

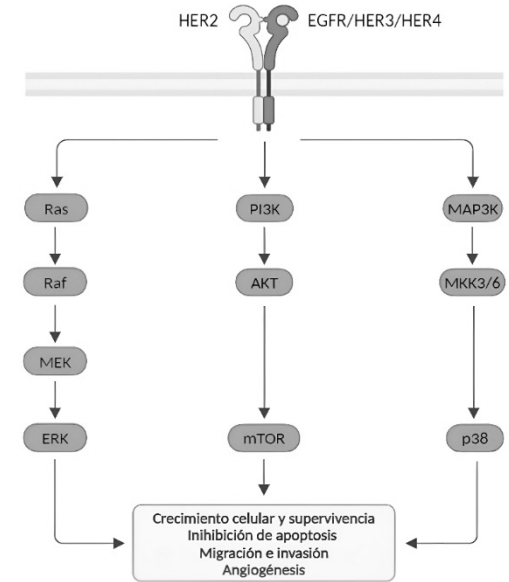
Papel de la proteína MDK en la respuesta a terapias dirigidas contra HER2 en cáncer de mama HER2 positivo

ANATOMÍA PATOLÓGICA

MARTA SANZ ÁLVAREZ

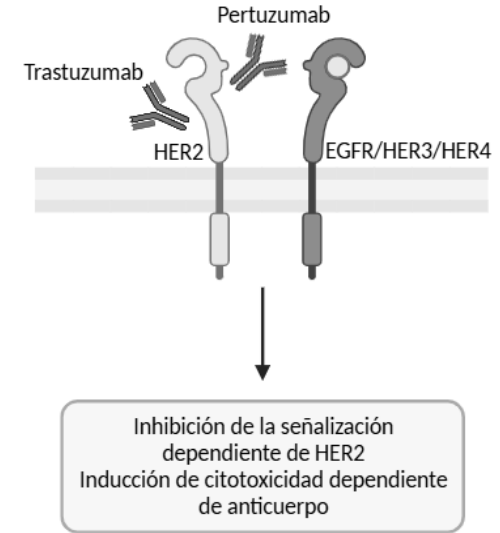
marta.sanza@iis-fjd.es

- Cáncer de mama
- Subtipo **HER2+**: 15-20 % de los casos
- **Sobreexpresión y/o amplificación** del receptor HER2
- **Peor pronóstico y mayor riesgo de recurrencia**



Vías de señalización mediadas por HER2
Creado con BioRender.com

- Terapias dirigidas: **trastuzumab y pertuzumab**
- Mejor **supervivencia libre de enfermedad y supervivencia global**
- **40-60 %** pacientes **no** alcanzan **pCR** → ↑ **Riesgo de recaída**
- **Necesidad de identificar nuevos biomarcadores**



Inhibición del receptor HER2 mediante
trastuzumab y pertuzumab
Creado con BioRender.com

Hipótesis

La hipótesis propuesta sostiene que, en pacientes con cáncer de mama precoz HER2+ tratadas con terapias anti-HER2, la **identificación de mecanismos** relacionados con la falta de respuesta al tratamiento y de **marcadores que faciliten una selección más precisa de las pacientes**, así como el **diseño de nuevas estrategias terapéuticas** sobre esos factores de resistencia, permitirían **aumentar la tasa de respuesta patológica completa, y reducir el riesgo de recaída**.

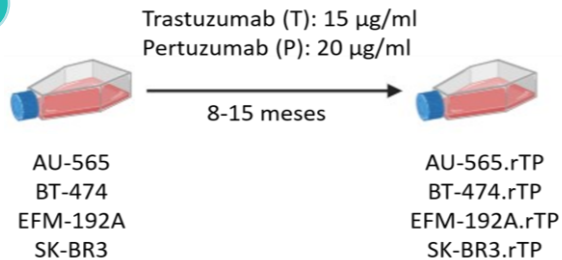
Objetivos globales

1. **Describir los mecanismos** asociados a la **resistencia al tratamiento con trastuzumab y pertuzumab** en modelos celulares de cáncer de mama HER2+.
2. **Modular los factores implicados en la resistencia** a trastuzumab y pertuzumab y **aumentar la eficacia de las terapias anti-HER2**, definiendo nuevas estrategias terapéuticas que permitan revertir dicha resistencia.

