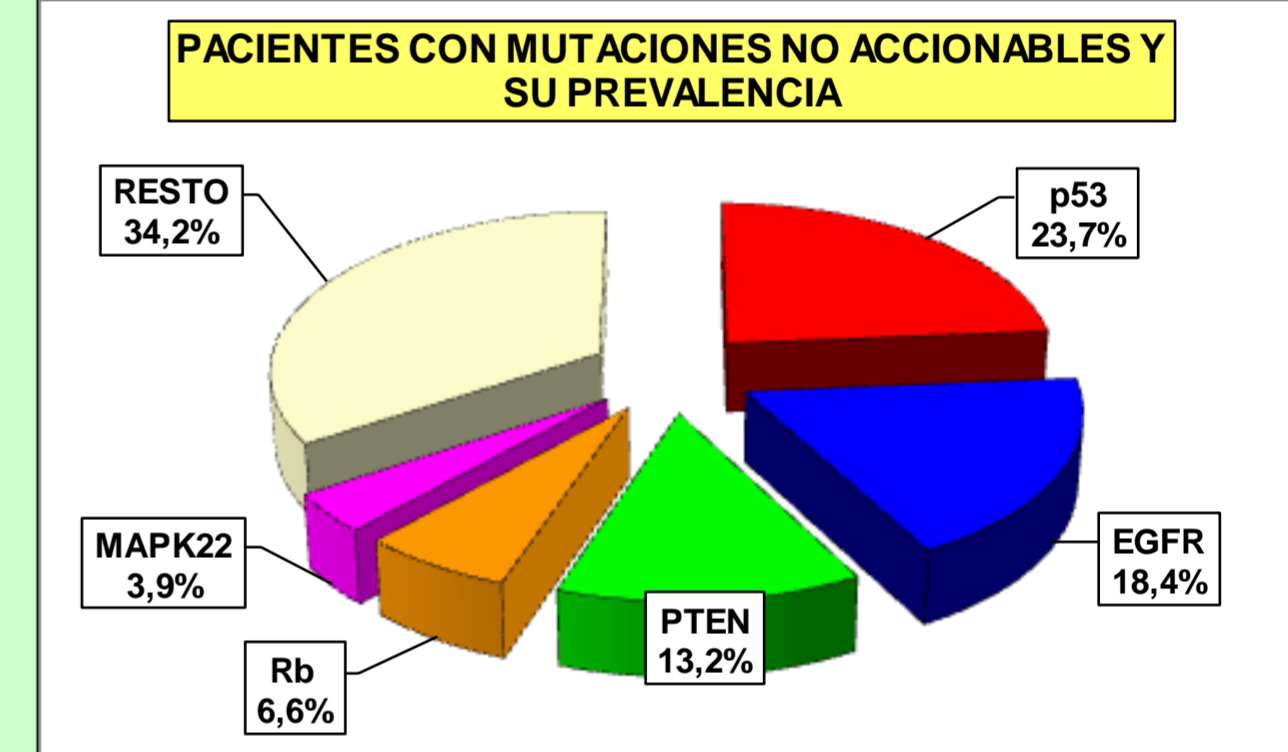
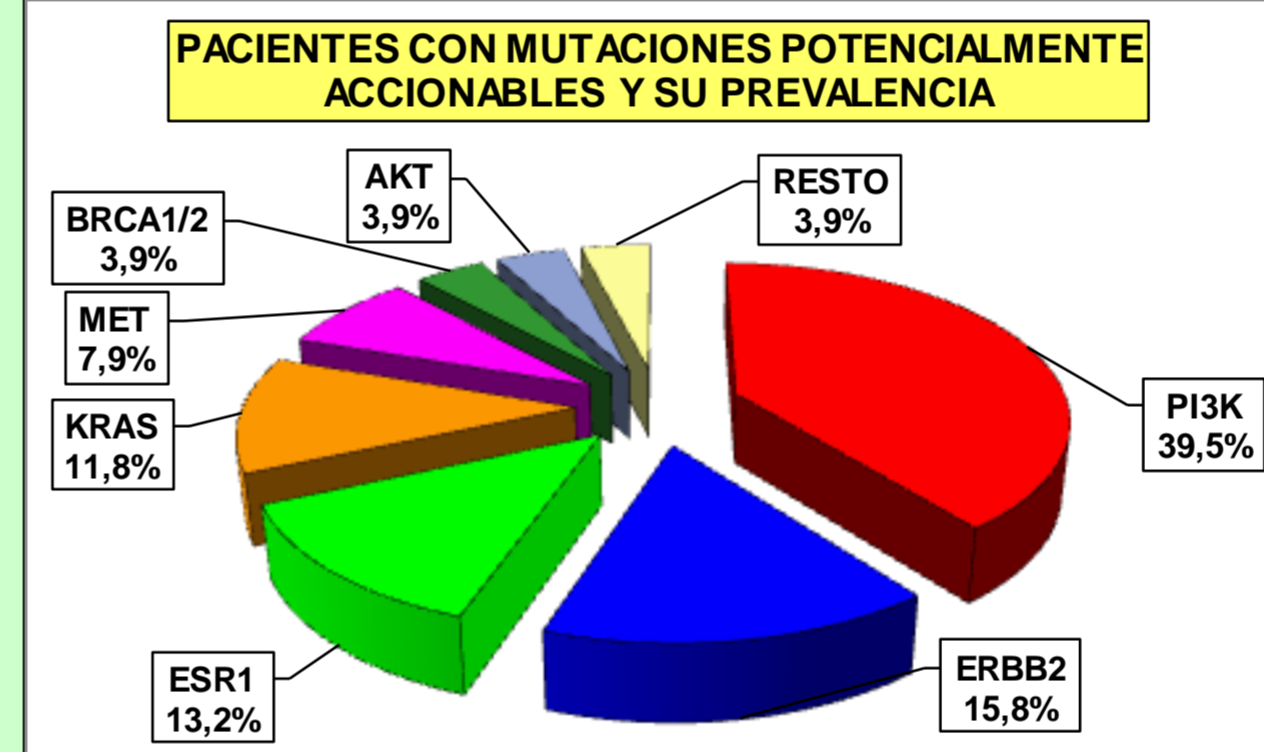
	MEDIANA
INTERVALO DESDE EL DIAGNÓSTICO DEL CÁNCER DE MAMA	37,5 MESES
INTERVALO DESDE EL DIAGNÓSTICO DE ENFERMEDAD AVANZADA	1,6 MESES

