



UNIVERSITAT
ROVIRA I VIRGILI

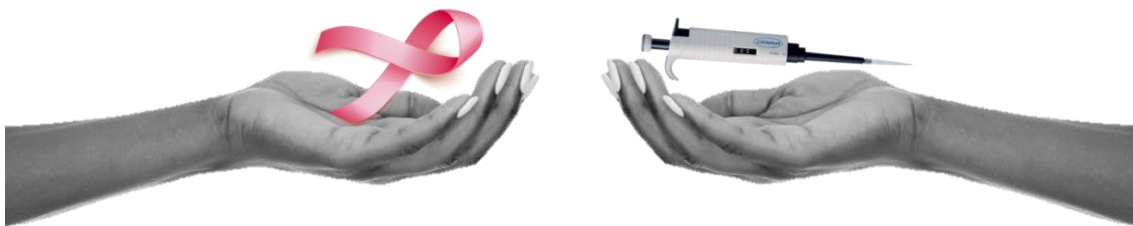


Hospital Universitari
Sant Joan
REUS

ESTUDI D'ANXA1 I PGE2 EN EL TRACTAMENT DEL CÀNCER DE MAMA

CATALINA PRATS LLUÍS

TREBALL FINAL DE GRAU DE BIOTECNOLOGIA



Tutor acadèmic: Pere Puigbò Avalos, Doctor per la Universitat Rovira i Virgili i
Docent en Biologia Computacional per la Universitat de Turku (Finlàndia),
Departament de Bioquímica i Biotecnologia, pedro.puigbo@urv.cat

En cooperació amb: Hospital Universitari Sant Joan de Reus

Supervisor/s: Meritxell Arenas Prat, cap del Servei d'Oncologia Radioteràpica de
l'Hospital Universitari Sant Joan de Reus, meritxell.arenas@urv.cat. Andrea Jiménez
Franco, Doctoranda a URB, andrea.jimenez@alumni.urv.cat

Juny 2023





Jo, Catalina Prats Lluís, amb DNI 47477633K, soc coneixedora de la guia de prevenció del plagi a la URV Prevenció, detecció i tractament del plagi en la docència: guia per a estudiants (aprovada el juliol 2017)

(<http://www.urv.cat/ca/vida-campus/serveis/crai/que-us-oferim/formacio-competencies-nuclears/plagi/>) i afirmo que aquest TFG no constitueixen cap de les conductes considerades com a plagi per la URV.

Tarragona, 7 de Juny de 2023



Algun dia, després de lluitar molt, et donaràs compte que no ets una supervivent més, ets una guerrera. Et donaràs compte que pots treure les forces d'allí on no n'hi ha. Et donaràs compte que la gent que t'envolta t'ha fet gran i forta. Et donaràs compte que tot i les dificultats, mai et vas rendir.

Es necessita més INVESTIGACIÓ per més VIDA.

El projecte s'ha realitzat durant l'estada de pràctiques curriculars a la Unitat de Recerca Biomèdica (URB) de Reus i a l'Hospital Universitari Sant Joan de Reus, al servei d'Oncologia Radioteràpica des de Juny fins Desembre del 2022.



ÍNDEX

Agraïments	6
Abreviacions	7
1. Introducció	10
1.1. El càncer de mama	10
1.2. Factors de risc	12
1.3. Tipus de càncer de mama	12
1.3.1. Classificació morfològica	12
1.3.2. Classificació en subtipus moleculars	13
1.4. Sistema de classificació TNM	15
1.5. Tractaments	16
1.6. ANXA1	18
1.7. PGE2	21
2. Hipòtesi de treball i objectius	23
3. Material i mètodes	24
4. Resultats	26
4.1. Característiques clíniques de les pacients	26
4.2. ANXA1 disminueix en pacients amb CM	27
4.3. PGE2 incrementa en pacients amb CM	30
5. Discussió	34
6. Conclusions	36
7. Bibliografia	37
8. Fitxes de seguiment del tutor	44
9. Autoavaluació	45



AGRAÏMENTS

Voldria agrair tot el recolzament i dedicació a tot el personal del servei d'Oncologia Radioteràpica, concretament a la Dra. Meritxell Arenas, la meva tutora professional, doctora en Medicina i especialista responsable del càncer de mama en l'Hospital Universitari Sant Joan de Reus. Gràcies per guiar-me i ensenyar-me tots els coneixements que poguessin ser profitosos per a mi i el meu futur. Agraeixo que mostris la teva dedicació i passió pel treball diari que fas.

Al meu tutor acadèmic Pere Puigbò, per ser una gran guia per a mi durant aquest procés. Gràcies per la teva ajuda, paciència i motivació. Agraeixo els coneixements que m'has transmès i el teu suport.

A la doctoranda Andrea Jiménez, del grup d'Investigació en Oncologia Radioteràpica, URB. Gràcies per fer-me veure que un laboratori no només són materials i productes, sinó un món ple de coneixements encara per descobrir. A Elisabet Rodríguez i Helena Castañé, per ajudar-me a enfocar l'objectiu d'aquest treball de final de grau i donar-me un cop de mà sempre que ho necessités.

I finalment a la meva família, per haver-me recolzat durant tot el procés, haver-me donat les forces que necessitava per tirar-ho endavant i haver-me ajudat fins al final.

Gràcies a tothom per haver-me donat aquesta oportunitat i haver confiat en mi.



ABREVIACIONS

A

ANXA1: anexina A1

C

COX-1: ciclooxigenasa 1

COX-2: ciclooxigenasa 2

CM: càncer de mama

D

DAMP: patrons moleculars associats al dany

E

ER: receptor d'estrogen

F

FPR2: receptor 2 pèptid N-Formil

H

HER2: receptor 2 del factor de creixement epidèrmic humà

I

IFN- γ : interferó gamma

K

Ki67: índex de proliferació

M

MDSC: cèl·lules supressores derivades de mieloides

P

PGE2: prostaglandina E2

PR: receptor de progesterona

R

RTA: radioteràpia adjuvant

T

TN: triple negatiu

TNF α : factor de necrosi tumoral



ABSTRACT

Introducció i objectius: El càncer de mama (CM) és un dels càncers més diagnosticat entre les dones. És d'alta importància trobar biomarcadors de diagnòstic i de pronòstic per poder determinar el comportament de la malaltia enfront als tractaments que rep la pacient.

Amb aquest estudi busquem: 1) Determinar la relació entre ANXA1 i PGE2 en pacients amb càncer de mama 2) Estudiar la concentració de les dos proteïnes després dels tractaments 3) Comprovar si hi ha relació entre subgrups moleculars, tenint en compte les concentracions de les dos proteïnes en estudi.

Metodologia: S'ha determinat la concentració de PGE2 i ANXA1 en 42 pacients amb CM de l'Hospital Universitari Sant Joan de Reus. Per veure les variacions en la concentració de les proteïnes hem analitzat un grup control de 50 dones sense evidència carcinogènica. Es van realitzar anàlisis ELISA per tal de quantificar les proteïnes d'interès (ANXA1 i PGE2).

Resultats: Hem pogut identificar un comportament contrari general entre ANXA1 i PGE2. Les pacients amb CM tenen baixos nivells d'ANXA1 en el moment del diagnòstic i en la post-cirurgia. En quant a PGE2, presenten alts nivells de la proteïna en post-RTA. La població que ha expressat concentració per a les dues proteïnes és majoritàriament luminal B, amb un grau histològic 2 i amb carcinoma ductal. ANXA1 podria ser un bon biomarcador de diagnòstic.

Conclusió: S'ha observat una disminució d'ANXA1 en els pacients amb CM en comparació amb el grup control. En canvi, s'ha vist un augment de PGE2 en pacients amb CM. ANXA1 és un bon biomarcador de pronòstic per la patologia. Quan es presenten valors disminuïts d'ANXA1, aquesta no suprimeix PLA2 i per tant no es bloqueja la producció d'eicosanoides, produint així un augment de la concentració de PGE2.

Paraules clau: ELISA, microambient tumoral, tumor, tractaments, proteïnes, subgrups moleculars.



ABSTRACT

Introduction and objectives: Breast cancer (BC) is one of the most commonly diagnosed cancers in women. It's of great importance to find diagnostic and prognostic biomarkers in order to determine the behavior of the disease in relation to the treatments received by the patients.

In the present study the objectives are 1) To determine the relationship between ANXA1 and PGE2 in patients with breast cancer 2) To study the concentration of the two proteins after the treatments 3) To check whether there is a relationship between molecular subgroups, taking into account the concentrations of the two proteins under study.

Methodology: PGE2 and ANXA1 concentration has been determined in 42 patients with BC at the Hospital Universitari Sant Joan de Reus. To determine the variations in protein concentrations we analyzed a control group of 50 women with no evidence of carcinogenesis. ELISA analyses were performed to quantify the proteins of interest (ANXA1 and PGE2).

Results: We identify a general opposite behaviour between ANXA1 and PGE2. BC patients have low significant levels of ANXA1 at the time of diagnosis and post-surgery. As for PGE2, they have significant levels of the protein in post-RTA. The population that has expressed concentrations of both proteins is mostly luminal B, with a histological grade 2 and ductal carcinoma. ANXA1 could be a good diagnostic biomarker.

Conclusions: A decrease in ANXA1 was observed in patients with BC compared to the control group. In contrast, an increase in PGE2 has been observed in patients with BC. ANXA1 is a good prognostic biomarker for the disease. When decreased ANXA1 values are present, it does not suppress PLA2 and therefore does not block the production of eicosanoids, leading to an increase in PGE2 concentration.

Keywords: ELISA, tumor microenvironment, tumor, treatments, proteins, molecular subgroups.



1. INTRODUCCIÓ

1.1. EL CÀNCER DE MAMA

El càncer de mama (CM) és el càncer més prevalent en dones post-menopàusiques que viuen en països d'Europa i Nord Amèrica, les taxes d'incidència varien molt entre regions. Europa occidental i Estats Units té les taxes més altes, les més baixes es troben a l'Àfrica i Àsia.

