



MEMORIA

25.º RETORNO SOCIAL DE LA INVESTIGACIÓN
CÁNCER

LA MODULACIÓN DE LA GLICEMIA COMO ESTRATEGIA PARA LA MEJORA DEL BENEFICIO DE LA QUIMIORRADIOTERAPIA Y LA INMUNOTERAPIA EN CÁNCER DE PULMÓN DE CÉLULA NO PEQUEÑA

Dra. Cristina Muñoz Pinedo

IDIBELL Institut d'Investigació Biomèdica de Bellvitge

Dr. David Santamaría Velilla

Fundación de Investigación del Cáncer de la Universidad de Salamanca - Centro de
Investigación del Cáncer - IBMCC Salamanca

1. Resumen

El cáncer de pulmón de células no pequeñas (NSCLC, por su sigla en inglés) está relacionado con diversas alteraciones metabólicas. Por un lado, el metabolismo de las células del cáncer de pulmón es distinto al metabolismo de las células pulmonares no transformadas. Por otro lado, la glucemia y la diabetes del paciente tienen un impacto en la incidencia del cáncer de pulmón y también en el resultado clínico del tratamiento con quimiorradioterapia.

En este proyecto, financiado por la Fundació La Marató, planteamos la siguiente hipótesis:

1) El metabolismo del paciente y los niveles de metabolitos en suero están relacionados no solo con la incidencia y el desarrollo de tumores (como se describe en el caso de la diabetes) sino también con las respuestas a la quimioterapia, la radioterapia y la inmunoterapia. Por lo tanto, el análisis de ciertos metabolitos podría ser útil para estratificar el pronóstico de los pacientes y, al poner el foco en el metabolismo sistémico, también mejoraría el resultado clínico.

2) A la inversa, también proponemos, basándonos en numerosas pruebas, que el propio tumor secreta hormonas y citoquinas metabólicas que alteran el metabolismo del huésped y que pueden promover fenotipos metabólicos y nutricionales desfavorables. En estos casos, las moléculas liberadas por el tumor pueden convertirse en posibles dianas terapéuticas.

Por ello, el grupo 1 del proyecto coordinado tenía como objetivo seguir a un grupo de pacientes de cáncer de pulmón desde el momento del diagnóstico hasta después del tratamiento, y durante años después, para así poder saber, *a posteriori*:

1) Si existían metabolitos o citoquinas en la sangre de los pacientes que pudieran servir para predecir que el paciente pudiera obtener un beneficio, o no, de la quimioterapia o radioterapia, y de la posterior inmunoterapia.

2) Si se producían cambios de peso, glucosa y otros parámetros metabólicos que pudieran indicar que el tumor estaba afectando al metabolismo del paciente y que esto

podiera afectar al resultado de la terapia. Por otra parte, estos cambios podrían ser susceptibles de intervención clínica.

El otro grupo (grupo 2) averiguaría si los niveles elevados de glucosa similares a los que se observan en la diabetes provocarían, en animales, una disminución de la respuesta a la quimioterapia.

2. Resultados

Grupo 1

Después de las dificultades experimentadas durante los primeros años del proyecto (debidos al parón por la covid en neumología y oncología torácica), pudimos iniciar la recogida prospectiva de muestras de sangre, así como de biopsias tumorales. Al cierre del proyecto se han reclutado 46 pacientes, de los cuales tenemos muestras de sangre del seguimiento (pre- y posquimioterapia, y pre- y posradio) de 24 y biopsias tumorales de 6. En estas muestras secuenciales hemos realizado un estudio exploratorio de niveles de citoquinas mediante la tecnología Olink, cuyos resultados estamos analizando y esperamos poder tener listos en los próximos meses. También hemos analizado GDF15, una citoquina previamente asociada con la caquexia y que se encuentra elevada en las muestras de los animales con tumores.

Es importante destacar que, en la primera visita, un 20% de los pacientes presentaban pérdida de peso del 5-10% y un 35%, de más del 10% respecto a su peso habitual. Hemos encontrado una correlación estadísticamente significativa entre los niveles de GDF15 en sangre y el porcentaje de pérdida de peso basal (esto se ha calculado utilizando el peso habitual del paciente y el peso registrado en la primera visita, antes del tratamiento con quimiorradioterapia) en los 15 pacientes de los que se tienen medidas de esta citoquina. Esta asociación se mantiene tanto en el análisis por grupos de pérdida de peso como cuando se correlacionan las variables continuas.

