



MEMÒRIA

25è RETORN SOCIAL DE LA RECERCA
CÀNCER

LA MODULACIÓ DE LA GLICÈMIA COM A ESTRATÈGIA PER MILLORAR EL BENEFICI DE LA QUIMIORADIOTERÀPIA I LA IMMUNOTERÀPIA EN CÀNCER DE PULMÓ DE CÈL·LULA NO PETITA

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. Resum

El càncer de pulmó de cèl·lules no petites (NSCLC, per la sigla en anglès) està relacionat amb diverses alteracions metabòliques. D'una banda, el metabolisme de les cèl·lules del càncer de pulmó és diferent del metabolisme de les cèl·lules pulmonars no transformades. D'altra banda, la glucèmia i la diabetis del pacient tenen un impacte en la incidència del càncer de pulmó i també en el resultat clínic del tractament amb quimioradioteràpia.

En aquest projecte, finançat per la Fundació La Marató, vam plantejar la hipòtesi següent:

1) El metabolisme del pacient i els nivells de metabòlits en sèrum estan relacionats no només amb la incidència i el desenvolupament de tumors (com es descriu en el cas de la diabetis) sinó també amb les respostes a la quimioteràpia, la radioteràpia i la immunoteràpia. Per tant, l'anàlisi de certs metabòlits podria ser útil per estratificar el pronòstic dels pacients i, en posar el focus en el metabolisme sistèmic, també milloraria el resultat clínic.

2) A la inversa, també proposem, basant-nos en nombroses proves, que el mateix tumor secreta hormones i citocines metabòliques que alteren el metabolisme de l'hoste i que poden promoure fenotips metabòlics i nutricionals desfavorables. En aquests casos, les molècules alliberades pel tumor es poden convertir en possibles dianes terapèutiques.

Per això, el grup 1 del projecte coordinat tenia com a objectiu seguir un grup de pacients de càncer de pulmó des del moment del diagnòstic fins després del tractament, i durant anys després, per així poder saber, *a posteriori*:

1) Si hi havia metabòlits o citocines a la sang dels pacients que poguessin servir per predir que el pacient podia obtenir un benefici, o no, de la quimioteràpia o de la radioteràpia i de la posterior immunoteràpia.

2) Si es produïen canvis de pes, glucosa i altres paràmetres metabòlics que poguessin indicar que el tumor estava afectant el metabolisme del pacient i que això pogués

afectar el resultat de la teràpia. D'altra banda, aquests canvis podrien ser susceptibles d'intervenció clínica.

L'altre grup (grup 2) esbrinaria si els nivells elevats de glucosa similars als que s'observen en la diabetis provocarien, en animals, una disminució de la resposta a la quimioteràpia.

2. Resultats

Grup 1

Després de les dificultats experimentades durant els primers anys del projecte (a causa de l'aturada per la covid en pneumologia i oncologia toràctica), vam poder iniciar la recollida prospectiva de mostres de sang, així com de biòpsies tumorals. Al tancament del projecte, s'han reclutat 46 pacients, dels quals tenim mostres de sang del seguiment (pre- i postquimioteràpia, o pre- i postràdioteràpia) de 24 i biòpsies tumorals de 6 pacients. En aquestes mostres seqüencials hem fet un estudi exploratori dels nivells de citocines mitjançant la tecnologia Olink, els resultats del qual estem analitzant i esperem poder tenir-los enllestits els pròxims mesos. També hem analitzat GDF15, una citocina prèviament associada amb la caquèxia que es troba elevada en les mostres dels animals amb tumors.

És important destacar que, en la primera visita, un 20% dels pacients presentaven pèrdua de pes del 5-10%, i un 35%, de més del 10% respecte al seu pes habitual. Hem trobat una correlació estadísticament significativa entre els nivells de GDF15 en sang i el percentatge de pèrdua de pes basal (calculat utilitzant el pes habitual del pacient i el pes registrat en la primera visita, abans del tractament amb quimioradioteràpia) en els 15 pacients de què es tenen mesures d'aquesta citocina. Aquesta associació es manté tant en l'anàlisi per grups de pèrdua de pes com quan es correlacionen les variables contínues.