A Espanya es van diagnosticar 34.722 nous casos de CM durant el 2022, segons les xifres de l'Observatori de l'Associació Espanyola Contra el Càncer (AECC). Afecta sobretot a dones d'edat avançada. La majoria d'afectades tenen 50 anys en el moment del diagnòstic. Aquesta malaltia suposa un 6,6% de les morts a escala mundial entre ambdós sexes [Epdata 2023].

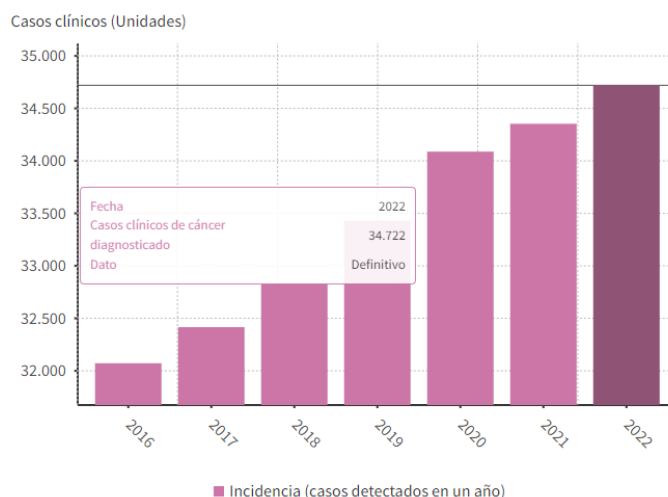


Figura 1. Evolució dels casos de càncer de mama cada any a Espanya
Font: Epdata

El càncer estimula l'increment en la proliferació cel·lular de manera anòmla [SEOM 2023].

La majoria d'aquests tumors són benignes i no cancerosos, és a dir, no es propaguen a altres regions. En canvi, els tumors malignes són cancerosos i poden disseminar-se a altres parts de l'organisme [cancer.org 2019], mitjançant la circulació, el sistema limfàtic o teixits propers. En el cas del sistema limfàtic, trobaríem afectacions en els ganglis.



La majoria dels vasos limfàtics de la mama drenen a ganglis limfàtics axil·lars, ganglis limfàtics mamaris interns, ganglis limfàtics supraclaviculars i infraclaviculars.

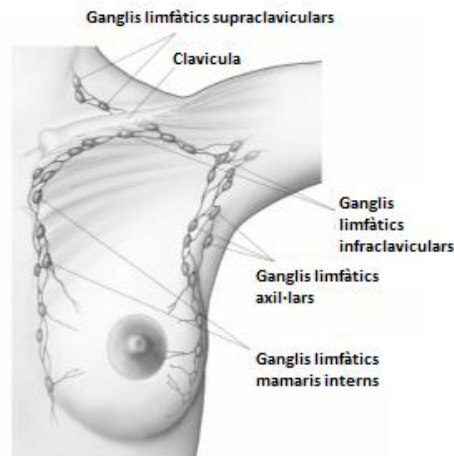


Figura 2. Ganglis limfàtics propers al pit
Font: Metrixlab

Si les cèl·lules canceroses s'han estès als ganglis limfàtics hi ha major possibilitat de metàstasi. Tot i això, no totes les dones amb cèl·lules canceroses als ganglis limfàtics la pateixen. Algunes dones sense cèl·lules canceroses als ganglis poden desenvolupar-la.

Si es dissemina a través de la sang pot arribar a altres òrgans i teixits del cos.

Les metàstasis més freqüents en CM són la òssia, la hepàtica i la pulmonar [breastcancer.org 2022].



1.2. FACTORS DE RISC

Un factor de risc en el càncer és qualsevol circumstància que augmenta les possibilitats d'una persona a desenvolupar la malaltia. Tot i que els factors de risc influeixen en el desenvolupament d'aquest, la majoria no el causen directament.

Els factors de risc que augmenten la possibilitat de patir càncer de mama són els següents [Loibl, S. et al. 2021, Kashyap, D. et al. 2022]:

- Ser dona i amb un edat avançada
- Antecedents familiars
- Exposició a la radiació
- Factors hormonals
- Alteracions genètiques
- Densitat de la mama: normalment els tumors són desenvolupats en teixit dens de pit, no en teixit gras.
- Dieta i estil de vida
- Obesitat
- Començar a menstruar aviat o menopausa avançada

1.3. TIPUS DE CÀNCER DE MAMA

1.3.1. CLASSIFICACIÓ MORFOLÒGICA

CÀNCER DE MAMA INVASIU O INFILTRANT

El tumor s'ha estès més enllà del teixit mamari al qual es va originar. Té capacitat de disseminar-se cap als ganglis limfàtics i altres zones del cos [Akram, M. et al 2017].

- Carcinoma ductal invasiu o infiltrant: es desenvolupa a partir de cèl·lules d'origen epitelial que revesteixen els galactòfors i envaeix la grassa de la mama que rodeja el conducte [breastcancer.org 2023].
- Carcinoma lobular invasiu o infiltrant: es desenvolupa a partir de les cèl·lules d'origen epitelial, però en aquest cas en els lòbuls [Reed, A. B. et al 2021].



CÀNCER DE MAMA NO INVASIU O IN SITU

El tumor no s'ha estès més allà del teixit mamari al qual es va originar. No té capacitat per propagar-se fora de la mama, però pot convertir-se en CM invasiu i per tant, propagar-se.

- Carcinoma ductal no invasiu o in situ: es desenvolupa a partir de cèl·lules d'origen epitelial que revesteixen per dintre els conductes galactòfors, però no s'ha estès més enllà dels conductes. No és potencialment mortal, però es considera precursor del CM invasiu i augmenta el risc de patir aquesta malaltia més endavant [Badve, S. et al 2019].
- Carcinoma lobular no invasiu o in situ: es desenvolupa a partir de cèl·lules d'origen epitelial dels lòbuls, no s'ha estès més enllà d'aquests [Sokolova, A. et al 2021].

1.3.2. CLASSIFICACIÓ EN SUBTIPUS MOLECULARS

La classificació del CM en subtipus moleculars es basa en trets moleculars identificats mitjançant l'anàlisi de l'expressió gènica [Fragomeni, S. M. et al 2018]. S'analitzen els següents:

Els receptors hormonals són l'estrogen i la progesterona. La seva expressió indica bon pronòstic i bona resposta a la teràpia hormonal [Li, Z. et al 2022].

L'HER2 és el receptor 2 del factor de creixement epidèrmic humà. És una proteïna que participa en el creixement de les cèl·lules. Els tumors HER2 positiu presenten sensibilitat al tractament anti-HER2 [Scaltriti, M. et al 2021].

El Ki67 és una proteïna que es troba en el nucli de les cèl·lules quan es divideixen. Aquest determina l'índex de proliferació. Els tumors amb índexs de proliferació alts (>14%) tenen pitjor pronòstic [Hashmi, A. A. et al 2019].



LUMINAL A

Aquest subtipus presenta receptors hormonals positius d'estrógen i progesterona. Són negatius per HER2. En quant al biomarcador Ki67 ha de ser menor d'un 14% [Gao, J. J. et al 2018, Pellegrino, B. et al 2021].

Formen part del 25-50% de tots els tipus de càncers de mama i tenen un bon pronòstic. Com a tractament es solen fer teràpies hormonals per la presència de receptors hormonals.

LUMINAL B

Presenta receptors hormonals positius d'estrógen i progesterona. Formen part del 25-45% dels tumors de mama [Pellegrino, B. et al 2021, Li, Z. et al 2016].

Dintre d'aquest subtipus hi ha dos grups:

- Triple positiu: presenta HER2 positiu i qualsevol valor tant per Ki67 com per receptors de progesterona.
- Luminal B1: es caracteritza per un HER2 negatiu, Ki67 major de 14% i receptors de progesterona baixos.

Com a possibles tractaments adequats per a aquest subtipus tenim la quimioteràpia i també es poden aplicar teràpies biològiques contra HER2.

HER2+

Es caracteritza per tenir receptors hormonals negatius i HER2 positiu. El Ki67 ha de tenir un valor superior al 14% [Scaltriti, M. et al 2021].

Tenen una freqüència del 5-15% dels casos totals de càncer de mama. La quimioteràpia i les teràpies biològiques contra HER2 són molt útils per aquest subtipus.

TN (Triple Negatiu)

Aquest subtipus conté receptors hormonals negatius, és a dir, no presenta ni receptor d'estrógen ni de progesterona. També són negatius per HER2. El Ki67 és superior al 14% [Yin, L. et al 2020, Derakhshan, F. et al 2022]. Aquest subtipus forma part d'un 10-20% del total de càncers de mama. Per tractar-lo s'aconsella la quimioteràpia.



Taula 1. Resum de la classificació en subtipus moleculars de càncer de mama

Subtipus Moleculars	RE	RP	HER2	Ki67
Luminal A	+	+	-	< 14 %
Luminal B				
Triple Positiu	+	+/-	+	Qualsevol
Luminal B1	+	+/-	-	> 14%
Her2+	-	-	+	> 14%
TN	-	-	-	> 14%

RE: receptor d'estrogen; RP: receptor de progesterona

1.4. SISTEMA DE CLASSIFICACIÓ TNM (Tumor, Nòduls, Metàstasi)

L'eina més comuna que utilitzen els metges per estratificar el CM és el sistema TNM, implementat per descriure els canvis en el tumor (tamany), nòduls i metàstasi. S'utilitza mundialment per descriure l'extensió anatòmica del càncer i determinar la seva etapa [cancer.gov 2022, Giuliano, A. E. et al 2017, cancerresearchuk.org 2023].

Els resultats es combinen per determinar el grau d'extensió del càncer per a cada persona. El grau es basa en l'aspecte diferent que presenten les cèl·lules tumorals respecte les cèl·lules mamàries normals. També determina la velocitat en la que creixen. Com major sigui el grau del tumor, més agressiu serà.

- **Estadi 0:** no presenten caràcter invasiu i estan localitzades a l'interior dels conductes mamaris. Càncer in situ.
- **Estadi 1:** nòdul inferior als 2 cm de diàmetre.
- **Estadi 2:**
 - o El tumor segueix sent inferior a 2 cm, però s'estén als ganglis de l'axil·la.
 - o El nòdul ha crescut, sense sobrepassar els 5 cm, 50% de probabilitats d'haver-se estès als ganglis de l'axil·la.
- **Estadi 3:**
 - o El nòdul no arriba a 5 cm, però s'ha estès ja als ganglis de l'axil·la.
 - o El tumor s'estén pels teixits propers a la glàndula mamària.
- **Estadi 4:** les cèl·lules canceroses s'han estès a altres teixits i òrgans del cos, proliferant en aquests. Metàstasi.