ÁREA: CÁNCER

Materiales y métodos

1



Proliferación celular

Ensayo de formación de colonias

Fenotipo molecular: HR y HER2 mediante IHQ

Western blot

2

LC/MS-MS

Análisis bioinformático

BT-474 vs BT-474.rTP

SK-BR3 vs SK-BR3.rTP

Proteínas candidatas

3

Modelo celular con
resistencia adquirida a TP



BT-474.rTP

siMDK

iMDK

Modelo celular
sensible a TP



BT-474
EFM-192A

MDKr

Proliferación celular

Western blot

Receptor $\alpha 6 \beta 1$ \rightarrow *sia6b1*

4



Cohorte
n=87

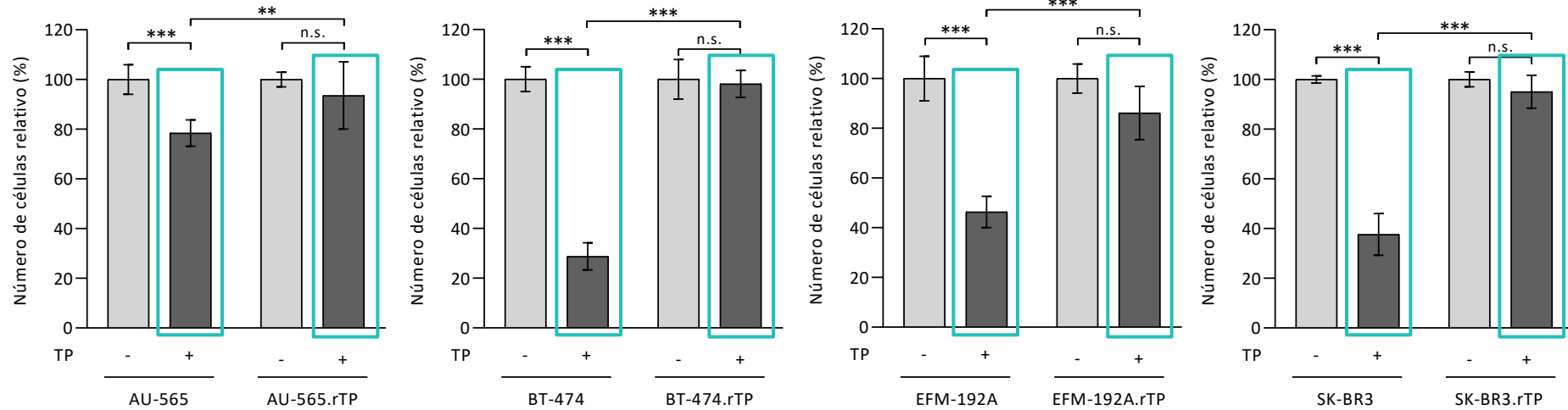


MDK
p-AKT (Ser473)

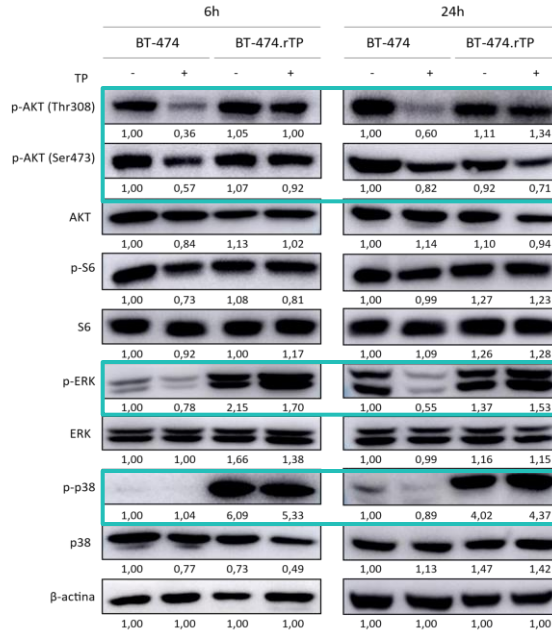
IHQ

¿Biomarcador clínico?

