

# El perfil inmune y metabólico como posible biomarcador predictivo de respuesta al tratamiento neoadyuvante con ICIs en pacientes de cáncer de mama triple negativo (CMTN)

Serrano-García, L<sup>a\*</sup>; Quintas, G<sup>b</sup>; Pérez-Álvarez de Lara<sup>a</sup>, M; Moret<sup>a</sup>, A; Portero-Hernández, M<sup>a</sup>; Cejalvo JM<sup>c</sup>; Iranzo, V<sup>d</sup>; Sanchez-García, J<sup>a</sup>; Marín, S<sup>a</sup>; Llombart-Cussac, A<sup>a</sup>; Fernández-Murga, ML<sup>a\*</sup>.

<sup>a</sup>Departamento de Oncología Molecular y Clínica, Hospital Arnau de Vilanova, Valencia.  
<sup>b</sup>Health and Biomedicine Department, Leitat Technological Center, Barcelona.  
<sup>c</sup>Departamento de Oncología Médica, Hospital Clínico Universitario, Valencia – Instituto de investigación Biomédica INCLIVA, Valencia.  
<sup>d</sup>Departamento de Oncología Médica, Hospital General Universitario, Valencia.  
 \* [luchiserga@gmail.com](mailto:luchiserga@gmail.com), [malefermu67@gmail.com](mailto:malefermu67@gmail.com)

## INTRODUCCIÓN

Los inhibidores de puntos de control inmune (ICIs) están mostrando resultados prometedores en CMTN temprano, pero hay un porcentaje de pacientes que no responden a la terapia. Conocer los factores celulares y moleculares que influyen en la respuesta al tratamiento puede proporcionar un mejor abordaje de esta enfermedad. El objetivo de este estudio es investigar, mediante métodos no invasivos, perfiles inmunes y metabólicos que permitan predecir qué pacientes responderán al tratamiento.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Se incluyeron veintinueve pacientes CMTN tratadas con ICIs (pembrolizumab) y quimioterapia en neoadyuvancia y se tomaron muestras de sangre antes del tratamiento (basal), después de 3 semanas (3W) y antes de la cirugía (preop). Se recogieron datos demográficos y clínicos (Tabla 1). La respuesta al tratamiento se evaluó histopatológicamente después de la cirugía en función de si se obtuvo o no una respuesta completa patológica, clasificándose como respondedoras (R) y no respondedoras (NR) respectivamente. Los paneles de inmunofenotipo (poblaciones de linfocitos y células mieloides supresoras (MDSC)) se realizaron mediante citometría de flujo en sangre fresca. El perfil metabólico se analizó en suero utilizando UPLC-MS/MS y una adquisición dependiente de datos dinámica guiada por base de datos (DDA dinámica) para la fragmentación MS/MS para mejorar la proporción de metabolitos fragmentados y la proporción de anotación. El estudio fue aprobado por el comité ético institucional del Hospital Arnau de Vilanova (Ref. IMNOTCH/2021).

## RESULTADOS

### Población de estudio:

Variables	Pacientes, N=29
Edad (años)	
Mediana (rango)	50 (32-78)
Estado de menopausia	
Pre	19 (65.5%)
Post	10(34.5%)
Comorbilidades	
Hipotiroidismo	2 (6,9%)
Dislipemia	2 (6,9%)
Otras <sup>a</sup>	6 (31,6 %)
Estadio tumoral en el diagnóstico	
II	13 (44.8%)
III	16 (55.2%)
Ganglios en el diagnóstico	
N0	12 (44.1%)
N1	12 (41,4%)
N2	3 (10,3%)
N3	2 (6,9%)
Punto de tratamiento	
Tratamiento activo	8 (27,6%)
Tratamiento finalizado	21 (72,4%)
Respuesta al tratamiento	N=21
Respondedoras	12 (57,15%)
Estadio II	10 (83,3%)
Estadio III	2 (16,7%)
No respondedoras	9 (42,85 %)
Estadio II	6 (77,7 %)
Estadio III	3 (23,3%)
Efectos adversos	N=21
Toxicidad hematológica	4 (19,05%)
Transaminitis	1 (4,8%)
Diarrea	1 (4,8%)
Colitis	1 (4,8%)
Artritis	1 (4,8%)

Tabla 1. Características clínicas y demográficas de las pacientes incluidas en el estudio. a. (Migraña, miocarditis, hipertensión arterial, alergia, Talasemia)

### Citómica:

Hasta la fecha, 21 de los 29 pacientes han completado el tratamiento y la cirugía con un resultado de 12 respondedores y 9 no respondedores. Para todos los pacientes, el tratamiento neoadyuvante produjo un aumento significativo y progresivo en el tiempo de la población de linfocitos T CD3+, concretamente en la subpoblación de linfocitos T CD8+ o citotóxicos (p=0,006) y linfocitos T Natural Killer (NKT) (p=0,007). Este aumento fue de 2,2 y 1,8 veces respectivamente al comparar el porcentaje preoperatorio con respecto al porcentaje basal (Figura 1). Las poblaciones de MDSC no mostraron cambios significativos con el tratamiento en la población total (Figura 2), aunque se observó una tendencia hacia una disminución en la población de MDSC totales, granulocíticas y tempranas (Figura 2A, 2C y 2D) después de la administración de ICIs.