1.5. TRACTAMENTS

CIRURGIA

La cirurgia és un procés invasiu on s'extirpa el teixit cancerós i part del teixit circumdant sa. En general, com més petit és el tumor, més opcions quirúrgiques tenen les pacients [McDonald, E. S. et al 2016, Moo, T. et al 2018]. Els tipus de cirurgia varien depenent del grau d'afectació i de la valoració dels professionals:

- Mastectomia parcial o tumorectomia: cirurgia conservadora de la mama, consisteix en extirpar el tumor i part del teixit que el rodeja. Pot incloure l'extirpació d'alguns ganglis limfàtics de l'aixella.
- Mastectomia total: cirurgia per extirpar per complet la mama que té càncer. És possible l'extirpació d'alguns ganglis limfàtics axil·lars.
- Mastectomia radial modificada: cirurgia per extirpar tota la mama amb càncer, resecció de mugró, arèola i pell que cobreix la mama. També s'extrauran els ganglis limfàtics axil·lars. És possible l'aparició de limfedema.

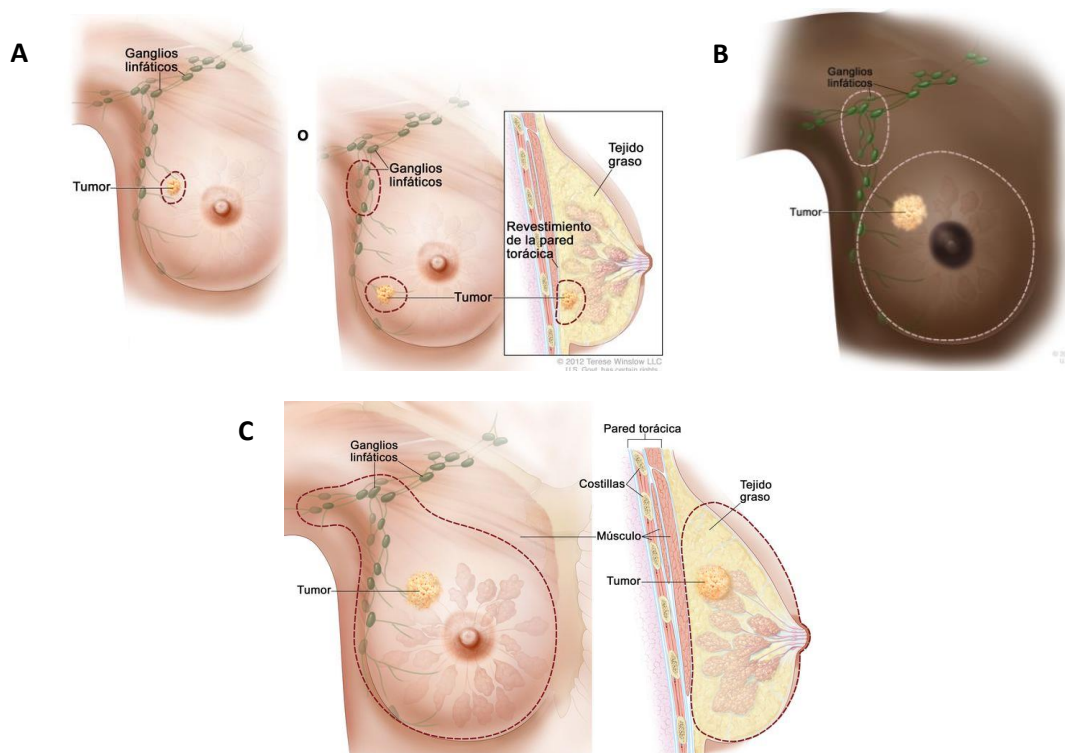


Figura 3. Tipus de cirurgia. (A) Mastectomia parcial (B) Mastectomia total (C) Mastectomia radial modificada. **Font:** cancer.gov



QUIMIOTERÀPIA

La quimioteràpia permet interrompre la formació de les cèl·lules canceroses [cancer.net 2023]. Pot ser administrada per via oral o injectada per vena. La quimioteràpia es pot administrar abans o després de la cirurgia. Si la pacient té baix risc de recidiva es realitzarà una quimioteràpia adjuvant (després de la cirurgia). En canvi, es realitza la quimioteràpia neoadjuvant (abans de la cirurgia) [Takada, M. et al 2020], per reduir la mida del tumor i la quantitat del teixit a extirpar.

RADIOTERÀPIA

La radioteràpia consisteix en l'ús de raigs d'alta energia per eliminar les cèl·lules canceroses [cancer.net 2023]. És una tècnica obligada després d'un tractament quirúrgic de tipus conservador, de vegades s'usa com a complement de la mastectomia.

- Externa: és el mètode més habitual, s'acostuma a administrar en breus sessions diàries i la pacient no té en cap moment contacte directe del cos amb la màquina a través de la qual rep el tractament.
- Interna: també es coneix com braquioteràpia [Takada, M. et al 2020] i consisteix en col·locar substàncies radioactives prop o dintre del tumor. Aquestes substàncies es retiren uns dies posteriors a l'administració d'aquestes.

Existeixen altres tipus de tractament per al CM, però ens centrem amb cirurgia, quimioteràpia i radioteràpia, ja que són els que estudiem [cancer.net 2023].



1.6. ANXA1

L'ANXA1, també coneguda com Lipocortina I, forma part de la família de les anexines i es codificada pel gen ANXA1 en humans. És una proteïna antifosfolipasa, concretament de la Fosfolipasa A2 (PLA2), conté un lloc d'unió a fosfolípid, és regulada per Ca^{2+} . Es pot trobar al citoplasma, al nucli i extracel·lularment [Sobral-Leite, M. et al 2015].

L'ANXA1 s'ha classificat durant molts de temps com una proteïna antiinflamatòria degut al seu control sobre les respostes immunes controlades per leucòcits. Aquesta desenvolupa un paper important en la resposta immunitària innata com a regulador del procés inflamatori aportant una activitat antiinflamatòria. També participa en la resposta immunitària adaptativa. Tot i això, es coneix que aquesta proteïna té efectes més enllà del sistema immune [Okano, M. et al 2019].

En estudis previs s'ha observat que ANXA1 està implicada en molts mecanismes cel·lulars, tals com la transducció de senyals, la supervivència cel·lular, la proliferació, la diferenciació, la migració i el desenvolupament de malalties. Alguns estudis ja han abordat la participació d'ANXA1 en el desenvolupament i progressió d'alguns tipus de càncers i també la resistència a la teràpia en assajos in vitro. No obstant, s'ha vist que aquesta proteïna està regulada a la baixa en alguns càncers i regulada a l'alça en altres. Per tant, tenim enfront una dualitat de supressió tumoral i activitat oncogènica [Sheikh, M. H. et al 2018].

L'ANXA1 suprimeix la PLA2, bloquejant així la producció d'eicosanoides, inhibint varis esdeveniments inflamatoris. És a dir, es suprimeix la resposta immune i amb ella els principals productes de la inflamació, les prostaglandines i els leucotriens [Lyngstadaas, A. V. et al 2021].

En condicions normals les cèl·lules immunitàries com els neutròfils i monòcits/macròfags contenen alts nivells d'ANXA1, a nivell citoplasmàtic.

En el context del càncer de mama, on les cèl·lules immunitàries s'activen, es mobilitza l'ANXA1 a la superfície cel·lular i es secreta. Pot inhibir l'adhesió dels neutròfils i promoure l'apoptosi d'aquests. Redueix la tendència dels neutròfils a penetrar en l'endoteli dels vasos sanguinis.



S'ha vist que tant l'ANXA1 endògena com l'exògena en el càncer de mama contraresten les activitats de les cèl·lules immunitàries que van en contra del tumor. La proteïna en qüestió promou la formació de cèl·lules T reguladores i anergia de cèl·lules T, tot pel mateix objectiu: inhibir la inflamació i per tant beneficiar al tumor [Bai, F. et al 2020].

Amb ajuda de FPR2 (receptor 2 pèptid N-Formil), el seu receptor, es promou la polarització dels macròfags de M1 cap a M2 [Moraes, L. A. et al 2017], un fenotip més antiinflamatori. Aquests macròfags impulsen l'angiogènesi, la progressió tumoral i promouen la resposta antiinflamatòria [Moraes, L. A. et al 2018].

Els macròfags són cèl·lules heterogènies que s'alliberen de la medul·la òssia com a monòcits immadurs i després de circular pel sistema sanguini, migren als teixits diana per sotmetre's a la diferenciació final en macròfags madurs. Són cèl·lules efectores immunitàries innates, més conegudes pel seu paper com a fagòcits professionals [Orecchioni, M. et al 2019].

Els macròfags M2 secreten alts nivells de IL-10, la qual atura la maduració de les cèl·lules dendrítiques i per tant es dona menys resposta inflamatòria. També augmenta el nombre de MDSC (cèl·lules supressores derivades de mieloides), les quals inhibeixen l'activació de les cèl·lules T [Mishra, S. et al 2022].

La interacció entre els macròfags i el CM reflexa la plasticitat funcional d'aquestes cèl·lules [Locati, M. et al 2020]. Poden diferenciar-se en un espectre de fenotips funcionals diferents en resposta de les senyals presents al microambient:

- Macròfags M1: són activats clàssicament, per presència de IFN- γ , TNF- α i DAMP. Són el fenotip dominant observat en les primeres etapes de la inflamació. Tenen una potent activitat microbicida. Algunes de les interleuquines que secreten són: IL-5, IL-13, IL-12, IL-1 β ... [Ochoa-Carrillo, F. J. et al 2013, Liu, J., Geng, X. et al 2021]



- Macròfags M2: s'activen alternativament per exposició a certes citocines com: IL-4, IL-10 i IL-13. Estan associats a la cura de ferides i reparació de teixits. Sintetitzen les següents substàncies: IL-6, IL-12, IL-18, IL-23, TNF- α . El subtipus M2d és l'associat als tumors. Són una font important de factors de creixement endotelial vascular, els quals beneficien al tumor [Ochoa-Carrillo, F. J. et al 2013, Liu, J., Geng, X. et al 2021].