Desarrollo de modelos celulares de cáncer de mama HER2+ con resistencia adquirida a la terapia TP



La resistencia a TP provoca cambios en el patrón de fosforilación de las vías de señalización de AKT y MAPK en líneas celulares HER2+



Resultados

El análisis de la abundancia diferencial de proteínas en líneas celulares sensibles y resistentes a la terapia TP revela cambios en su perfil de expresión

BT-474.rTP vs BT-474

- 4553 proteínas identificadas
- 4459 proteínas cuantificadas
- 657 proteínas p -valor $< 0,05$



47 proteínas



29 proteínas



q -valor $< 0,05$

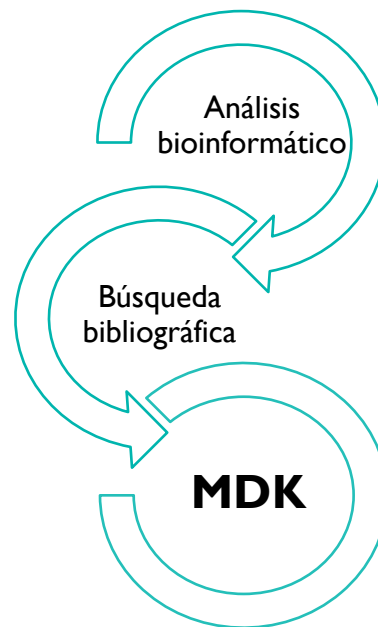
Mascot > 60

LogFC $\begin{cases} \geq 1,2 \\ \leq -1,2 \end{cases}$

Resultados

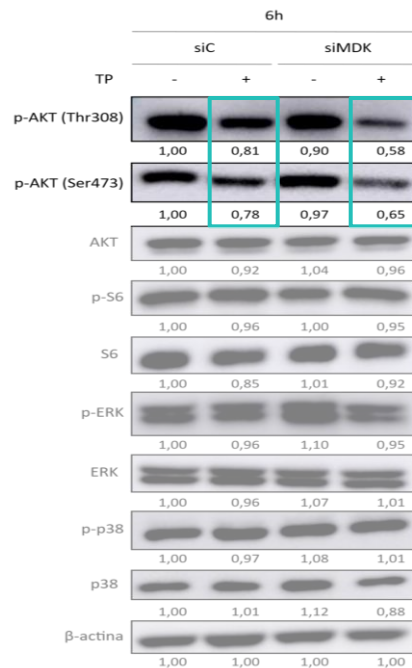
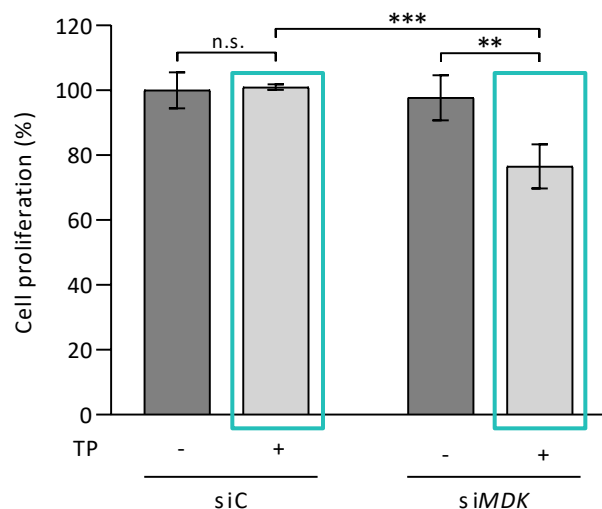
El análisis de la abundancia diferencial de proteínas en líneas celulares sensibles y resistentes a la terapia TP revela cambios en su perfil de expresión

Protein ID	Gene name	Protein name	LogFC
P21266	GSTM3	Glutathione S-transferase Mu 3	3,97
Q86TG7	PEG10	Retrotransposon-derived protein PEG10	3,29
Q13938	CAPS	Calciyphosin	2,28
Q9UD71	PPP1R1B	Protein phosphatase 1 regulatory subunit 1B	2,21
P62491	RAB11A	Ras-related protein Rab-11A	2,14
P00533	EGFR	Epidermal growth factor receptor	2,04
Q9ULZ3	PYCARD	Apoptosis-associated speck-like protein containing a CARD	1,96
P55011	SLC12A2	Solute Carrier family 12 member	1,76
Q9P0M6	MACROH2A2	Core histone macro-H2A.2	1,70
P13861	PRKAR2A	cAMP-dependent protein kinase type II-Alpha regulatory subunit	1,69
Q8TD06	AGR3	Anterior gradient protein 3	1,61
P31483	TIA1	Nucleolysin TIA-1 isoform p40	1,60
Q14651	PLS1	Plastin-1	1,56
Q6W4X9	MUC6	Mucin-6	1,55
P42765	ACAA2	3-ketoacyl-CoA thiolase	1,43
Q99598	TSNAX	Translin-associated protein X	1,40
P21741	MDK	Midkine	1,38
O95994	AGR2	Anterior gradient protein 2	1,27
Q14573	ITPR3	Inositol 1,4,5-triphosphate receptor type 3	1,26
Q13268	DHRS2	Dehydrogenase/reductase SDR family member 2	1,24