### RELACIÓN ENTRE MUTACIONES EN FENOTIPO LUMINAL Y RESTO (HER2+CMTN)

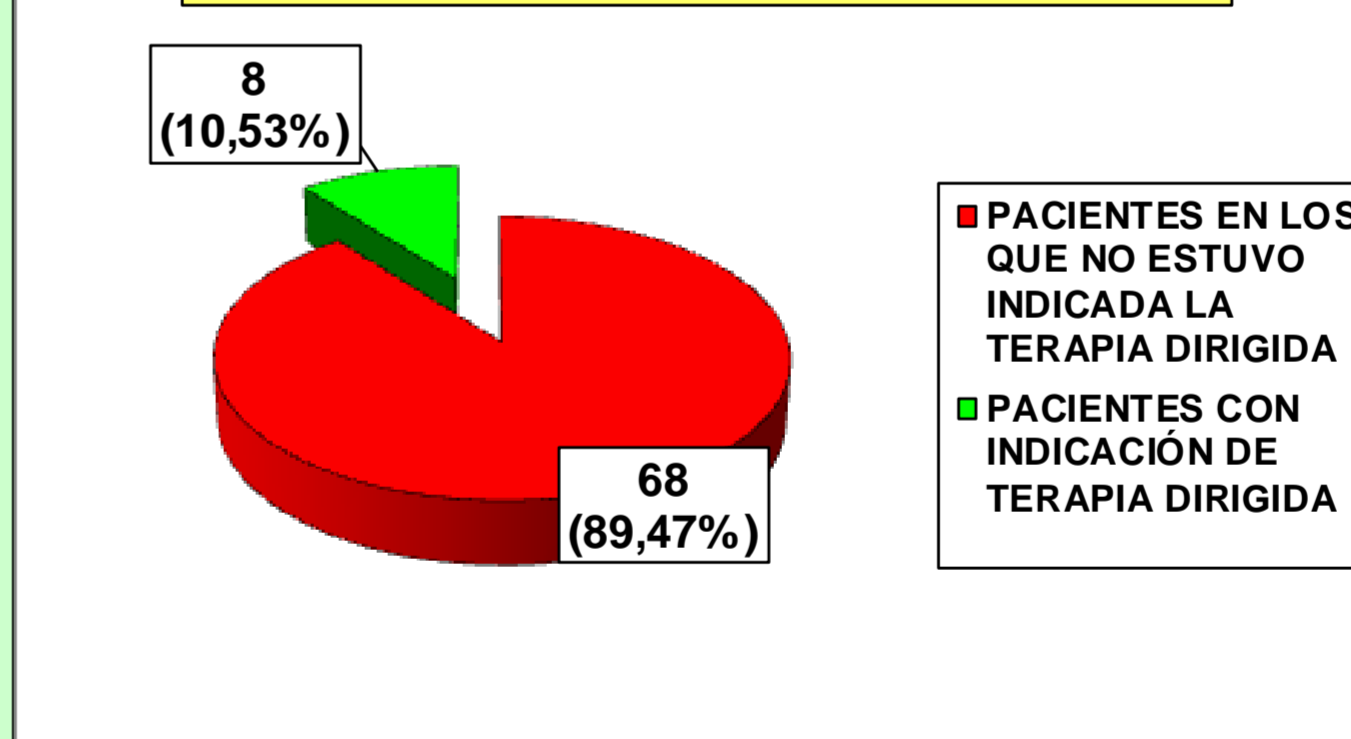
Nº PACIENTES	76	FENOTIPO MOLECULAR				χ²
		LUMINAL	HER2 + CMTN			
Nº MUTACIONES	53	39	14	69,74%	0,46	
		72,22%	63,64%			