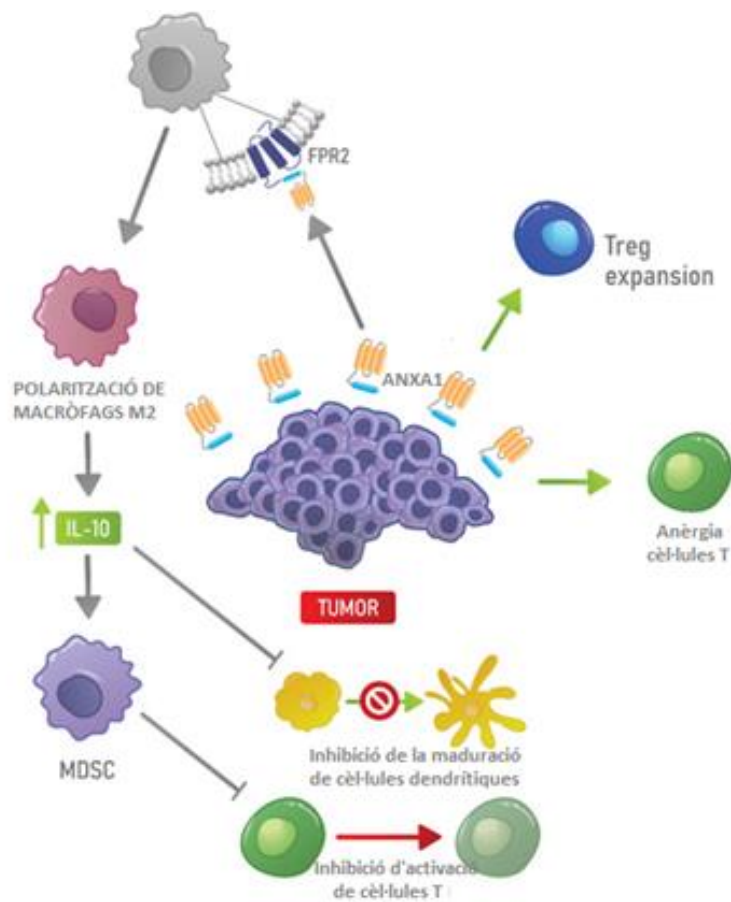


Figura 4. ANXA1 en el càncer de mama

Font: Araújo, T. G. et al 2021

<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>

S'ha vist en diversos estudis que en el CM, l'expressió alta de l'ANXA1 condueix a un mal pronòstic i un augment de la metàstasi [Pearanpan, L. et al 2022].



1.7. PGE2

La PGE2, prostaglandina E2, és una substància de caràcter lipídic derivada dels àcids grassos de 20 carbonis, els eicosanoides. PGE2 exerceix els seus efectes a través de la lligadura amb 4 receptors (EP1, EP2, EP3 i EP4) [Ching, M. M. et al 2020]. EP4 s'ha vist incrementat en el càncer i recolza la proliferació cel·lular, la migració, la invasió i la metàstasi.

La síntesi de les prostaglandines s'incrementa en resposta a mediadors inflamatoris. S'inicia quan s'hidrolitza PLA2, provocant que els fosfolípids de la membrana cel·lular es transformen en àcid araquidònic (AA), el precursor de la majoria dels eicosanoides. La catàlisi per ciclooxigenases (COX-1 i COX-2) i prostaglandines sintases converteix l'AA en PGH₂ (prostaglandina H₂). Per acció d'altres enzims, la PGH₂ es transforma en les altres prostaglandines, en aquest cas PGE2 [Walker, O. L. et al 2022].

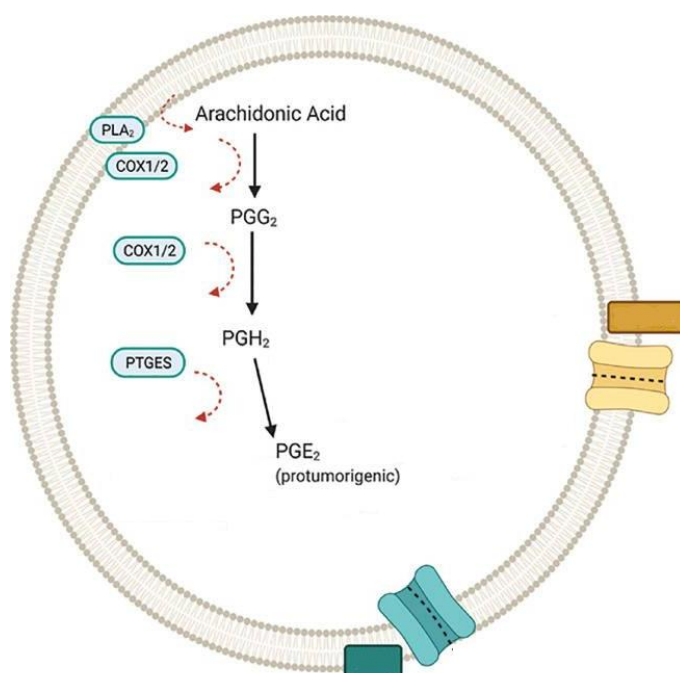


Figura 5. Síntesi de PGE2

Font: Walker, O. L. et al 2022

<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



PGE2 exerceix un paper clar en el control de la resposta inflamatòria. També indueix potents propietats immunosupressores. Aquestes propietats multifacètiques d'aquest lípid depenen del context i de la localització d'aquest [De Paz Linares, G. A. et al 2021].

Es coneix que PGE2 actua durant la fase inicial de la resposta inflamatòria com a vasodilatador i per tant facilita l'afluència tissular de neutròfils, macròfags i mastòcits del torrent sanguini que condueixen a la inflamació. S'ha observat que té un paper en l'activació de la resposta Th17, un subconjunt de cèl·lules CD4 que produeixen IL-17, interleucina proinflamatòria.

Paradoxalment, PGE2 també té un control en propietats antiinflamatòries. Un efecte important d'aquest lípid és la seva capacitat d'inhibir directament la síntesi de IL-2 i l'expressió del receptor d'aquesta interleucina en les cèl·lules T, donant així una inhibició de la resposta proinflamatòria.

En condicions normals, el lípid es alliberat de cèl·lules immunitàries. Regula la febre, la funció renal, el dolor, la integritat de mucoses, la homeòstasi dels vasos sanguinis i la inflamació [Cheng, H. et al 2021].

En el context del càncer de mama, es produïda per cèl·lules estromals canceroses i generalment es considera que posseeix una potent activitat antiinflamatòria, és a dir, promotora de tumors. Estimula l'angiogènesi, la progressió tumoral i la metàstasi. Investigacions recents indiquen que tenen un paper fonamental en el microambient tumoral. També participa en la polarització cap a macròfags M2. Per tant, en un mal pronòstic del càncer [Kochel, T. J. et al 2016].

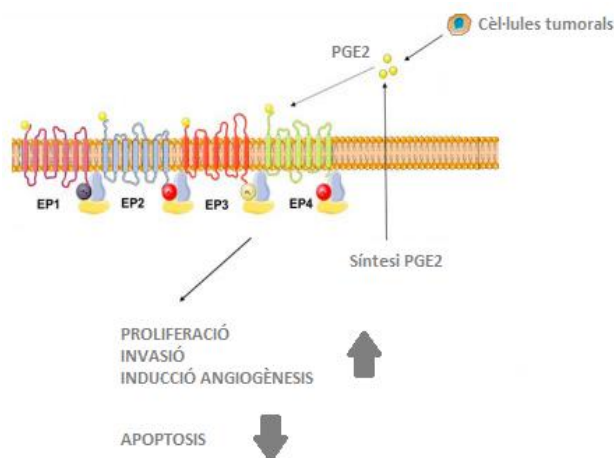


Figura 6. Algunes funcions de PGE2 en el càncer de mama

Font: Finetti, F. et al 2020

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



2.HIPÒTESI I OBJECTIUS

Les pacients amb càncer de mama presenten nivells incrementats d'ANXA1 i disminuïts de PGE2, degut a la inhibició de PLA2. S'afavoreix l'ambient inflamatori. Les pacients que han rebut tractament presentaran una disminució d'ANXA1 i PGE2, a causa de la seva agressivitat.

Els objectius de l'estudi son:

- Determinar la relació entre ANXA1 i PGE2 en pacients amb càncer de mama.
- Estudiar com aquestes concentracions evolucionen al llarg dels tractaments d'una pacient amb càncer de mama.
- Comprovar si hi ha relació entre subgrups moleculars, tenint en compte les concentracions de les dos proteïnes en estudi.



3.MATERIAL I MÈTODES

POBLACIÓ D'ESTUDI

S'han inclòs 42 dones amb CM de l'Hospital Universitari Sant Joan de Reus. Com a grup control, hem analitzat 50 dones sanes sense cap evidència carcinogènica.

Per portar a terme aquesta investigació, es van haver de considerar alguns criteris d'inclusió i d'exclusió. S'han inclòs pacients amb CM invasiu i majors d'edat. S'ha exclòs pacients amb antecedents oncològics, presència d'infermetat de Paget, presència d'infermetat vascular del col·lagen, lupuseritematós sistèmic i/o esclerodèrmia, embaràs o lactància en el moment d'inclusió, presència de trastorns psiquiàtrics i altres infeccions.

Totes les participants van signar un consentiment informat acord amb la declaració de Helsinki. L'estudi va ser aprovat pel Comitè Ètic de l'Hospital Sant Joan de Reus.

MOSTRES

Es van recol·lectar 2 tubs de sang (10 ml cada un) en el moment del diagnòstic i després de cada tractament. Un dels tubs era sense anticoagulant i l'altre era d'EDTA. Les mostres es van processar per obtenir alíquotes de sèrum i plasma via centrifugació (2500 xg, 15 min, 4°C), es van emmagatzemar a -80°C fins ser utilitzades. Les mostres del grup control es van processar de la mateixa forma.