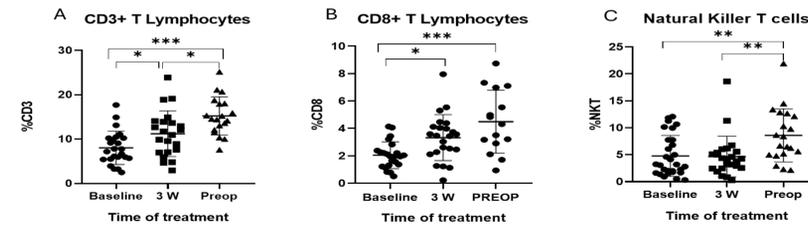


Figura 1: Cambios en las poblaciones linfocitarias durante el tratamiento con ICIs: Linfocitos T CD3+ (A), Linfocitos T citotóxicos (B) y Linfocitos T Natural Killer (C)

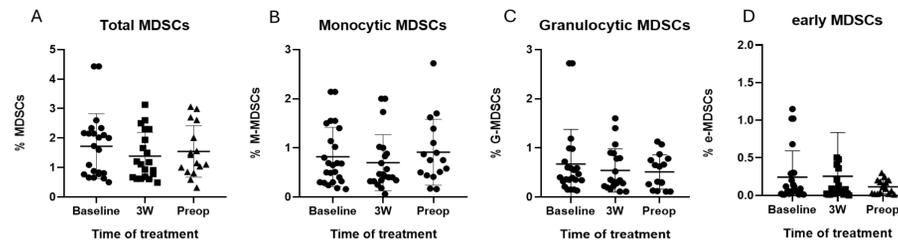


Figura 2: Cambios en las poblaciones de MDSCs durante el tratamiento con ICIs: MDSCs totales (A), MDSCs monocíticas (B) MDSCs granulocíticas(C) y MDSCs tempranas (D).

Al clasificar a los pacientes en R vs NR, observamos que las R tuvieron un aumento significativo de 2,5 veces en células T CD8+ y de 2,6 veces en NKT (p<0,001), ambas poblaciones asociadas con inmunidad antitumoral. Sin embargo, en las pacientes NR observamos un ligero aumento que no fue estadísticamente significativo (Figura 3). Los pacientes NR mostraron niveles más altos que R de todas las subpoblaciones de MDSCs, asociadas con inmunosupresión, en todos los tiempos de muestra. Esta diferencia fue estadísticamente significativa para MDSCs totales (3W; p=0,03 y Preop; p=0,01) y especialmente en la población de MDSCs granulocíticas (G-MDSCs) a los tiempos de 3W y Preop (NR 2,5 y 5,1 veces mayor que R respectivamente) (p=0,02; p=0,006) (Figura 4).

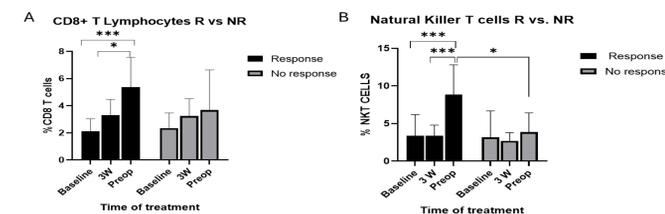


Figura 3. Poblaciones linfocitarias a distintos tiempos de tratamiento con ICIs, R vs NR: Linfocitos T citotóxicos(A) y linfocitos T Natural Killer (B)

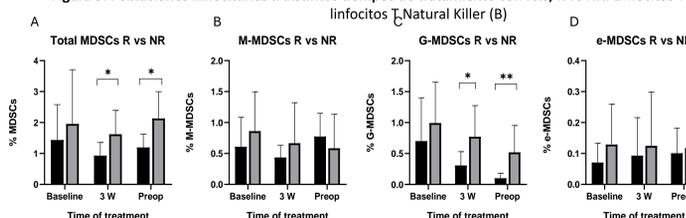


Figura 4. Subpoblaciones de MDSCs a distintos tiempos de tratamiento, R vs. NR MDSCs totales (A), MDSCs monocíticas (B) MDSCs granulocíticas (C) y MDSCs tempranas (D).

### Metabólica:

El análisis de los perfiles metabólicos mediante MS/MS y análisis funcional identificó alteraciones significativas en las vías metabólicas de purinas, pirimidinas (síntesis de ácidos nucleicos) y triptófano entre los grupos R y NR antes de comenzar el tratamiento (p<0,05) (Figura 5 A-C). A las 3 semanas de tratamiento, se observó un conjunto distinto de vías alteradas, incluida la degradación de lisina, el metabolismo del inositol fosfato y el metabolismo de la tirosina (p<0,05) (Figura 6 A-C).

