

Laboratorio de Oncología Molecular

Paciente:	TELLO LUCAS, MATEO SALVADOR
NHC HSJD:	1847259
Diagnóstico:	Rabdomiosarcoma embrionario
Centro de origen:	Hospital Sant Joan de Déu
Análisis solicitado:	Panel de inmunohistoquímica - Dianas Terapéuticas
Material analizado:	Tejido tumoral congelado, B21-2520
	Bloque parafina tejido tumoral, B21-2520
Facultativo solicitante:	Dra. Moira Garraus

Descripción y motivo de consulta:

Mateo Salvador es un paciente procedente de Perú de 2 años y 8 meses de edad. En septiembre de 2020 se reporta en su centro de origen el diagnóstico inicial de rabdomiosarcoma embrionario de escápula derecha. Recibe una primera línea de tratamiento según protocolo ARST0531, omitiéndose la radioterapia por la edad del paciente. En la evaluación en la semana 25 de tratamiento se objetiva progresión local y metastásica de la enfermedad. Ante esta situación, recibe un ciclo de rescate (IVADo) y se traslada a nuestro centro, Hospital Sant Joan de Déu, en junio de 2021 para segunda opinión y tratamiento. Se realiza PET TAC que confirma la presencia de enfermedad localmente avanzada y metastásica y se presenta el caso en comité de tumores, donde se propone una nueva biopsia de la lesión escapular (nº ref HSJD B21-2520) para confirmación diagnóstica, estudios histológicos y moleculares y búsqueda de dianas terapéuticas que le aporten beneficio clínico.

Las muestras analizadas, tejido tumoral congelado y bloque de parafina con tejido tumoral fijado, han sido revisadas por el departamento de anatomía patológica de nuestro centro. Se confirma que son representativas de la lesión tumoral con contenido de célula tumoral viable superior al 60% (Dra. Carlota Rovira).

Durante su estancia en nuestro centro, y tras objetivar progresión clínica tras recuperación hematológica de ciclo de quimioterapia administrado en su hospital de origen, el 17/5/2021 se administra un segundo ciclo de quimioterapia IVADo (RMS2005 metastásico). Recibe tratamiento de soporte con estimulador de colonias de granulocitos. El día 3/7/2021, Mateo es traído a urgencias por fiebre detectándose PCR positiva para coronavirus. Inicialmente es ingresado en el Hospital Salud, pero evoluciona hacia neutropenia febril por lo que debe ingresar de nuevo en el Hospital para tratamiento de soporte. Ante paciente colonizado por E.Coli BLEA inicia tratamiento antibiótico con meropenem, que se desescaliza a vancomicina y posteriormente se suspende. En el hemocultivo crece un S. Hominis. Tras recuperación hematológica y encontrándose afebril y asintomático, Mateo es dado de alta.

Resumen de los resultados moleculares

PCR cuantitativa	Alteración Molecular	Variante analizada	Resultado
	PAX3- FOXO1	Exón 7 – Exón 2	Negativo
	PAX7- FOXO1	Exón 7 – Exón 2	Negativo
B21-2520	Marcador / Tinción	Vía de señalización molecular	Candidatos terapéuticos
	+ SPARC (90%)	Receptor de albúmina	Inhibidor específico
	+ pERK (70%)	MAPK / ERK	Inhibidores MEK
	+ pS6 (70%)	AKT / mTOR	Inhibidores PI3K/AKT/mTOR
	+ B7H3 (70%)	Respuesta inmunológica	Inhibidor específico
	+ P53 (20%)	Ciclo celular, apoptosis, senescencia, reparación DNA, metabolismo	NA

1. Análisis de marcadores moleculares de interés diagnóstico

PCR cuantitativa

Dada la orientación diagnóstica del tumor del paciente, se procede con el análisis de la expresión de los genes de fusión *PAX3-FOXO1* y *PAX7-FOXO1* mediante PCR cuantitativa.