Les mostres es van identificar amb un codi per mantenir l'anonimat.

ELISA

Les concentracions d'ANXA1 i PGE2 es van determinar mitjançant kits ELISA de la casa comercial Elabscience. Per determinar les concentracions es va fer ús de les alíquotes de sèrum. Per tal de determinar la concentració d'ANXA1 es va fer ús d'un ELISA tipus Sandwich. En el cas de PGE2, es va realitzar un ELISA de tipus competitiu.



ANÀLISI ESTADÍSTIC

Estadístiques estàndard

Per comparar dos grups independents hem utilitzat el Mann-Whitney U test, les variables descriptives s'han avaluat a partir del Chi-squared test. Hem considerat significança estadística quan $p < 0.05$. Les variables quantitatives s'han expressat com mitjana (rang interquartílic), mentre que les variables qualitatives les hem expressat com freqüència (percentatge).

Representació gràfica

Per tal de realitzar les representacions gràfiques es va utilitzar el programa GraphPad Prism 6.01 (GraphPad Software, San Diego, CA, USA) per realitzar les gràfiques de caixes i de barres.

En quant a les taules, es va fer ús de RStudio 4.2.2, vam utilitzar la llibreria Tableone. Es va utilitzar la versió més recent disponible al CRAN (cran.r-project.org).

Finalment, es va utilitzar el MetaboAnalyst 5.0 (www.metaboanalyst.ca) per realitzar les corbes ROC (receiver operating characteristic), ens ha permès determinar potencials biomarcadors a partir d'integrar diferents variables. Les dades es van normalitzar mitjançant la transformació logarítmica.



4.RESULTATS

4.1. Característiques clíniques de les pacients

Les característiques clíniques principals han estat recollides a la **Taula 2**. La majoria de pacients desenvolupen el càncer en estat de postmenopausia. La població mostra un alt percentatge d'antecedents familiars oncològics. En general, les pacients no mostren ganglis positius o metàstasi en el moment del diagnòstic. El carcinoma ductal és el tumor més comú diagnosticat, hi ha predominància del grau histològic 2 i del subtipus molecular luminal B.

Taula 2. Característiques clíniques i tumorals

	Càncer de mama (n = 42)
Característiques clíniques	
Edat de diagnòstic	59.8 (31-82)
Tabaquisme	6 (14.3)
Hipertensió	14 (33.3)
Diabetis mellitus	8 (19.1)
Dislipèmia	11 (26.2)
Patologia pulmonar	5 (11.9)
Patologia cardíaca	6 (14.3)
Antecedents familiars oncològics	26 (61.9)
Anticonceptives	11 (26.2)
Paritat	35 (83.3)
Característiques del tumor	
Mida del tumor (TNM)	
T1	13 (29.5)
T2	23 (52.3)
T3	8 (18.2)
Nòduls (TNM)	
N0	29 (65.9)
N1	12 (27.3)
N2	3 (6.8)



Metàstasi (TNM)

M0 42 (100)

Anatomia patològica del tumor

Carcinoma ductal 32 (76.2)

Carcinoma lobulillar 7 (16.7)

Altres 3 (7.1)

Grau histològic

I 7 (15.9)

II 31 (70.4)

III 6 (13.6)

Classificació subtipus molecular

Luminal A 11 (26.2)

Luminal B 24 (57.1)

HER2 positiu 4 (9.5)

Triple negatiu 3 (7.1)

Els valors estan proporcionats com a n (percentatge) o mitjana (rang interquartílic)

4.2. ANXA1 disminueix en pacients amb CM

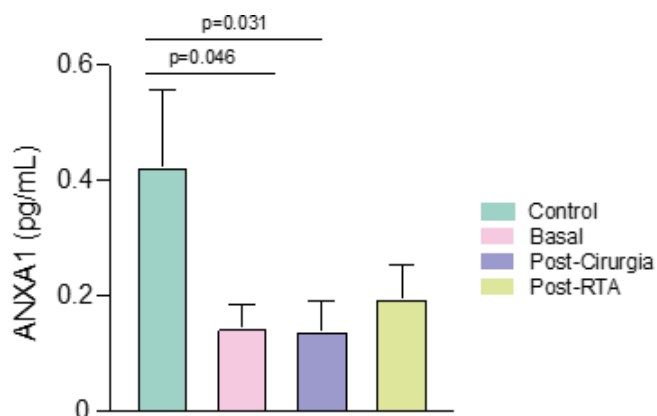


Figura 7. ANXA1 es presenta disminuïda en pacients amb CM. Hem utilitzat el Mann-Whitney U test per determinar la significança entre grups.
RTA: radioteràpia adjuvant.

En el moment del diagnòstic les pacients amb CM presenten baixos nivells d'ANXA1, cosa que també em pogut observar després de la cirurgia. En el cas de la radioteràpia adjuvant (RTA) no hem pogut determinar diferències significatives enfront al moment



del diagnòstic (basal) o la cirurgia. Hem de destacar que no s'observen diferències significatives entre el grup control i la concentració de la proteïna després de la RTA.

El següent pas ha sigut analitzar les característiques tumorals de les pacients que han presentat concentració circulant d'ANXA1.

Taula 3. Característiques tumorals de les pacients amb presència d'ANXA1

	Càncer de mama (n = 13)
Característiques del tumor	
Mida del tumor (TNM)	
T1	4 (30.8)
T2	9 (69.2)
Nòduls (TNM)	
N0	9 (69.2)
N1	4 (30.8)
Metàstasi (TNM)	
M0	13 (100)
Anatomia patològica del tumor	
Carcinoma ductal	9 (69.2)
Carcinoma lobulillar	4 (30.8)
Grau histològic	
I	3 (23.1)
II	9 (69.2)
III	1 (7.7)
Classificació subtipus molecular	
Luminal A	4 (30.8)
Luminal B	9 (69.2)
Receptor d'estrogen	97 (90-99)
Receptor de progesterona	70 (15-90)
Ki67 en biòpsia tumoral	
Inferior al 14%	3 (23.1)
Superior al 14%	10 (76.9)

Els valors estan proporcionats com a n (percentatge) o mitjana (rang interquartílic)



Les característiques tumorals de les pacients que han expressat concentració per a ANXA1 es troben a la **Taula 3**. El 70% de la població presenten el subtipus luminal B, grau histològic II i carcinoma ductal. La població estudiada expressa més d'un 90% del receptor d'estrogen, per altra banda, en cap pacient hem observat presència d'HER2.

No hem pogut observar diferències significatives entre les diferents característiques tumorals ja que el nombre de pacients que hem trobat en cada grup era massa reduït.

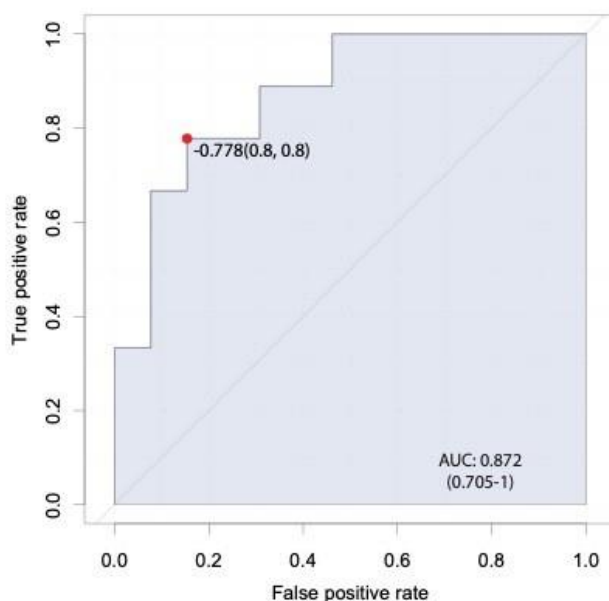


Figura 8. Receiver operating characteristics (ROC) curva de les concentracions d'ANXA1 en pacients basals i controls. AUC: area under the curve.

Com podem observar a la **Figura 8**, l'ANXA1 podria ser un bon biomarcador de diagnòstic, ja que ens permet diferenciar entre pacients amb càncer del grup control.



4.3. PGE2 incrementa en pacients amb CM

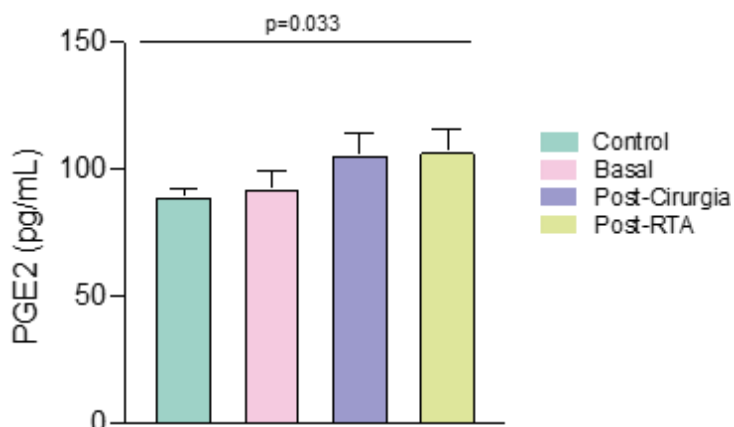


Figura 9. La concentració de PGE2 incrementa després dels diferents tractaments. Hem utilitzat el Mann-Whitney U test per determinar la significança entre grups. RTA: radioteràpia adjuvant.

Les pacients amb CM presenten la concentració de PGE2 incrementada després de cada tractament. L'augment s'observa després de la RTA on determinem diferències significatives respecte al grup control.

Per altra banda, no es troben diferències significatives en el moment del diagnòstic i després de la cirurgia respecte el grup control. Tampoc hem observat diferències significatives entre els tractaments (**Figura 9**).

El següent pas ha estat analitzar les característiques tumorals de les pacients que han presentat concentració circulat de PGE2.