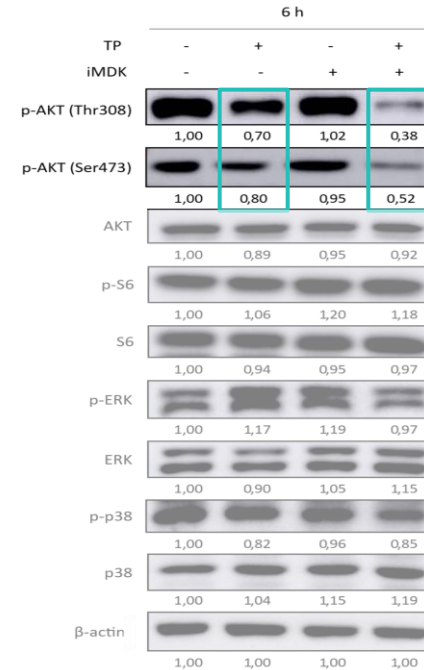
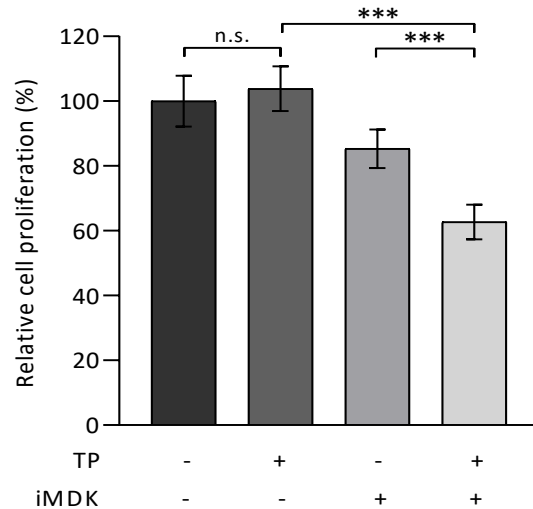


Resultados

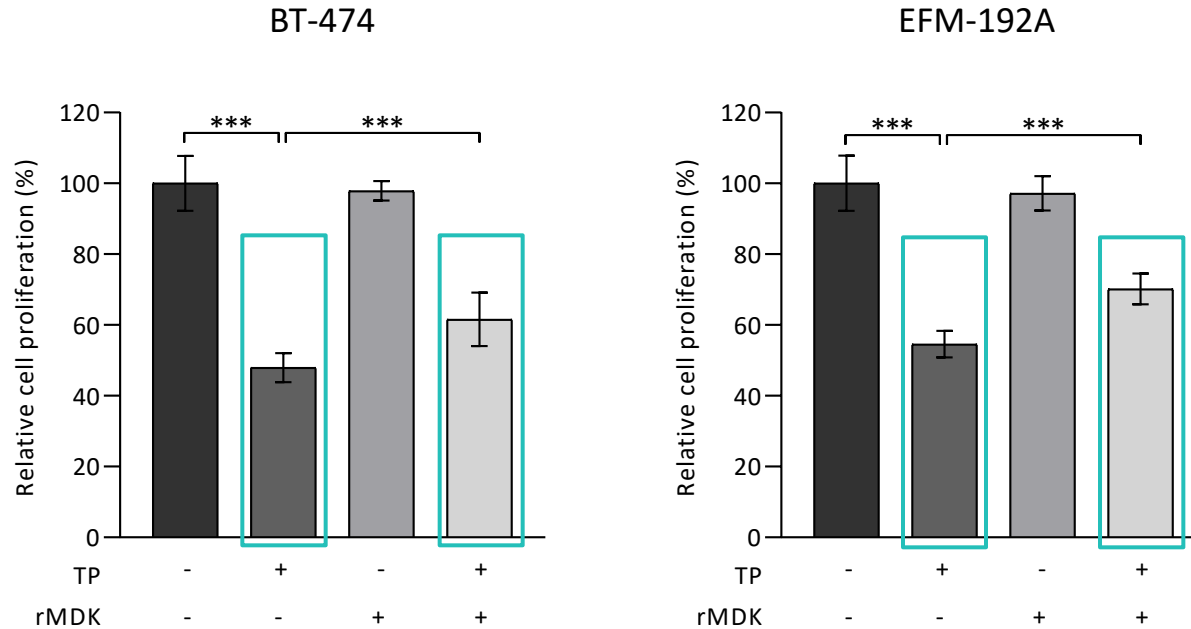
El silenciamiento génico de MDK revierte parcialmente la resistencia a TP en la línea resistente BT-474.rTP, reduciendo la fosforilación de AKT