D'altra banda, hem pogut analitzar diferents paràmetres sèrics associats a la glucèmia amb la finalitat de poder-los correlacionar amb la resposta al tractament de quimioradioteràpia. A més, també s'han avaluat els canvis que registren els nivells d'aquests marcadors entre la primera visita (abans del tractament) i la segona visita de

seguiment (després del tractament). Com a exemples representatius, s'observa un lleuger increment de la insulina i el pèptid C en els pacients no diabètics amb el tractament i els nivells més alts d'insulina i hemoglobina glicosilada (HbA1c) podrien estar associats a pitjor resposta. Cal considerar que molts dels pacients en resposta parcial, que són la majoria, al cap d'uns mesos recauran i segurament això ens permetrà avaluar millor l'impacte dels paràmetres metabòlics en la resposta al tractament. També tindrem pendent l'associació de la immunoteràpia amb els marcadors i paràmetres esmentats (segurament d'aquí a 10-12 mesos).

S'ha descobert que els animals (ratolins) amb càncer de pulmó tenen dificultats per mantenir un metabolisme òptim: perden pes i els puja la glucosa a la sang. Això s'associa també als nivells alts de diverses citocines detectades en sang (sèrums). En aquests estudis hem mesurat els nivells sèrics d'insulina i pèptid C i hem vist que aquests nivells semblen augmentar, especialment en femelles amb tumors.

D'altra banda, vam decidir afegir una altra cohort de pacients, la de l'assaig clínic Atezo-Brain, que va incloure 40 pacients amb adenocarcinoma de pulmó avançat amb metàstasis cerebrals tractats amb quimioimmunoteràpia en primera línia. En aquesta cohort també hem realitzat l'estudi mitjançant la tecnologia Olink (resultats pendents d'analitzar), i també hem fet l'anàlisi del perfil de metabòlits mitjançant espectrofotometria de masses (realitzat pels nostres col·laboradors a Haifa). L'anàlisi de *clustering*, utilitzant els metabòlits més variables entre mostres, permet classificar els pacients en tres grups segons el seu perfil metabòlic. En aquesta anàlisi no s'han trobat associacions clares entre la prognosi i els perfils metabòlics, però tenim pendent ampliar l'anàlisi a altres metabòlits.

Grup 2

A causa de la llarga latència del procediment experimental plantejat inicialment, i de l'heterogeneïtat del desenvolupament tumoral en la població d'estudi, que complicava la comparació dels diferents tractaments previstos, es va iniciar un procediment de contingència basat en implants de línies tumorals isogèniques. Amb aquesta finalitat, es van destinar els primers tumors (obtinguts d'animals de fons pur C57Bl6 el juliol del 2023) al desenvolupament de línies tumorals. En ser derivats d'una nissaga C57Bl6, es podia procedir a implantar en els pulmons de ratolins recipients del mateix fons genètic. Abans del seu ús *in vivo*, les línies tumorals obtingudes es van modificar

genèticament per incorporar el gen de luciferasa i permetre així el seguiment longitudinal mitjançant anàlisi d'imatge (IVIS).

Així mateix, es va procedir a la validació i l'optimització experimental dels protocols d'inducció d'hiperglucèmia en ratolins. Tot i tractar-se de protocols establerts en la bibliografia científica, són experiments subjectes a una elevada variabilitat que han de ser convenientment optimitzats en cada estabulari.

Un cop optimitzats els diferents paràmetres experimentals, es va fer un primer experiment pilot. L'implant de la línia tumoral es va realitzar mitjançant una injecció a la vena caudal. Es tracta d'un procediment establert que, a causa de la circulació sanguínia, resulta en la colonització del parènquima pulmonar. Breument, es va observar un creixement tumoral augmentat en animals tractats per desenvolupar hiperglucèmia. Aquest resultat estaria en concordança amb el pitjor pronòstic observat en pacients d'adenocarcinoma pulmonar amb diabetis concurrent que va donar lloc al disseny d'aquest subprojecte.

Lamentablement, la progressió tumoral es va desenvolupar amb una agressivitat que va impedir implementar els tractaments de quimioteràpia amb una durada suficient per avaluar de forma estadísticament significativa l'eficàcia terapèutica, i es van haver de sacrificar els animals de forma prematura tenint en compte els criteris de benestar animal establerts. Aquest experiment s'ha realitzat amb tres línies d'adenocarcinoma pulmonar generades de manera independent, i s'han obtingut resultats similars. L'alternativa d'injectar una quantitat cel·lular inferior a 10^5 per animal per augmentar la supervivència dels grups experimentals suposava generar una heterogeneïtat excessiva, incompatible amb els tractaments posteriors.