Por otro lado, hemos podido analizar distintos parámetros séricos asociados a la glucemia con la finalidad de poder correlacionarlos con la respuesta al tratamiento de quimiorradioterapia. Además, también se han evaluado los cambios que registran los niveles de estos marcadores entre la primera visita (antes del tratamiento) y la

segunda visita de seguimiento (después del tratamiento). Como ejemplos representativos, se observa un ligero incremento de la insulina y el péptido C en los pacientes no diabéticos con el tratamiento, y niveles más altos de insulina y hemoglobina glicosilada (HbA1c) podrían estar asociados a peor respuesta. Hay que considerar que muchos de los pacientes en respuesta parcial, que son la mayoría, en unos meses recaerán y seguramente esto nos permitirá evaluar mejor el impacto de los parámetros metabólicos en la respuesta al tratamiento. También tendremos pendiente la asociación de la inmunoterapia con dichos marcadores y parámetros (seguramente en 10-12 meses).

Se ha descubierto que los animales (ratones) con cáncer de pulmón tienen dificultades para mantener un metabolismo óptimo: pierden peso y les sube la glucosa a la sangre. Esto se asocia también a los niveles altos de diversas citoquinas detectadas en sangre (sueros). En estos estudios hemos medido los niveles séricos de insulina y péptido C y hemos visto cómo estos parecen aumentar especialmente en hembras con tumores. Por otro lado, decidimos añadir otra cohorte de pacientes, la del ensayo clínico Atezo-Brain, que incluyó 40 pacientes con adenocarcinoma de pulmón avanzado con metástasis cerebrales tratados con quimioinmunoterapia en primera línea. En esta cohorte también hemos realizado el estudio mediante la tecnología Olink (resultados pendientes de analizar), y también el análisis del perfil de metabolitos mediante espectrofotometría de masas (realizado por nuestros colaboradores en Haifa). El análisis de *clustering*, utilizando los metabolitos más variables entre muestras, permite clasificar a los pacientes en tres grupos según su perfil metabólico. Con este análisis no se han encontrado asociaciones claras entre la prognosis y los perfiles metabólicos; no obstante, tenemos pendiente ampliar el análisis a otros metabolitos.

Grupo 2

Debido a la larga latencia del procedimiento experimental inicialmente planteado y a la heterogeneidad del desarrollo tumoral en la población de estudio, que complicaba la comparación de los distintos tratamientos previstos, se inició un procedimiento de contingencia basado en implantes de líneas tumorales isogénicas. Para tal fin, se destinaron los primeros tumores (obtenidos de animales de fondo puro C57Bl6 en julio de 2023) al desarrollo de líneas tumorales. Al ser derivados de una estirpe C57Bl6, se podía proceder a la implantación de las mismas en los pulmones de ratones recipientes del mismo fondo genético. Previo a su uso *in vivo*, las líneas tumorales obtenidas se

modificaron genéticamente para incorporar el gen de luciferasa y permitir de este modo el seguimiento longitudinal mediante análisis de imagen (IVIS).

Asimismo, se procedió a la validación y optimización experimental de los protocolos de inducción de hiperglicemia en ratones. A pesar de tratarse de protocolos establecidos en la bibliografía científica, son experimentos sujetos a una elevada variabilidad que deben ser convenientemente optimizados en cada animalario.

Una vez optimizados los distintos parámetros experimentales, se procedió a realizar un primer experimento piloto. El implante de la línea tumoral se realizó mediante inyección en la vena caudal. Se trata de un procedimiento establecido que, debido a la circulación sanguínea, resulta en la colonización del parénquima pulmonar.

Brevemente, se observó un crecimiento tumoral aumentado en animales tratados para desarrollar hiperglicemia. Este resultado estaría en concordancia con el peor pronóstico observado en pacientes de adenocarcinoma pulmonar con diabetes concurrente que dio lugar al diseño de este subproyecto.

Lamentablemente, la progresión tumoral se ha desarrollado con una agresividad que ha impedido implementar los tratamientos de quimioterapia con una duración suficiente para evaluar de forma estadísticamente significativa la eficacia terapéutica, siendo necesario sacrificar a los animales de forma prematura teniendo en cuenta los criterios establecidos de bienestar animal. Este experimento se ha realizado con tres líneas de adenocarcinoma pulmonar generadas de forma independiente en las que se han obtenido resultados similares. La alternativa de inyectar una cantidad celular inferior a 10^5 por animal para aumentar la supervivencia de los grupos experimentales resultaba en una heterogeneidad excesiva, incompatible con los tratamientos posteriores.