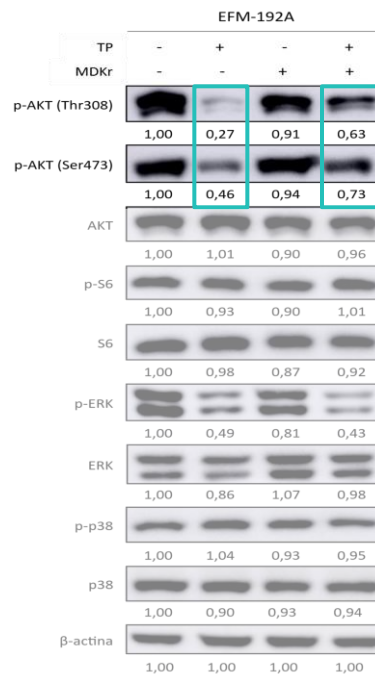
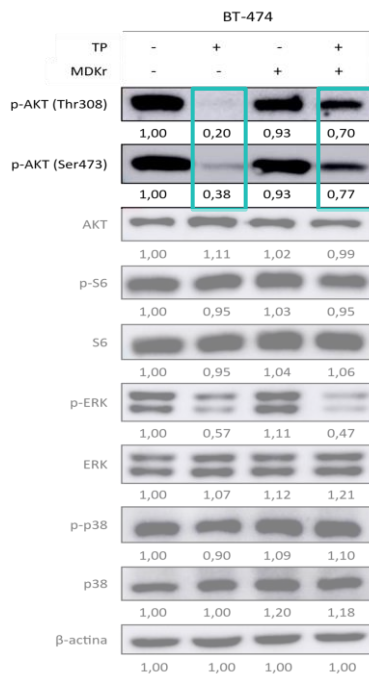
El tratamiento con iMDK revierte parcialmente la resistencia a la terapia TP en la línea BT-474.rTP, reduciendo la activación de AKT



La adición exógena de MDK incrementa la proliferación de líneas celulares de cáncer de mama HER2+ tratadas con TP

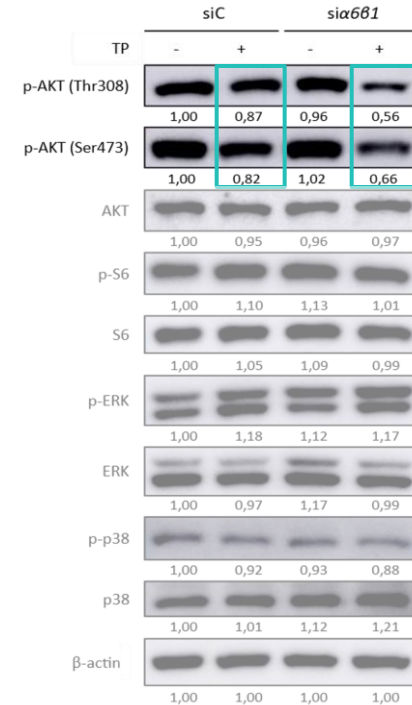
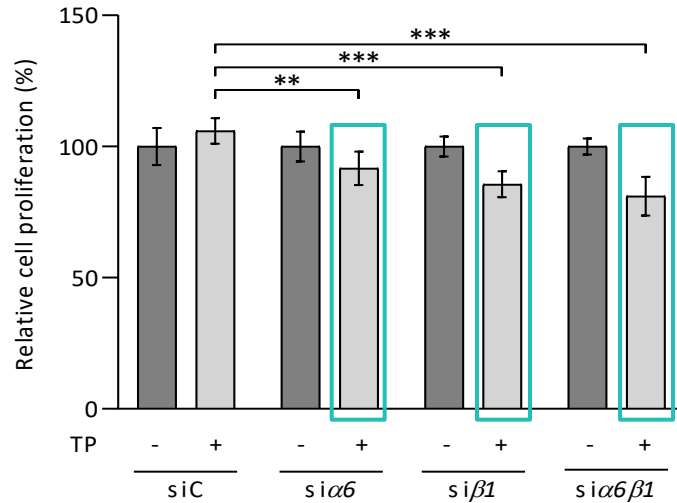