- En el RNA aislado de la muestra tumoral B21-2520, No se identifica expresión de las fusiones *PAX3-FOXO1* y *PAX7-FOXO1*. Se detecta y amplifica correctamente el gen control.

2. Estudio de dianas terapéuticas

Vías moleculares con potencial terapéutico

Dado el contexto clínico y molecular del paciente, se procede con el estudio de vías moleculares asociadas a la biología del tumor mediante un panel de inmunohistoquímica (IHQ). Se han estudiado un total de diez biomarcadores con potencial terapéutico. Dicho panel incluye tanto proteínas que definen vías moleculares que pueden ser abordadas con inhibidores farmacológicos específicos (MAPK/ERK, PI3K/AKT, entre otros), como marcadores de proteínas inmunoreguladoras que pueden ser de interés en el contexto de la inmunoterapia. El panel de inmunohistoquímica incluye el análisis de la proteína p53.

Los resultados obtenidos muestran positividad nuclear intensa del marcador pERK en el 70% de la muestra tumoral sugiriendo activación de la vía de señalización MAPK/ERK. En porcentaje similar, se observa expresión moderada del marcador pS6 en la membrana de las células tumorales sugiriendo activación de la vía de señalización AKT/mTOR.

Conjuntamente, se observa positividad intensa del receptor de unión a la albúmina SPARC en el 90% de la muestra tumoral. Cabe resaltar la ausencia de expresión del marcador de regulación de apoptosis Bcl-2 en la totalidad de la muestra tumoral.

Finalmente, destacamos la positividad de expresión del marcador de control de la respuesta inmunológica B7H3 en el 70% de las células tumorales y la ausencia de expresión del marcador PD-L1.

Se observa positividad nuclear moderada de p53 en el 20% de la muestra tumoral.

Recomendaciones Terapéuticas

Tras la realización de estudio de oncología de precisión, y ante la evolución desfavorable de la enfermedad de Mateo, se propone cambiar de esquema de tratamiento a:

- Gemcitabina/abraxane: la positividad intensa para SPARC y la negatividad para Bcl-2 sugiere la posible sensibilidad a abraxane, ya sea en monoterapia o en combinación con otros fármacos como gemcitabina.
- Ciclofosfamida/vinorelbina/temsirolimus: Ante la activación de la vía de señalización AKT/mTOR, el tratamiento con temsirolimus, asociado a ciclofosfamida/vinorelbina, podría ofrecer buenos resultados controlando la progresión de la enfermedad.
- Vincristina/irinotecan/temozolamida: La combinación VIT podría ofrecerse también al tratarse una de las primeras líneas de rescate en rabdomiosarcoma.
- En cualquiera de los casos anteriores, sugeriríamos valorar la posibilidad de añadir un tratamiento local con radioterapia, tratando de evitar cirugías con elevada morbilidad y mutilaciones.

Observaciones

Este informe es confidencial y solo se entregará al propio paciente por un facultativo especializado cualificado para su interpretación. Los resultados generados mediante este estudio no deben remplazar en ningún caso los criterios médicos ni el consejo diagnóstico o tratamiento médico de un

Le informamos que el Hospital Sant Joan de Déu es el responsable del correcto tratamiento de los datos de los que dispone. El Hospital los trata para la prestación médica-sanitaria, para recordar programaciones de citas y para la mejora de la calidad de los servicios prestados. Para otros motivos, el Hospital le pedirá su consentimiento. Si desea más información o ejercer los derechos de acceso, rectificación o supresión, como otros derechos reconocidos, puede hacerlo a través de la página www.sjdhospitalbarcelona.org/es/datos-personales en donde encontrará información adicional y detallada, o dpd@sjdhospitalbarcelona.org

profesional especializado. Los resultados han de ser interpretados por profesionales especialistas y valorados en el contexto clínico y radiológico del paciente. Los resultados descritos en este informe se refieren exclusivamente a las muestras estudiadas.