MUTACIONES PATOLÓGICAS POTENCIALMENTE ACCIONABLES MÁS PREVALENTES					
	Nº	%	Nº	%	Nº
PI3K	30	39,5%	26	48,1%	4
ERBB2	12	15,8%	6	11,1%	6
ESR1	10	13,2%	10	18,5%	0



### TERAPIA DIRIGIDA SEGÚN RESULTADOS DE NGS

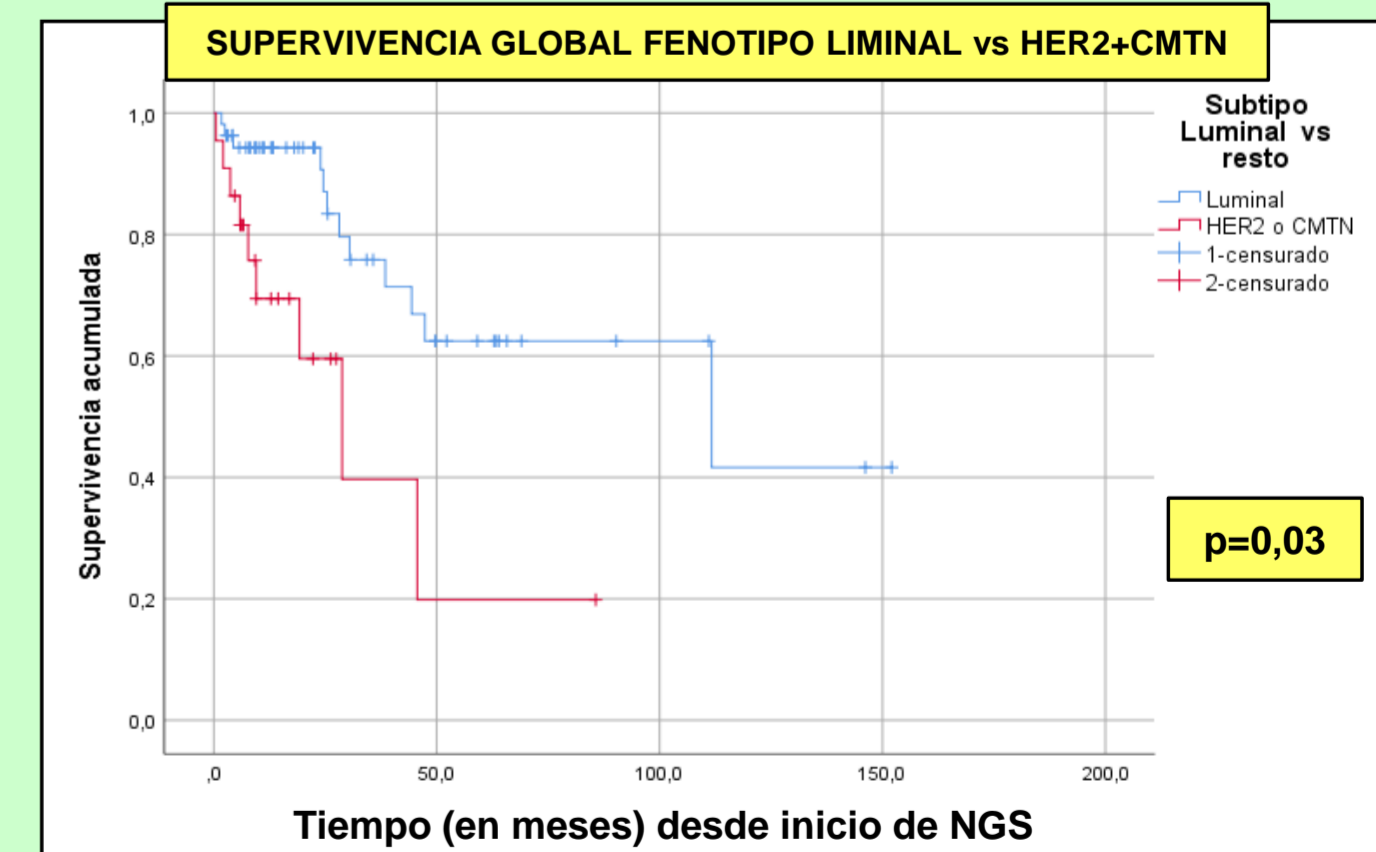
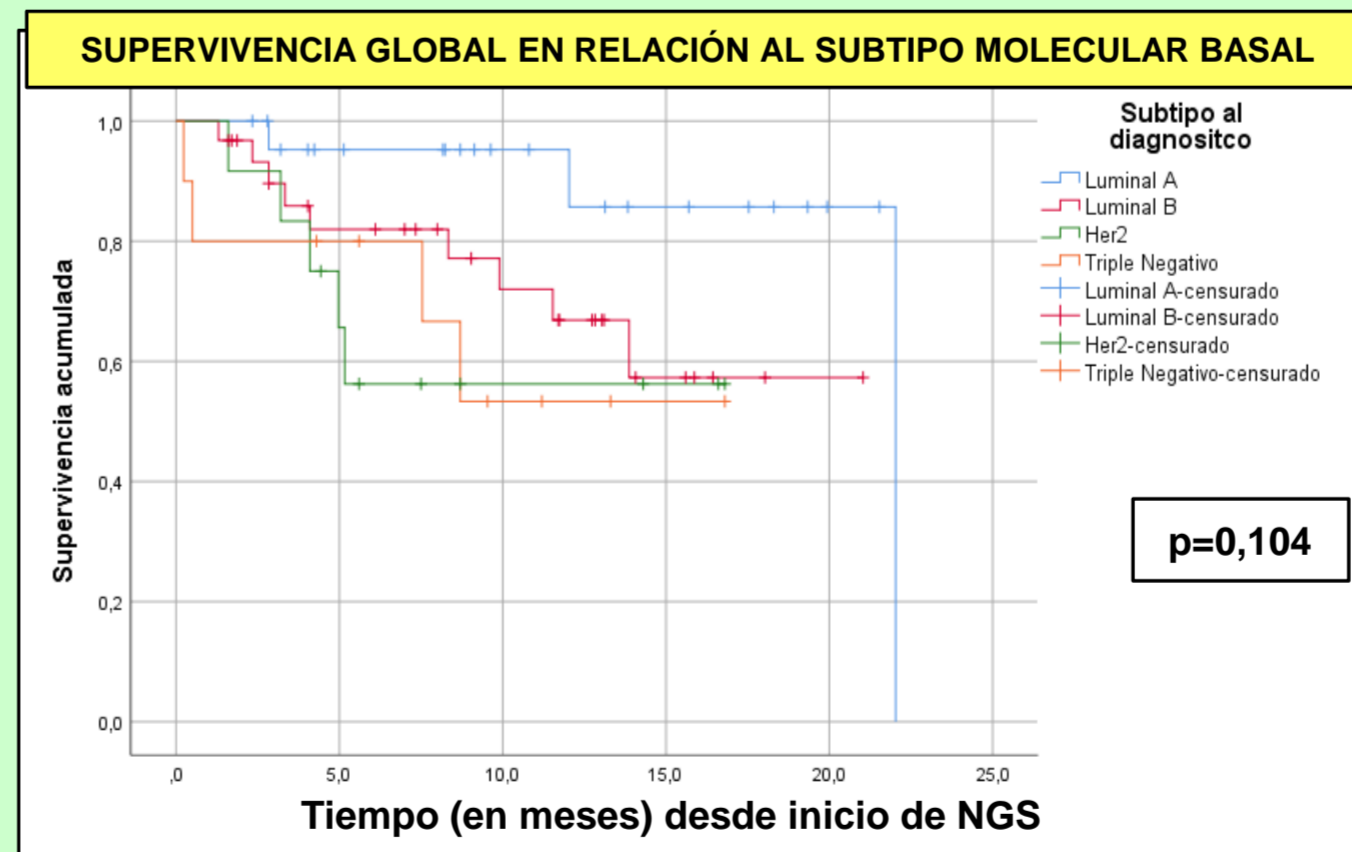