La adición exógena de MDK aumenta la fosforilación de AKT en líneas tumorales HER2+ en presencia de la terapia TP

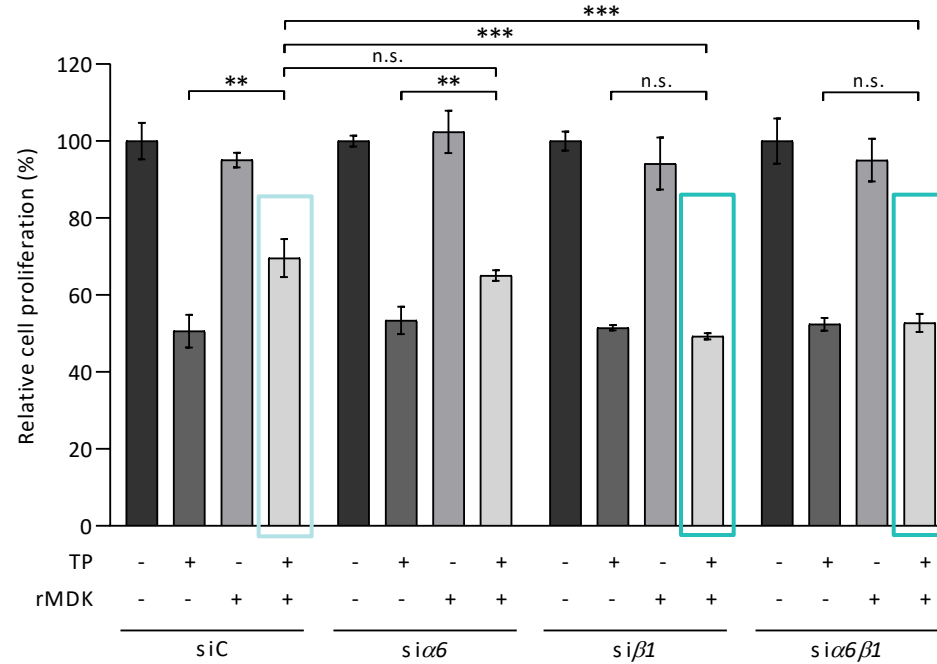


Resultados

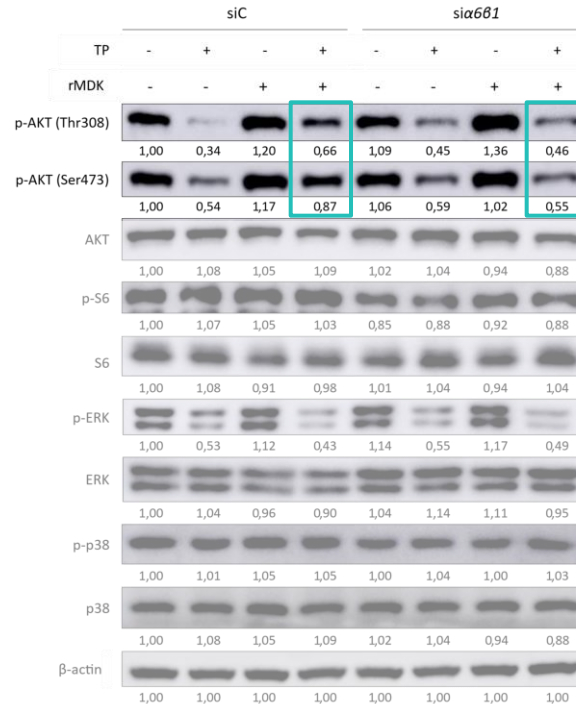
El silenciamiento génico de la integrina $\alpha 6 \beta 1$ revierte parcialmente la resistencia a TP en la línea resistente BT-474.rTP, reduciendo la fosforilación de AKT



