



MEMORIA

25.º RETORNO SOCIAL DE LA INVESTIGACIÓN
CÁNCER

INHIBICIÓN DE LA VÍA PI3K/AKT EN GLIOMAS DE ALTO GRADO Y DIFUSOS DE TRONCO (PHGG/DIPG)

Dr. Àngel Montero Carcaboso

Hospital Sant Joan de Déu - FSJD Fundació per a la Recerca i la Docència
Sant Joan de Déu

Dra. Meritxell Teixidó Turà

IRBB Institut de Recerca Biomèdica de Barcelona

1. Resumen

Los gliomas difusos de alto grado de tipo pediátrico (pHGG), y especialmente su subclase más frecuente, conocidos como gliomas difusos de línea media alterados en H3 K27 (DMG; que presentan alteraciones causantes de cáncer en la histona 3), son cánceres cerebrales pediátricos con muy mal pronóstico. Dentro de la subclase DMG, los tumores localizados en la protuberancia, conocidos como gliomas pontinos intrínsecos difusos (DIPG), son los más frecuentes y los más agresivos. Los DMG no tienen tratamiento curativo porque se infiltran de manera difusa en estructuras cerebrales de la línea media como el tronco encefálico y el tálamo, lo que impide la cirugía. El análisis molecular de más de 1.000 muestras de pacientes con pHGG identificó alteraciones frecuentes en los genes *PDGFR α* y *PIK3CA*. Estos genes pertenecen al eje RTK-PI3K-MAPK, también conocido como vía PI3K/Akt, que está relacionada con el inicio y la progresión del cáncer. En conjunto, más del 60% de los pHGG presentan alteraciones en este eje. En este estudio, probamos inhibidores de moléculas pequeñas de la vía PI3K/Akt como estrategias terapéuticas para el DMG. Estudiamos las moléculas GDC-0077 (inavolisib), un inhibidor de clase I de la isoforma PI3K- α (p110 α), y GDC-0068 (ipatasertib), un inhibidor selectivo pan-Akt competitivo de ATP, que actualmente se están evaluando en ensayos clínicos para varios tipos de cánceres que aparecen en pacientes adultos.

Primero, analizamos nuestro conjunto de muestras, compuesto por 10 modelos preclínicos derivados de pacientes (todos de líneas celulares de DIPG). Observamos que uno de ellos, conocido como HSJD-DIPG-007 (abreviado como DIPG-007), portaba la mutación *PIK3CA H1047R*. Ambos fármacos, ipatasertib e inavolisib, inhibieron la proliferación de todas las líneas celulares DIPG *in vitro*, independientemente de que portaran mutaciones en el eje RTK-PI3K-MAPK. Sin embargo, DIPG-007 fue la línea celular más sensible a la actividad de los fármacos, con una sensibilidad a inavolisib en el rango de concentración nanomolar bajo y a ipatasertib en el rango micromolar bajo. Estos resultados sugirieron una actividad potencial de este fármaco en modelos animales o en pacientes cuyos tumores portan esta mutación.

Analizamos entonces si los nuevos fármacos inhibían la vía PI3K/Akt. Inavolisib inhibió la señalización celular a través de fosfo-Akt Ser473 (pAkt) y sus efectores posteriores fosfo-PRAS40 (PPRAS40) y fosfo-S6 quinasa (pS6). Ipatasertib aumentó la fosforilación

de Akt, de forma consistente con su mecanismo de acción. Observamos que la caspasa-3/7 y la proteína poli (ADP-ribosa) polimerasa (PARP) se escindieron después de ambos tratamientos, particularmente después de largos tiempos de incubación a altas concentraciones. Por tanto, los inhibidores de PI3K/Akt aumentaron la apoptosis de las células DIPG.

Evaluamos la actividad anticancerígena de ipatasertib e inavolisib en ratones inmunodeficientes portadores de xenoinjertos intracraneales DIPG-007. Inavolisib (50 mg/kg) prolongó significativamente la supervivencia media de los ratones tratados, en comparación con los controles no tratados (75 frente a 85 días, $P = 0,0072$). El análisis del cerebro y del líquido cefalorraquídeo del ratón confirmó que el fármaco llegó al tejido diana en concentraciones potencialmente activas, durante al menos 8 horas. Tras la cuantificación de células cancerosas en el cerebro del ratón mediante un método de PCR de *droplet* digital, observamos una disminución significativa en los ratones tratados con inavolisib, en comparación con los ratones control. Por el contrario, ipatasertib (25 o 100 mg/kg) no logró un beneficio terapéutico en la supervivencia del xenoinjerto DIPG, independientemente de la dosis. Las curvas de concentración-tiempo mostraron que las concentraciones de ipatasertib no alcanzaron valores de concentración suficientemente altos en el cerebro del ratón. La conjugación química de ipatasertib con lanzaderas peptídicas que atraviesan la barrera hematoencefálica mejoró significativamente (3 veces) la penetración del fármaco a través de modelos de barrera hematoencefálica *in vitro*, pero resultó en una pérdida de actividad en comparación con el fármaco original, lo que impidió la evaluación *in vivo* de los nuevos conjugados.

En resumen, este estudio encontró una actividad preclínica muy relevante del inhibidor de *PIK3CA* inavolisib contra DIPG, relacionada con la presencia de mutaciones de *PIK3CA* en las células cancerosas, y esto será útil para el diseño de futuros ensayos clínicos.

2. Relevancia y posibles implicaciones futuras

Nuestro estudio proporciona la justificación para diseñar un ensayo clínico de fase I del inhibidor de PI3K inavolisib para pacientes pediátricos con pHGG que portan mutaciones en el gen *PIK3CA*, que representan aproximadamente el 20% de todos los pacientes con pHGG.

El estudio confirmó la relación entre la exposición a los medicamentos y la actividad en los tumores cerebrales con la barrera hematoencefálica intacta. Este resultado es importante para priorizar los medicamentos con los perfiles de distribución adecuados en el SNC para los ensayos clínicos.

El estudio enfatiza la necesidad de contar con métodos de detección adecuados para seleccionar pacientes para diseñar nuevos ensayos clínicos. Solo con un método de selección adecuado los pacientes obtendrán el beneficio de los tratamientos.

3. Bibliografía científica generada

Los artículos relacionados con este proyecto aún no se han publicado.

Se generarán dos artículos (uno que ya se ha enviado a revisión, y otro que está en preparación) y una tesis doctoral (de Leire Balaguer, que se presentará en otoño de 2024).