Taula 4. Característiques tumorals de les pacients amb presència de PGE2

Càncer de mama	
(n = 41)	
Característiques del tumor	
Mida del tumor (TNM)	
T1	16 (39.0)
T2	20 (48.8)
T3	5 (12.2)
Nòduls (TNM)	
N0	29 (70.7)
N1	11 (29.8)



N2	2 (4.9)
Metàstasi (TNM)	
M0	41 (100)
Anatomia patològica del tumor	
Carcinoma ductal	32 (78.0)
Carcinoma lobulillar	6 (14.6)
Altres	3 (7.3)
Grau histològic	
I	9 (21.9)
II	28 (68.3)
III	4 (9.8)
Classificació subtipus molecular	
Luminal A	11 (26.8)
Luminal B	25 (61.0)
Triple negatiu (TN)	3 (7.3)
HER2	2 (4.9)
Receptor d'estrogen	97 (90-100)
Receptor de progesterona	70 (5-90)
HER2 positiu en biòpsia tumoral	4 (9.8)
Ki67 en biòpsia tumoral	
Inferior al 14%	11 (26.8)
Superior al 14%	30 (73.2)

Els valors estan proporcionats com a n (percentatge) o mitjana (rang interquartílic)

Com podem observar en la **Taula 4**, gran part de la població presenta un carcinoma ductal, grau histològic II i luminal B. Tota la població presentava un 97% de presència de receptor d'estrogen, més de la meitat de la població presenten més d'un 14% de grau de proliferació Ki67.

Tenint en compte l'observat en la **Taula 4**, hem volgut determinar com influeix el subtipus molecular en la concentració de PGE2. Només estudiarem els subtipus luminal A i B, ja que no tenim suficients pacients que presenten un subtipus TN o HER2.

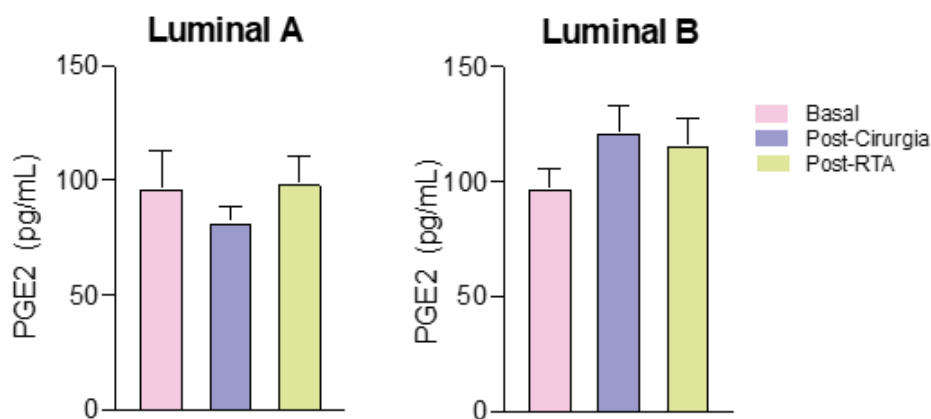


Figura 10. La concentració de PGE2 no varia en funció del subgrup. Hem utilitzat el Mann-Whitney U test per determinar la significança entre grups.

Tant en luminal A com en luminal B no hem observat diferències significatives en la concentració de PGE2 després dels tractaments.

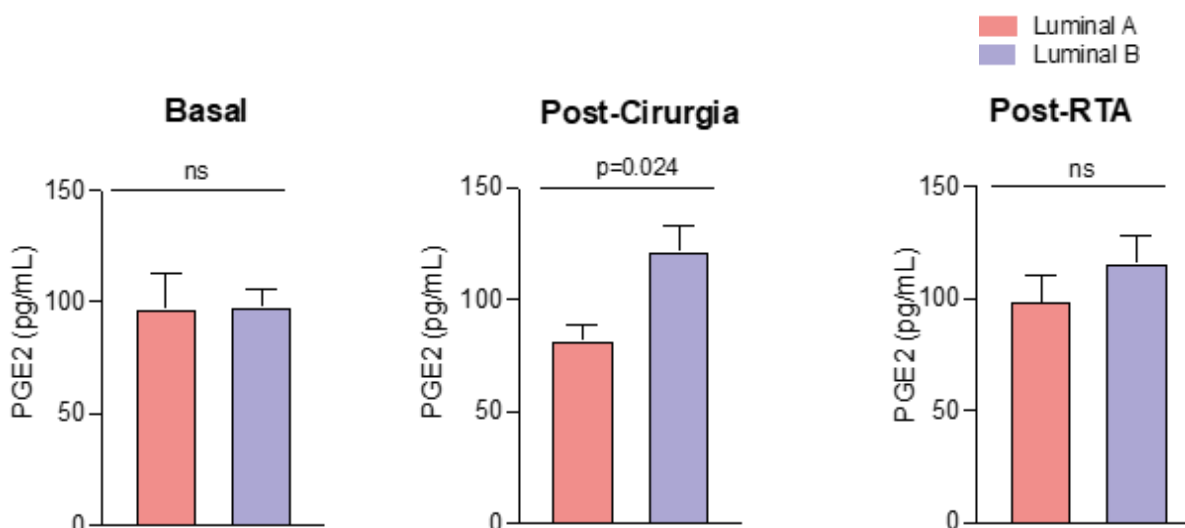


Figura 11. Comparativa enfront luminal A i B en les diferents etapes de la malaltia. Hem utilitzat el Mann-Whitney U test per determinar la significança entre grups.

Tenint en compte l'observat, hem volgut determinar si existeixen diferències significatives en la concentració de PGE2 en funció del temps de la malaltia i el subtipus molecular.

Com podem observar en la **Figura 11**, en el moment del diagnòstic (basal) PGE2 no presenta diferències entre els subtipus. Després de la cirurgia (primer tractament que es realitzen les pacients), podem observar un increment en la concentració de PGE2 en les pacients luminal B enfront les luminal A. En el cas de la RTA no hem pogut observar diferències significatives.

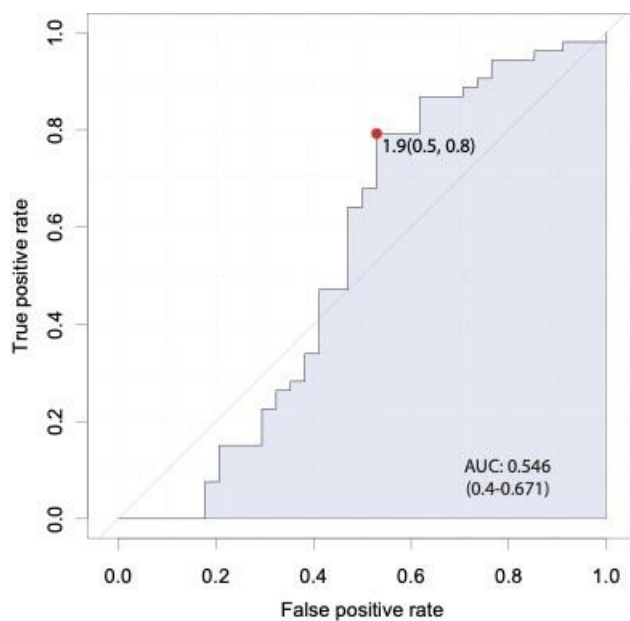


Figura 12. Receiver operating characteristics (ROC) curve de les concentracions de PGE2 en pacients basals i controls. AUC: area under the curve.

PGE2 no pot ser un biomarcador de diagnòstic ja que l'AUC que obtenim és inferior a 0.800, concretament 0.546.



5.DISCUSSIÓ

L'estudi del càncer ens permet determinar el comportament de la patologia després de cada tractament, arribant a obtenir tractaments personalitzats. La investigació contra el càncer permet determinar biomarcadors de diagnòstic i progressió de la malaltia.

El present estudi determina l'evolució d'ANXA1 i PGE2 en pacients amb CM després de cada tractament i en funció del subgrup molecular. Es volia determinar si aquestes proteïnes podien ser biomarcadors de pronòstic del CM.

Estudis previs indiquen que l'expressió alta d'ANXA1 en pacients amb CM, condueix a un desenvolupament tumoral i la progressió de la patologia [Moraes, L. A. et al 2017], també a un mal pronòstic i un augment de la metàstasi. Per altra banda, existeixen estudis que ens indiquen la dualitat d'aquesta proteïna, de manera proinflamatòria i antiinflamatòria [Moraes, L. A. et al 2018].

En el present estudi hem observat una disminució d'ANXA1 en els pacients amb CM en comparació amb el grup control. Aquests resultats també han estat observats en Yom. C. K. Et al 2011. S'explica que la raó d'aquests resultats indica que la pèrdua d'aquesta expressió d'ANXA1 es produeix primerenca durant la transformació maligna. Encara que es requereixen estudis de base sòlida a gran escala per treure conclusions clínicament significatives, una de les possibles causes d'aquest fet durant el moment del diagnòstic, podria ser que la població que ha expressat ANXA1 han estat gairebé tots determinats com luminal B, essent un subtipus poc agressiu comparat amb HER2 i TN. En l'estudi de Yom. C. K. Et al 2011, s'analitza teixit de mama afectat, però potser l'expressió en sèrum, de la qual es basa el nostre estudi, pot ser similar.

Per altra banda, hem pogut determinar diferències significatives entre el grup control i la concentració obtinguda després de la cirurgia, també en el moment del diagnòstic (basal). Entre el grup control i post-RTA no hem observat diferències significatives, tampoc entre basal, cirurgia i post-RTA. Aquesta relació és quelcom que encara no s'ha estudiat. Podem observar un increment de la concentració d'ANXA1 en la post-RTA, pot ser que tendeixi a arribar a la concentració dels controls i per tant, pot ser un bon resultat per al pronòstic.



No s'han estudiat les característiques tumorals per falta de n, ja que no serien uns resultats representatius per la nostra població.

S'ha determinat que aquesta proteïna pot ser un bon biomarcador de pronòstic per al càncer de mama, tal i com es va observar en Sobral-Leite, M. et al 2015. Aquest fet pot ser interessant per tal de veure l'agressivitat del càncer i per tant poder actuar en conseqüència amb els tractaments adequats i possibles cures posteriors.

PGE2 controla la resposta inflamatòria, a més de tenir propietats immunosupressores [De Paz Linares, G. A. et al 2021]. Estudis previs indiquen que l'expressió de PGE2 condueix a un mal pronòstic [Kochel, T. J. et al 2016].