El silenciamiento génico de la integrina $\alpha 6\beta 1$ revierte la resistencia a TP inducida por MDK en la línea EFM-192A



El silenciamiento génico de la integrina $\alpha 6 \beta 1$ reduce la fosforilación de AKT en modelos de resistencia a TP inducida por MDK

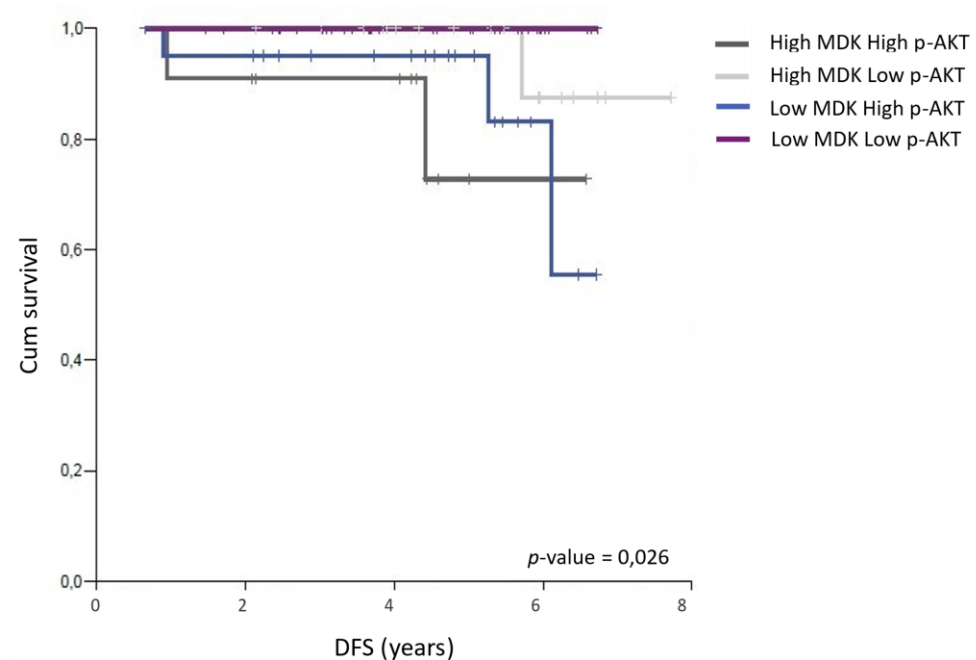


Resultados

La sobreexpresión de MDK correlaciona con la presencia de enfermedad residual tras el tratamiento neoadyuvante en tumores de mama precoz HER2+

	Baja expresión MDK (n=57; 65,5 %)		Alta expresión MDK (n = 30; 34,5 %)		χ^2 p
	No. de casos	%	No. de casos	%	
Respuesta tumoral					
G1-G3	6	10,5	9	30,0	0,006
G4	9	15,8	12	40,0	
G5	42	73,7	9	30,0	
Respuesta axilar					
Tumor ausente (A, D)	50	87,7	18	60,0	0,010
Tumor presente (B, C)	7	12,3	12	40,0	
Tumor residual					
Ausente	40	70,2	6	20,0	< 0,0001
Presente	17	29,8	24	80,0	

La coexpresión de MDK y p-AKT correlaciona con la supervivencia libre de enfermedad en tumores de mama precoz HER2+



COLABORACIÓN

Oferta:

- Experiencia en cultivos celulares de cáncer de mama y otros tipos tumorales
- Desarrollo y caracterización de modelos celulares resistentes y modelos de cocultivo 2D, 3D.
- Acceso a muestras de pacientes (Solicitud a través de Biobanco)
- Realización de técnicas sobre tejido, RNA,... (Cartera de servicios de Biobanco)

Demanda:

- Manejo y cultivo de poblaciones celulares del sistema inmune
- Determinación de marcadores mediante citometría de flujo
- Integración de datos ómicos

Papel de la proteína MDK en la respuesta a terapias dirigidas contra HER2 en cáncer de mama HER2 positivo

ANATOMÍA PATOLÓGICA

MARTA SANZ ÁLVAREZ

marta.sanza@iis-fjd.es