En vista de estos resultados, decidimos implementar un nuevo protocolo de implante ortotópico mediante inyección directa en el parénquima pulmonar. Fue necesario realizar diversas modificaciones (número de células, ángulo de inyección y complementación con matriz extracelular) en relación con protocolos similares previamente publicados (PMID: 22833819). Finalmente, fuimos capaces de obtener lesiones pulmonares individuales con un período de evolución mínimo de dos meses

hasta alcanzar el punto de final humanitario. Una mayor extensión del período experimental es esencial para realizar un mínimo de 4 ciclos y un máximo de 7 ciclos de quimioterapia, tal como se hace actualmente en la clínica. Por lo tanto, este nuevo modelo experimental es compatible tanto con los protocolos de tratamiento con quimioterapia previstos inicialmente como con la restauración de la normoglicemia mediante tratamiento farmacológico. Estos experimentos están actualmente en marcha y se prolongarán muy probablemente hasta finales de 2024. Esperamos para entonces haber completado los objetivos inicialmente comprometidos en la propuesta inicial.

3. Relevancia y posibles implicaciones futuras

Este proyecto nos ha permitido generar sinergias con la Unidad Funcional de Nutrición y fortalecer la relación entre el equipo clínico de Oncología Torácica, liderado por el Dr. Nadal, y el equipo traslacional básico, liderado por la Dra. Muñoz-Pinedo. Además, los resultados generados en este proyecto nos permiten sentar las bases de futuros proyectos y participar en futuras convocatorias competitivas para ampliar las cohortes de pacientes con tumores torácicos, que serán caracterizados desde el punto de vista metabólico, inflamatorio y de composición corporal.

Hemos observado que los pacientes con mayores niveles de insulina, sean o no diabéticos, tienen un comportamiento clínico más desfavorable. Por otro lado, los animales con cáncer de pulmón desarrollan hiperglicemia, hiperinsulinemia y resistencia a la insulina. El seguimiento de la cohorte clínica sugiere que este fenómeno también podría ocurrir en pacientes humanos, pero el seguimiento todavía es limitado debido al retraso en la activación de la cohorte prospectiva a causa de la epidemia de la covid-19. Se han reclutado prácticamente todos los pacientes que planteamos en la propuesta, pero algunos aún están en fases tempranas del tratamiento y no disponemos de un seguimiento mínimo para poder realizar un análisis de supervivencia libre de progresión o supervivencia global. Cuando dispongamos de mayor seguimiento, se podrán correlacionar los eventos de progresión con diferentes marcadores metabólicos, inflamatorios o de composición corporal para poder determinar qué factores están asociados a una progresión tumoral más precoz. Anticipamos que algunas alteraciones metabólicas que hemos detectado en este proyecto, como la hiperglicemia o la hiperinsulinemia, podrán ser abordadas en futuros

estudios con un diseño más intervencionista donde se pueda intensificar la terapia antidiabética, o incluso administrar metformina a pacientes con disglucemia, prediabetes y/o hiperinsulinismo sin historia de diabetes *mellitus* o aumentar la actividad física en pacientes en riesgo de sarcopenia y/o caquexia, o ya en etapas clínicas de estas dos enfermedades. Esta posibilidad de realizar intervenciones relativamente sencillas y poco costosas podría contribuir a unos mejores resultados en salud y a mejorar la calidad de vida de los pacientes con cáncer de pulmón de estadio III resecable que reciben tratamiento con quimiorradioterapia concurrente con intención curativa y consolidación con Durvalumab si los tumores tienen expresión positiva de PD-L1. A pesar de los avances logrados durante las últimas décadas, solo un tercio de los pacientes estarán vivos y libres de progresión tumoral 5 años después del tratamiento. Se están investigando múltiples estrategias terapéuticas (intensificación o inicio más precoz de la inmunoterapia, nuevas combinaciones, etc.) que por el momento no han demostrado un claro aumento de la eficacia respecto al tratamiento estándar. Por lo tanto, son muy necesarios nuevos abordajes que sean factibles, eficientes en cuanto a los costes, que puedan tener un impacto positivo en los resultados en salud y que sean independientes de la industria farmacéutica.

4. Bibliografía científica generada

Favaro F, Luciano-Mateo F, Moreno-Caceres J, Hernández-Madrigal M, Both D, Montironi C, Püschel F, Nadal E, Eldering E, Muñoz-Pinedo C.

TRAIL receptors promote constitutive and inducible IL-8 secretion in non-small cell lung carcinoma.

Cell Death Dis. 2022 Dec; 13(12): 1046.

Nadal E, Rodríguez-Abreu D, Simó M, Massutí B, Juan O, Huidobro G, López R, De Castro J, Estival A, Mosquera J, Sullivan I, Felip E, Blasco A, Guirado M, Pereira E, Vilariño N, Navarro V, Bruna J.

Phase II Trial of Atezolizumab Combined With Carboplatin and Pemetrexed for Patients With Advanced Nonsquamous Non-Small-Cell Lung Cancer With Untreated Brain Metastases (Atezo-Brain, GECP17/05).

J Clin Oncol. 2023 Oct 1;41(28):4478-4485.