



MEMÒRIA

25è RETORN SOCIAL DE LA RECERCA
CÀNCER

INHIBICIÓ DE LA VIA PI3K/AKT EN GLIOMES D'ALT GRAU I DIFUSOS DE TRONC (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. Resum

Els gliomes difusos d'alt grau de tipus pediàtric (pHGG), i especialment la seva subclasse més freqüent, coneguda com a gliomes difusos de línia mitjana alterats en H3 K27 (DMG; que presenten alteracions causants de càncer a la histona 3), són càncers cerebrals pediàtrics amb molt mal pronòstic. Dins de la subclasse DMG, els tumors localitzats a la protuberància, coneguts com a gliomes pòntics intrínsecs difusos (DIPG), són els més freqüents i els més agressius. Els DMG no tenen tractament curatiu perquè s'infiltra de manera difusa en estructures cerebrals de la línia mitjana com el tronc cerebral i el tàlem, cosa que impedeix la cirurgia. L'anàlisi molecular de més de 1.000 mostres de pacients amb pHGG va identificar alteracions freqüents en els gens *PDGFRa* i *PIK3CA*. Aquests gens pertanyen a l'eix RTK-PI3K-MAPK, també conegut com a via PI3K/Akt, que està relacionada amb l'inici i la progressió del càncer. En general, més del 60% dels pHGG presenten alteracions en aquest eix. En aquest estudi, vam provar inhibidors de molècules petites de la via PI3K/Akt com a estratègies terapèutiques per al DMG. Hem estudiat les molècules GDC-0077 (inavolisib), un inhibidor de la isoforma PI3K- α de classe I (p110 α), i GDC-0068 (ipatasertib), un inhibidor pan-Akt competitiu selectiu d'ATP, i actualment s'estan avaluant en assajos clínics per a diversos tipus de càncers que apareixen en pacients adults.

En primer lloc, vam analitzar el nostre conjunt de mostres, compost per 10 models de càncer preclínic derivats de pacients (tots de línies cel·lulars DIPG). Vam observar que un d'ells, conegut com a HSJD-DIPG-007 (abreujat com a DIPG-007), portava la mutació *PIK3CA H1047R*. Ambdós fàrmacs, ipatasertib i inavolisib, van inhibir la proliferació de totes les línies cel·lulars DIPG *in vitro*, independentment que portessin mutacions a l'eix RTK-PI3K-MAPK. No obstant això, DIPG-007 va ser la línia cel·lular més sensible a l'activitat dels fàrmacs, amb una sensibilitat a inavolisib en el rang de concentració nanomolar baix i a ipatasertib en el rang micromolar baix. Aquests resultats van suggerir una activitat potencial d'aquest fàrmac en models animals o en pacients amb tumors que porten aquesta mutació.

Hem mesurat si els nous fàrmacs inhibien la via PI3K/Akt. Inavolisib va inhibir la senyalització cel·lular mitjançant fosfo-Akt Ser473 (pAkt) i els seus efectors posteriors fosfo-PRAS40 (PPRAS40) i fosfo-S6 quinasa (pS6). Ipatasertib va augmentar la fosforilació d'Akt, de manera coherent amb el seu mecanisme d'acció. Vam observar

que la caspasa-3/7 i la proteïna poli (ADP-ribose) polimerasa (PARP) es van escindir després dels dos tractaments, sobretot després de llargs temps d'incubació a altes concentracions. Així, els inhibidors de PI3K/Akt van augmentar l'apoptosi de les cèl·lules DIPG.

A continuació, vam provar l'activitat anticancerígena d'ipatasertib i inavolisib en ratolins immunodeficients que portaven xenoempelts intracranials DIPG-007. Inavolisib (50 mg/kg) va allargar significativament la supervivència mitjana dels ratolins tractats, en comparació amb els controls no tractats (75 enfront de 85 dies, $P = 0,0072$). L'anàlisi del cervell del ratolí i del líquid cefalorraquidi va confirmar que el fàrmac va arribar al teixit objectiu a concentracions potencialment actives, durant almenys 8 hores. Després de la quantificació de cèl·lules canceroses al cervell del ratolí mitjançant un mètode de PCR de *droplet* digital, vam observar una disminució significativa en els ratolins tractats amb inavolisib, en comparació amb els ratolins control. En canvi, ipatasertib (25 o 100 mg/kg) no va aportar cap benefici terapèutic en la supervivència del xenoempelt DIPG, independentment de la dosi. Les corbes de concentració-temps van mostrar que les concentracions d'ipatasertib no aconseguen valors de concentració prou alts al cervell del ratolí. La conjugació química d'ipatasertib amb llançadores peptídiques que travessen la barrera hematoencefàlica va millorar significativament (3 vegades) la penetració del fàrmac a través de models de barrera hematoencefàlica *in vitro*, però va provocar una pèrdua d'activitat en comparació amb el fàrmac original, cosa que va impedir els estudis *in vivo* amb els nous conjugats.

En resum, aquest estudi va trobar una activitat preclínica molt rellevant de l'inhibidor de *PIK3CA* inavolisib contra DIPG, relacionada amb la presència de mutacions de *PIK3CA* en les cèl·lules canceroses, i això podria ser rellevant per al disseny de futurs assajos clínics.

2. Rellevància i possibles implicacions futures

El nostre estudi proporciona la justificació per dissenyar un assaig de fase I de l'inhibidor de PI3K inavolisib per a pacients pediàtrics amb pHGG que porten mutacions en el gen *PIK3CA*, que són aproximadament el 20% de tots els pacients amb pHGG.

L'estudi va confirmar la relació entre l'exposició a fàrmacs i l'activitat en càncers cerebrals amb barrera hematoencefàlica intacta. Aquest resultat és important per prioritzar els medicaments amb els perfils de distribució de l'SNC adequats per als assajos clínics.

L'estudi posa l'accent en la necessitat de disposar dels mètodes de cribratge adequats per seleccionar pacients per dissenyar nous assajos clínics. Només amb un mètode de selecció adequat els pacients obtindran el benefici dels tractaments.

3. Bibliografia científica generada

Els articles relacionats amb aquest projecte encara no s'han publicat.

Es generaran dos articles (un que ja s'ha enviat a revisió i un altre que està en preparació) i una tesi doctoral (de Leire Balaguer, que es presentarà la tardor del 2024).