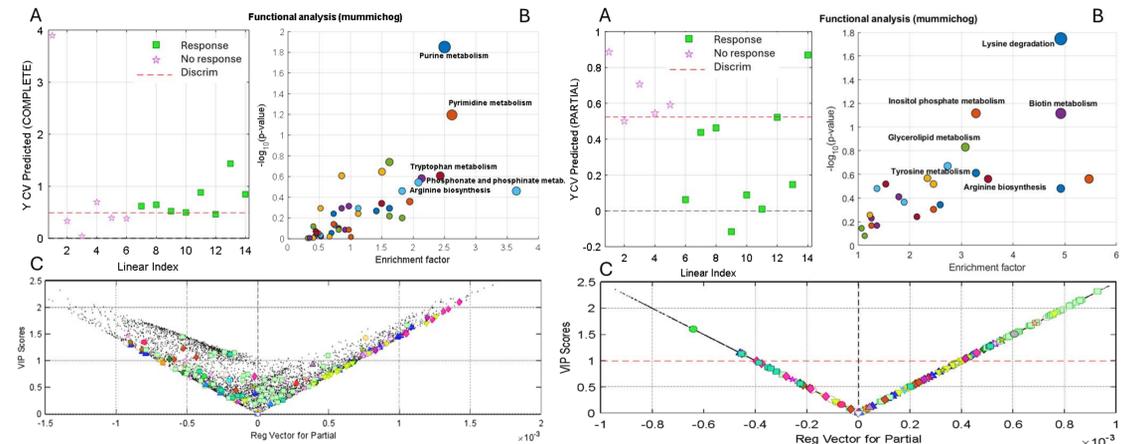


Figura 5. Análisis metabólico R vs NR tiempo basal. XT (14 X 5383). PLSA, CV:LOO Autoscaled data, LVs:2. Functional analysis m/z 10 ppm. KEGG Homo sapiens. Distribución de grupos de respuesta (A), vías metabólicas con más metabolitos alterados significativamente(B) Modelo de distribución de metabolitos en función de su asociación grupo de no respuesta (C).

Figura 6. Análisis metabólico R vs NR a las 3 semanas de tratamiento. XT (14 X 5383). PLSA, CV:LOO Autoscaled data, LVs:1. Functional analysis m/z 10 ppm. KEGG Homo sapiens. Distribución de grupos de respuesta (A), vías metabólicas con más metabolitos alterados significativamente(B) Modelo de distribución de metabolitos en función de su asociación grupo de no respuesta (C).

Al inicio del estudio, observamos que las vías relacionadas con el metabolismo de los ácidos nucleicos (purinas y pirimidinas) presentan metabolitos alterados asociados al grupo R (p<0,01). Por otro lado, las alteraciones en los metabolitos de la vía del triptófano se asocian al grupo NR (p<0,001). A las 3 semanas, el perfil cambia y aparecen alteraciones en las vías de degradación de la lisina, fosfato de inositol y metabolismo de la tirosina y se asocian a los pacientes NR (p<0,001) (Tabla 2).

Número de metabolitos alterados	Vía metabólica	Tiempo de muestra	Grupos comparados	Dif medias NR vs R	P valor
12	Metabolismo de Purinas	Basal	NR vs R	0.7	P<0.01
7	Metabolismo de pirimidinas	Basal	NR vs R	0.7	P<0.01
11	Metabolismo de Triptófano	Basal	NR vs R	1.3	P<0.001
3	Degradación de Lisina	3W	NR vs R	1.2	P<0.001
3	Metabolismo de inositol fosfato	3W	NR vs R	1,1	P<0.001
2	Metabolismo de tirosina	3W	NR vs R	1.7	P<0.001

Tabla 2. Asociación entre los metabolitos alterados y la respuesta al tratamiento

## CONCLUSIONES:

- El tratamiento con ICIs es capaz de desencadenar la activación del sistema inmunitario en las pacientes con CMTN. Este efecto fue más evidente en las pacientes que respondieron al tratamiento.
- Las pacientes que no respondieron tienen activados mecanismos de inmunosupresión, como las MDSCs y metabolitos vinculados a la vía del triptófano.
- El grupo NR presenta alteraciones en metabolitos de las vías de degradación de triptófano, inositol fosfato, tirosina y lisina, mientras que en el grupo R las alteraciones aparecen en metabolitos asociados al metabolismo de purinas y pirimidinas (metabolismo de ácidos nucleicos).
- El estudio se encuentra activo. Ocho pacientes aún están en tratamiento y no conocemos la respuesta a la terapia. Actualmente seguimos reclutando pacientes para reforzar la importancia de estas tendencias.
- Esperamos que los cambios observados entre R y NR puedan permitir establecer un mecanismo de inmunosupresión en CMTN, así como patrones personalizados que predigan la efectividad de la terapia con ICIs en CMTN y ayudar en la toma de decisiones clínicas.