Tenint en compte aquests resultats, vam decidir implementar un nou protocol d'implant ortotòpic mitjançant una injecció directa al parènquima pulmonar. Va ser necessari fer diverses modificacions (nombre de cèl·lules, angle d'injecció i complementació amb matriu extracel·lular) en relació amb protocols similars prèviament publicats (PMID: 22833819). Finalment vam ser capaços d'obtenir lesions pulmonars individuals amb un període d'evolució mínim de dos mesos fins a assolir el punt de final humanitari. Tenir un període experimental més llarg és essencial per realitzar un mínim de 4 cicles i un màxim de 7 cicles de quimioteràpia, tal com es fa actualment a la clínica. Per tant,

aquest nou model experimental és compatible tant amb els protocols de tractament amb quimioteràpia previstos inicialment com amb la restauració de la normoglicèmia mitjançant tractament farmacològic. Aquests experiments estan actualment en curs i s'allargaran molt probablement fins a finals del 2024. Esperem llavors haver completat els objectius inicialment compromesos en la proposta inicial.

3. Rellevància i possibles implicacions futures

Aquest projecte ens ha permès generar sinergies amb la Unitat Funcional de Nutrició i enfortir la relació entre l'equip clínic d'Oncologia Toràctica, liderat pel Dr. Nadal, i l'equip translacional bàsic, liderat per la Dra. Muñoz-Pinedo. A més, els resultats generats en aquest projecte ens permeten establir les bases de futurs projectes i participar en futures convocatòries competitives per ampliar les cohorts de pacients amb tumors toràctics que seran caracteritzades des del punt de vista metabòlic, inflamatori i de composició corporal.

Hem observat que els pacients amb nivells més alts d'insulina, siguin diabètics o no, tenen un comportament clínic més desfavorable. D'altra banda, els animals amb càncer de pulmó desenvolupen hiperglucèmia, hiperinsulinèmia i resistència a la insulina. El seguiment de la cohort clínic suggereix que aquest fenomen també podria donar-se en pacients humans, però el seguiment encara és limitat a causa del retard en l'activació de la cohort prospectiva a causa de l'epidèmia de la covid-19. S'han reclutat pràcticament tots els pacients que inicialment es van plantejar en la proposta, però alguns encara estan en fases primerenques del tractament i no en tenim un seguiment mínim per poder fer una anàlisi de supervivència lliure de progressió o supervivència global. Quan disposem d'un millor seguiment, es podran correlacionar els esdeveniments de progressió amb diferents marcadors metabòlics, inflamatoris o de composició corporal per poder determinar quins factors estan associats a una progressió tumoral més precoç.

Anticipem que algunes de les alteracions metabòliques que hem detectat en aquest projecte, com la hiperglucèmia o la hiperinsulinèmia, podran ser abordades en futurs estudis amb un disseny més intervencionista en què es pugui intensificar la teràpia antidiabètica, o fins i tot administrar metformina a pacients amb disglucèmia,

prediabetis i/o hiperinsulinisme sense història de diabetis *mellitus* o augmentar l'activitat física en pacients amb risc de sarcopènia i/o caquèxia, o ja en etapes clíniques d'aquestes dues malalties. Aquesta possibilitat de realitzar intervencions relativament senzilles i poc costoses podria contribuir a uns millors resultats en salut i a millorar la qualitat de vida dels pacients amb càncer de pulmó en estadi III resecable que reben tractament amb quimioradioteràpia concurrent amb intenció curativa i consolidació amb Durvalumab si els tumors tenen expressió positiva de PD-L1. Tot i els avenços aconseguits durant les últimes dècades, només un terç dels pacients estaran vius i lliures de progressió tumoral al cap de 5 anys de tractament. S'estan investigant múltiples estratègies terapèutiques (intensificació o inici més precoç de la immunoteràpia, noves combinacions, etc.) que de moment no han demostrat un augment clar de l'eficàcia respecte al tractament estàndard. Són, per tant, molt necessaris nous abordatges que siguin factibles, eficients quant als costos, que puguin tenir un impacte positiu en els resultats en salut i que siguin independents de la indústria farmacèutica.

4. Bibliografia científica generada

Favaro F, Luciano-Mateo F, Moreno-Caceres J, Hernández-Madrugal 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.