En el present estudi hem observat un increment en la concentració de PGE2 en pacients amb CM enfront als controls. S'ha determinat que existeixen únicament diferències significatives entre la concentració obtinguda després de la RTA i el grup control, hem observat un increment de la concentració de la proteïna. No hem pogut determinar diferències significatives entre la concentració obtinguda en el moment del diagnòstic (basal) i els dos tractaments analitzats (cirurgia i RTA). Tampoc s'han observat diferències significatives entre la cirurgia i la RTA. Encara no s'ha realitzat investigació sobre aquesta relació, però una de les raons d'obtenir aquests resultats pot indicar una resistència a aquesta RTA, ja que la majoria de les pacients eren luminal B, subgrup més agressiu que el luminal A i per tant, fa que aquesta valor no disminueixi el suficient.

El següent pas ha estat determinar que succeïa en funció del subtipus molecular. Primerament, hem volgut determinar si tant pel subgrup luminal A com pel B existeixen diferències significatives i no ha sigut així. Finalment, hem volgut veure si existeixen diferències significatives enfront luminal A i B per a cada etapa de tractament. Únicament hem observat diferències després de la cirurgia, on la concentració de PGE2 es troba incrementada en luminal B. La raó d'aquesta significança pot ser que luminal B, al ser més agressiu que luminal A, pot presentar majors restes de PGE2 després de la cirurgia, i per tant que aquesta concentració estigui incrementada.



Finalment, si observem els resultats obtinguts d'ANXA1 i PGE2, podem veure que tenen comportaments contraris. ANXA1 es presenta disminuït en pacients amb CM en el moment del diagnòstic mentre que PGE2 es troba incrementat. Per tant, ANXA1 no suprimeix PLA2, aquest fet afavoreix la síntesis d'eicosanoides i per tant obtenim PGE2. PGE2, com bé s'ha investigat pot actuar de forma dual, en el nostre estudi hem pogut determinar que indica agressivitat, com bé es reflexa a Kochel, T. J. et al 2016.

Les possibles limitacions de l'estudi han estat el nombre de pacients que hem analitzat. Potser també ha influït que teníem una n diferent de cada subgrup i per tant, no hem pogut extreure uns resultats molt significatius de la nostra població.

6.CONCLUSIONS

ANXA1 i PGE2 tenen comportaments contraris durant els tractaments i els subgrups moleculars. S'ha observat una disminució d'ANXA1 en els pacients amb CM en comparació amb el grup control. En canvi, s'ha vist un augment de PGE2 en pacients amb CM. Finalment, s'ha pogut afirmar que ANXA1 és un bon biomarcador de pronòstic per la patologia.

S'ha trobat una relació entre les dues proteïnes d'estudi. Quan es presenten valors disminuïts d'ANXA1, aquesta no suprimeix PLA2 i per tant no es bloqueja la producció d'eicosanoides, produint així un augment de la concentració de PGE2.



7. BIBLIOGRAFIA

Akram, M., Iqbal, M., Daniyal, M., & Khan, A. U. (2017b). Awareness and current knowledge of breast cancer. *Biological Research*, 50(1). <https://doi.org/10.1186/s40659-017-0140-9>

Araújo, T. G., Mota, S. T. S., Ferreira, H. C., Ribeiro, M. G., Goulart, L. R., & Vecchi, L. (2021). Annexin A1 as a Regulator of Immune Response in Cancer. *Cells*, 10(9), 2245. <https://doi.org/10.3390/cells10092245>

Badve, S., & Gökmen-Polar, Y. (2019). Ductal carcinoma in situ of breast: update 2019. *Pathology*, 51(6), 563–569. <https://doi.org/10.1016/j.pathol.2019.07.005>

Bai, F., Zhang, P., Fu, Y., Chen, H., Zhang, M., Huang, Q., Li, D., Li, B., & Wu, K. (2020b). Targeting ANXA1 abrogates Treg-mediated immune suppression in triple-negative breast cancer. *Journal for ImmunoTherapy of Cancer*, 8(1), e000169. <https://doi.org/10.1136/jitc-2019-000169>

Braquiterapia parcial de mama: MedlinePlus enciclopedia médica. (n.d.). <https://medlineplus.gov/spanish/ency/article/007692.htm>

Breast Cancer - Types of Treatment. (2023, May 9). Cancer.Net. <https://www.cancer.net/cancer-types/breast-cancer/types-treatment>

Cáncer de mama metastásico: Síntomas, tratamiento, y más. (n.d.). <https://www.breastcancer.org/es/tipos/metastasico>

Cancer Staging. (2022, October 14). National Cancer Institute. <https://www.cancer.gov/about-cancer/diagnosis-staging/staging>

Carcinoma ductal invasivo (CDI): Estadío, síntomas y diagnosis. (n.d.). <https://www.breastcancer.org/es/tipos/carcinoma-ductal-invasivo>

Cheng, H., Huang, H., Guo, Z., Chang, Y., & Li, Z. (2021). Role of prostaglandin E2 in tissue repair and regeneration. *Theranostics*, 11(18), 8836–8854. <https://doi.org/10.7150/thno.63396>



Ching, M. M., Reader, J., & Fulton, A. M. (2020). Eicosanoids in Cancer: Prostaglandin E2 Receptor 4 in Cancer Therapeutics and Immunotherapy. *Frontiers in Pharmacology*, 11. <https://doi.org/10.3389/fphar.2020.00819>

De Paz Linares, G. A., Opperman, R. M., Majumder, M., & Lala, P. K. (2021). Prostaglandin E2 Receptor 4 (EP4) as a Therapeutic Target to Impede Breast Cancer-Associated Angiogenesis and Lymphangiogenesis. *Cancers*, 13(5), 942. <https://doi.org/10.3390/cancers13050942>

Derakhshan, F., & Reis-Filho, J. S. (2022). Pathogenesis of Triple-Negative Breast Cancer. *Annual Review of Pathology-mechanisms of Disease*, 17(1), 181–204. <https://doi.org/10.1146/annurev-pathol-042420-093238>

El cáncer de mama en España, en gráficos.
(s. f.). <https://www.epdata.es/datos/cancer-mama-espana-graficos/619/espana/106>

Finetti, F., Travelli, C., Ercoli, J., Colombo, G., Buoso, E., & Trabalzini, L. (2020). Prostaglandin E2 and Cancer: Insight into Tumor Progression and Immunity. *Biology*, 9(12), 434. <https://doi.org/10.3390/biology9120434>

Fragomeni, S. M., Sciallis, A. P., & Jeruss, J. S. (2018). Molecular Subtypes and Local-Regional Control of Breast Cancer. *Surgical Oncology Clinics of North America*, 27(1), 95–120. <https://doi.org/10.1016/j.soc.2017.08.005>

Gao, J. J., & Swain, S. M. (2018). Luminal A Breast Cancer and Molecular Assays: A Review. *Oncologist*, 23(5), 556–565. <https://doi.org/10.1634/theoncologist.2017-0535>

Giuliano, A. E., Connolly, J. L., Edge, S. B., Mittendorf, E. A., Rugo, H. S., Solin, L. J., Weaver, D. L., Winchester, D. J., & Hortobagyi, G. N. (2017). Breast Cancer-Major changes in the American Joint Committee on Cancer eighth edition cancer staging manual. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 67(4), 290–303. <https://doi.org/10.3322/caac.21393>



Hashmi, A. A., Hashmi, K. A., Irfan, M., Khan, S., Edhi, M. M., Ali, J., Hashmi, S. K., Asif, H., Faridi, N., & Khan, A. (2019). Ki67 index in intrinsic breast cancer subtypes and its association with prognostic parameters. *BMC Research Notes*, 12(1). <https://doi.org/10.1186/s13104-019-4653-x>

Kashyap, D., Pal, D., Sharma, R., Garg, V., Goel, N., Koundal, D., Zaguia, A., Koundal, S., & Gelaw, A. B. (2022). Global Increase in Breast Cancer Incidence: Risk Factors and Preventive Measures. *BioMed Research International*, 2022, 1–16. <https://doi.org/10.1155/2022/9605439>

Kochel, T. J., Goloubeva, O. G., & Fulton, A. M. (2016). Upregulation of Cyclooxygenase-2/Prostaglandin E₂(COX-2/PGE₂) Pathway Member Multiple Drug Resistance-Associated Protein 4 (MRP4) and Downregulation of Prostaglandin Transporter (PGT) and 15-Prostaglandin Dehydrogenase (15-PGDH) in Triple-Negative Breast Cancer. *Breast Cancer: Basic and Clinical Research*, 10, BCBCR.S38529. <https://doi.org/10.4137/bcbcr.s38529>

Liu, J., Geng, X., Hou, J., & Wu, G. (2021). New insights into M1/M2 macrophages: key modulators in cancer progression. *Cancer Cell International*, 21(1). <https://doi.org/10.1186/s12935-021-02089-2>

Li, Z., Hu, P., Tu, J., & Yu, N. (2016). Luminal B breast cancer: patterns of recurrence and clinical outcome. *Oncotarget*, 7(40), 65024–65033. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.11344>

Li, Z., Wei, H., Li, S., Wu, P., & Mao, X. (2022). The Role of Progesterone Receptors in Breast Cancer. *DOAJ (DOAJ: Directory of Open Access Journals)*, Volume 16, 305-314. <https://doi.org/10.2147/dddt.s336643>

Locati, M., Curtale, G., & Mantovani, A. (2020). Diversity, Mechanisms, and Significance of Macrophage Plasticity. *Annual Review of Pathology-mechanisms of Disease*, 15(1), 123–147. <https://doi.org/10.1146/annurev-pathmechdis-012418-012718>



Loibl, S., Poortmans, P., Morrow, M., Denkert, C., & Curigliano, G. (2021). Breast cancer. *The Lancet*, 397(10286), 1750-1769. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(20\)32381-3](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(20)32381-3)

Lucena, M. A., González, C. F., De Reyes Lartategui, S., Aragón, R. G., Barrón, M. S., Rubio, J. A., & Poyatos, P. T. (2021). Molecular classification of breast cancer. Treatment and prognosis implications. *Cirurgia Andaluza*, 32(2), 155-159. <https://doi.org/10.37351/2021322.9>