### CORRELACIÓN ENTRE CARACTERÍSTICAS DE LA POBLACIÓN Y PRESENCIA DE MUTACIONES (Chi-cuadrado para p<0,05)

VARIABLES RELACIONADAS CON LAS CARACTERÍSTICAS DE LA POBLACIÓN	Presencia de Mutaciones Patológicas	TIPO DE MUTACIÓN			
		ESR1	PI3K	ERBB2	p53
ENFERMEDAD VISCERAL	0,12	0,65	0,57	0,67	0,014
ENFERMEDAD OSEA	0,764	0,382	0,948	0,972	0,817
PRIMERA LINEA vs. OTRAS	0,968	0,038	0,13	0,64	0,58
ECOG NIVEL 0	0,368	0,892	0,853	0,466	0,55

### CORRELACIÓN ENTRE MARCADORES TUMORALES Y PRESENCIA DE MUTACIONES (Chi-cuadrado para p<0,05)

MARCADORES TUMORALES	Presencia de Mutaciones Patológicas	TIPO DE MUTACIÓN			
		ESR1	PI3K	ERBB2	p53
CEA Alto	0,148	0,42	0,075	0,84	0,04
Ca15,3 Alto	0,326	0,046	0,578	0,64	0,037
CTCS >5	0,004	0,024	0,172	0,547	0,212



## CONCLUSIONES:

- La Next-Generation Sequencing (NGS) con "AVENIO-77 ctDNA Expanded Kit", en pacientes con cáncer de mama metastásico, ha permitido identificar mutaciones accionables en un 69,7% de las pacientes. Las más prevalentes fueron PI3K (39,5%), ERBB2 (15,8%) y ESR1 (13,2%).
- La presencia de mutaciones condiciona un mal pronóstico y se correlaciona con otros factores de mal pronóstico como son: enfermedad visceral, CTCs>5 y el haber recibido terapias previas para enfermedad avanzada.
- Se observa una mayor prevalencia de mutaciones PI3K y ESR1 con tumores de extirpe Luminal.
- Hasta la fecha, el resultado del test ha derivado a 8 pacientes (10,53%) a una terapia dirigida, mayoritariamente a alpelisib por mut-PI3K. La eficiencia de esta tecnología es aun modesta y requerirá en el futuro de un mayor número de terapias dirigidas disponibles.

## BIBLIOGRAFÍA:

- Calabria I, Pedrola L, Berlanga P, Aparisi MJ, Sánchez-Izquierdo D, Cañete A, et al. El nuevo reto en oncología: la secuenciación NGS y su aplicación a la medicina de precisión. Anales de Pediatría [Internet]. 2016 Nov 1 [cited 2022 Mar 7];85(5):273.e1-273.e7. Available from: <https://www.analesdepediatria.org/es-el-nuevo-reto-oncologia-secuenciacion-articulo-S1695403316301990>
- ctDNA Expanded Kits for NGS Liquid Biopsy - Roche Sequencing Solutions [Internet]. [cited 2022 Mar 8]. Available from: <https://sequencing.roche.com/en/products-solutions/products/ngs-oncology-assays/ctdna-analysis-kits/ctdna-expanded-kits.html>