FECHA Y FIRMA

Barcelona, 23 de Julio 2021

Cinzia Lavarino
Laboratorio de Oncología Molecular
Hospital Sant Joan de Déu
T. +34 932532100, x2823
clavarino@sjdhospitalbarcelona.org

Nagore Gené Olaciregui
Laboratorio de Oncología Molecular
Hospital Sant Joan de Déu
T. +34 932532100, x4398
nogene@fsjd.org

Carlota Rovira
Laboratorio de Anatomía Patológica
Hospital Sant Joan de Déu
T. +34 932532145
msunol@sjdhospitalbarcelona.org

Moira Garraus Oneca
Área de Oncología
Hospital Sant Joan de Déu
T. +34 93 280 40 00
acastanedah@sjdhospitalbarcelona.org

Vicente Santa-María López
Área de Oncología
Unidad de Neuro-Oncología Pediátrica
Hospital Sant Joan de Déu
T. +34 93 280 40 00
vsantamaria@sjdhospitalbarcelona.org

Metodología:

Extracción de ácidos nucleicos:

La extracción de RNA tumoral se realiza mediante la utilización del reactivo comercial TriReagent de Sigma-Aldrich de acuerdo con las indicaciones recogidas en el manual de uso del reactivo.

PCR cuantitativa en tiempo real:

Le informamos que el Hospital Sant Joan de Déu es el responsable del correcto tratamiento de los datos de los que dispone. El Hospital los trata para la prestación médica-sanitaria, para recordar programaciones de citas y para la mejora de la calidad de los servicios prestados. Para otros motivos, el Hospital le pedirá su consentimiento. Si desea más información o ejercer los derechos de acceso, rectificación o supresión, como otros derechos reconocidos, puede hacerlo a través de la página www.sjdhospitalbarcelona.org/es/datos-personales en donde encontrará información adicional y detallada, o dpd@sjdhospitalbarcelona.org

La reacción de retrotranscripción se realiza mediante la utilización de la transcriptasa inversa M-MLV y Random Hexamers. Las PCR se realizan en un equipo QuantStudio 6 (Applied Biosystems) con controles positivos (líneas celulares o tumores ya diagnosticados) y controles negativos (non-template controls). Todas las muestras se amplifican con los cebadores del gen control (TBP) y para los genes de fusión a analizar.

Inmunohistoquímica:

Los estudios de inmunohistoquímica se han realizado mediante el sistema de preparación de muestras automático Autostainer Link 48 de Dako de acuerdo con las indicaciones recogidas en el manual de uso.

Los anticuerpos analizados se recogen a continuación: Bcl2 (D55G8; Cell Signaling), Phospho-p44/42 MAPK (Erk1/2; Cell Signaling), Mono RxH Akt pS473 (Agilent), Phospho-S6 Ribosomal Protein (Ser240/244) (D68F8; Cell Signaling), EGFR (phospho Y1068; Abcam), CDK4 (D9G3E; Cell Signaling), PD-L1 22C3 (Agilent) y B7H3 (D9M2L; Cell Signaling).

Gestión de la Calidad:

El Hospital Sant Joan de Déu dispone de un Sistema de Gestión de la Calidad conforme con la norma UNE-EN ISO 9001:2015, certificado por AENOR. El Laboratorio de Oncología Molecular cumple los estándares de calidad ISO 9001:2015 y participa en programas externos de control de calidad de la agencia *European Molecular Genetics Quality Network* (EMQN). El Laboratorio de Oncología Molecular ha participado en un programa interlaboratorio de control de calidad a nivel europeo para la generación y análisis de datos de metilación del DNA, obteniendo la certificación de "1st Level Molecular Diagnostics Facility (HUB)" en el contexto del ensayo clínico "*LOGGIC Core BioClinical Data Bank*", certificado por el *German Cancer Research Center (DKFZ)* y *Hopp Children's Cancer Center de Heidelberg*.