Lyngstadaas, A. V., Olsen, M. H., Bair, J., Hodges, R. R., Utheim, T. P., Serhan, C. N., & Dartt, D. A. (2021). Pro-Resolving Mediator Annexin A1 Regulates Intracellular Ca²⁺ and Mucin Secretion in Cultured Goblet Cells Suggesting a New Use in Inflammatory Conjunctival Diseases. *Frontiers in Immunology*, 12. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.618653>

McDonald, E. S., Clark, A. S., Tchou, J., Zhang, P., & Freedman, G. M. (2016b). Clinical Diagnosis and Management of Breast Cancer. *Journal of Nuclear Medicine*, 57(Supplement 1), 9S-16S. <https://doi.org/10.2967/jnumed.115.157834>

Mishra, S., Charan, M., Shukla, R. K., Agarwal, P., Misri, S., Verma, A. K., Ahirwar, D. K., Siddiqui, J., Kaul, K., Sahu, N., Vyas, K., Garg, A. A., Khan, A., Miles, W. O., Song, J. W., Bhutani, N., & Ganju, R. K. (2022). cPLA2 blockade attenuates S100A7-mediated breast tumorigenicity by inhibiting the immunosuppressive tumor microenvironment. *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research*, 41(1). <https://doi.org/10.1186/s13046-021-02221-0>

Moo, T., Sanford, R., Dang, C. T., & Morrow, M. (2018). Overview of Breast Cancer Therapy. *Pet Clinics*, 13(3), 339–354. <https://doi.org/10.1016/j.cpet.2018.02.006>

Moraes, L. A., Ampomah, P. B., & Lim, L. H. (2018b). Annexin A1 in inflammation and breast cancer: a new axis in the tumor microenvironment. *Cell Adhesion & Migration*, 1-7. <https://doi.org/10.1080/19336918.2018.1486143>



Moraes, L. A., Kar, S., Foo, S. L., Gu, T., Toh, Y. Q., Ampomah, P. B., Sachaphibulkij, K., Yap, G., Zharkova, O., Lukman, H. M., Fairhurst, A. M., Kumar, A. P., & Lim, L. H. K. (2017). Annexin-A1 enhances breast cancer growth and migration by promoting alternative macrophage polarization in the tumour microenvironment. *Scientific Reports*, 7(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-017-17622-5>

Ochoa-Carrillo, F. J. (2013, January 1). *Los macrófagos, ángeles o demonios*. Gaceta Mexicana De Oncología. <https://www.elsevier.es/es-revista-gaceta-mexicana-oncologia-305-articulo-los-macrofagos-angeles-o-demonios-X1665920113933087>

Okano, M., Oshi, M., Butash, A. L., Katsuta, E., Tachibana, K., Saito, K., Okayama, H., Peng, X., Yan, L., Kono, K., Ohtake, T., & Takabe, K. (2019). Triple-Negative Breast Cancer with High Levels of Annexin A1 Expression Is Associated with Mast Cell Infiltration, Inflammation, and Angiogenesis. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(17), 4197. <https://doi.org/10.3390/ijms20174197>

Orecchioni, M., Ghosheh, Y., Pramod, A. B., & Gawaz, M. (2019). Macrophage Polarization: Different Gene Signatures in M1(LPS+) vs. Classically and M2(LPS-) vs. Alternatively Activated Macrophages. *Frontiers in Immunology*, 10. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.01084>

Pearanpan, L., Nordin, F. J., Siew, E. Y., Kumolosasi, E., Hanif, E. a. M., Masre, S. F., Chua, E. W., Cheng, H. S., & Rajab, N. F. (2022). A Cell-Based Systematic Review on the Role of Annexin A1 in Triple-Negative Breast Cancers. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(15), 8256. <https://doi.org/10.3390/ijms23158256>

Pellegrino, B., Hlavata, Z., Migali, C., De Silva, P., Aiello, M., Willard-Gallo, K., Musolino, A., & Solinas, C. (2021). Luminal Breast Cancer: Risk of Recurrence and Tumor-Associated Immune Suppression. *Molecular Diagnosis & Therapy*, 25(4), 409-424. <https://doi.org/10.1007/s40291-021-00525-7>

¿Qué es el cáncer de seno? (s. f.). <https://www.cancer.org/es/cancer/tipos/cancer-de-seno/acerca/que-es-el-cancer-de-seno.html>



Reed, A. B., Kalinowski, L., Simpson, P. T., & Lakhani, S. R. (2021). Invasive lobular carcinoma of the breast: the increasing importance of this special subtype. *Breast Cancer Research*, 23(1). <https://doi.org/10.1186/s13058-020-01384-6>

S. (2023, 24 enero). *Cancer de mama - SEOM: Sociedad Española de Oncología Médica* © 2019. <https://seom.org/info-sobre-el-cancer/cancer-de-mama?showall=1>

Scaltriti, M., Annaratone, L., Marques, A. C., Casorzo, L., Berrino, E., & Sapino, A. (2021). Evolving concepts in HER2 evaluation in breast cancer: Heterogeneity, HER2-low carcinomas and beyond. *Seminars in Cancer Biology*, 72, 123–135. <https://doi.org/10.1016/j.semcancer.2020.02.016>

Scaltriti, M., Annaratone, L., Marques, A. C., Casorzo, L., Berrino, E., & Sapino, A. (2021). Evolving concepts in HER2 evaluation in breast cancer: Heterogeneity, HER2-low carcinomas and beyond. *Seminars in Cancer Biology*, 72, 123-135. <https://doi.org/10.1016/j.semcancer.2020.02.016>

Sheikh, M. H., & Solito, E. (2018). Annexin A1: Uncovering the Many Talents of an Old Protein. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(4), 1045. <https://doi.org/10.3390/ijms19041045>

Sobral-Leite, M., Wesseling, J., Smit, V. T. H. B. M., Nevanlinna, H., van Miltenburg, M. H., Sanders, J., Hofland, I., Blows, F. M., Coulson, P., Patrycja, G., Schellens, J. H. M., Fagerholm, R., Heikkilä, P., Aittomäki, K., Blomqvist, C., Provenzano, E., Ali, H. R., Figueroa, J., Sherman, M., . . . Schmidt, M. K. (2015). Annexin A1 expression in a pooled breast cancer series: association with tumor subtypes and prognosis. *BMC Medicine*, 13(1). <https://doi.org/10.1186/s12916-015-0392-6>

Sokolova, A., & Lakhani, S. R. (2021). Lobular carcinoma in situ: diagnostic criteria and molecular correlates. *Modern Pathology*, 34, 8–14. <https://doi.org/10.1038/s41379-020-00689-3>

Takada, M., & Toi, M. (2020). Neoadjuvant treatment for HER2-positive breast cancer. *Chinese clinical oncology*, 9(3), 32. <https://doi.org/10.21037/cco-20-123>



TNM staging for breast cancer. (n.d.). Cancer Research UK. <https://www.cancerresearchuk.org/about-cancer/breast-cancer/stages-grades/tnm-staging>

Walker, O. L., Dahn, M. L., Power Coombs, M. R., & Marcato, P. (2022). The Prostaglandin E2 Pathway and Breast Cancer Stem Cells: Evidence of Increased Signaling and Potential Targeting. *Frontiers in Oncology*, 11. <https://doi.org/10.3389/fonc.2021.791696>

Yin, L., Duan, J., Bian, X., & Yu, S. (2020). Triple-negative breast cancer molecular subtyping and treatment progress. *Breast Cancer Research*, 22(1). <https://doi.org/10.1186/s13058-020-01296-5>

Yom, C. K., Han, W., Kim, S. W., Kim, H. J., Shin, H., Chang, J. Y., Koo, M., Noh, D., & Moon, B. K. (2011). Clinical Significance of Annexin A1 Expression in Breast Cancer. *Journal of Breast Cancer*, 14(4), 262. <https://doi.org/10.4048/jbc.2011.14.4.262>



FITXES DE SEGUIMENT DEL TUTOR

*Normativa de Treball Fi de Grau Facultat d'Enologia
Aprovada per Junta de Facultat d'Enologia del dia 30 d'octubre de 2014*

ANNEX 2

FITXA DE SEGUIMENT DEL TUTOR/A del TFG

Nom i Cognoms de l'Alumne/a: Catalina Prats Lluís

Nom i Cognoms del Tutor/a: Dr. Pere Puigbò Avalos

Data de la entrevista amb l'alumne: 02/03/2023

Recomanacions durant el seguiment: Durant el seguiment hem comentat els aspectes bàsics de l'anàlisi estadístic de les dades del treball, així com aspectes generals de com escriure i estructurar el treball, i de com citar correctament a altres autors.

Observacions: La Cati ha desenvolupat el treball amb molta autonomia, i demanant ajuda en aspectes puntuals que hem anat resolent durant les reunions de seguiment.

Observacions Darrera revisió: La darrera versió del treball està molt ben cuidada tant en els aspectes científics, estructurals i de format.

Signatura del Tutor/a

Signatura del Alumne/a

Tarragona a 1 de Juny del 2023



AUTOAVALUACIÓ

Voldria concloure aquest treball de fi de grau amb una opinió personal sobre l'estància de pràctiques per realitzar aquest projecte, tota la feina que hi ha darrere, les hores redactant tot l'après i els coneixements adquirits.

El pas a través d'aquest aprenentatge m'ha permès formar-me com a investigadora, adquirir noves habilitats i capacitats científiques. El que més valoro és els professionals que han estat al meu costat i m'han ensenyat a ser qui soc ara. He adquirit noves tècniques de laboratori, que en un futur seran profitoses en el meu àmbit laboral. He estat capaç de superar totes les dificultats que s'han posat al camí durant aquest treball i amb constància he aconseguit millorar certes situacions que fallaven.

La realització d'aquest treball de fi de grau, m'ha fet créixer com a biotecnòloga, amb noves tècniques com ELISA. També m'ha fet evolucionar com a persona, ja que no he tirat mai la tovallola i sempre he seguit endavant.

Finalment amb el tema del càncer de mama, m'he sentit molt útil, ja que és un tema que avui en dia afecta a una gran quantitat de dones, les quals poden arribar a ser ben properes a nosaltres. He sentit que per petit que fos, estava aportant un granet de sorra a aquesta gran investigació que desgraciadament fa molts anys que està oberta.

