

REPOSICIONAMIENTO DEL AGENTE ANTIPARASITARIO IVERMECTINA EN CANCER COLORRECTAL: SINERGISMO CON INHIBIDORES DE PUNTO DE CONTROL INMUNOLOGICO EN UN MODELO METASTASICO Y REFRACTARIO A TERAPIA

Sobol NT^{1;2;3}, Solernó L^{1;2;3}, Gottardo MF^{1;2;3}, Segatori VI^{1;2;3}, LLavona C^{1;2}, Yonamine K^{1;4}, Curvale C^{1;4}, Matanó R⁴, Saenz J^{1;5}, Vogel E^{1;5}, Tassi V⁵, Alonso DF^{2;3}, Garona J^{1;2;3},

¹Centro de Medicina Traslacional (Unidad 6), Hospital de Alta Complejidad “El Cruce”

²Centro de Oncología Molecular y Traslacional, Universidad Nacional de Quilmes

³CONICET

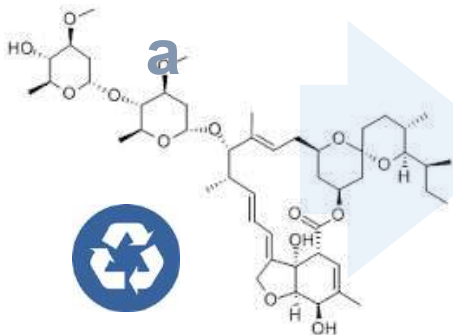
⁴Servicio de Gastroenterología, Hospital de Alta Complejidad “El Cruce”

⁵Servicio de Anatomía Patológica, Hospital de Alta Complejidad “El Cruce”.

INTRODUCCION

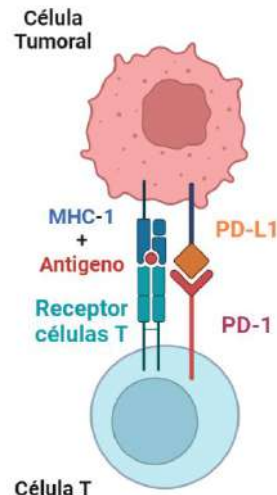
- La implementación clínica de inmunoterapia basada en **inhibidores de puntos de control o checkpoints inmunológicos (ICIs)** ha revolucionado el manejo del CCR.
- Estrategias basada en Ac monoclonales que bloquean señales que desactivan a los linfocitos T, “destrabando” su accionar antitumoral.
- **Solo pacientes** que presentan deficiencia en la maquinaria de reparación de errores tipo *mismatch* (**dMMR o MSI-H**) **responden favorablemente** al tratamiento con ICIs (≈10-20%)

Ivermectin

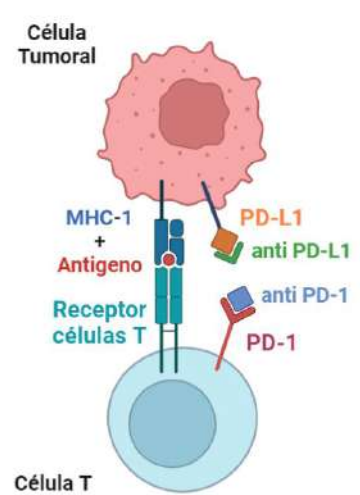


- **Quimiosensibilización (MDR)**
- **Acción angiostática**
- **Inmunopotenciación mediante inducción de muerte celular inmunogénica (ICD)**

PD-L1 se une a PD-1 e impide que la célula T destruya la célula tumoral



El bloqueo de PD-L1 o PD-1 permite que la célula T destruya la célula tumoral



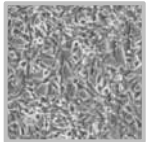
- El reposicionamiento del agente antiparasitario ivermectina (IVM) en cáncer se erige como una **estrategia terapéutica coadyuvante** de mucho interés.
- Su uso en CCR, particularmente en combinación a terapias basadas en ICIs tales como anticuerpos anti-PD-1, nunca fue explorado en profundidad.

OBJETIVOS

- El foco central del trabajo fue explorar a nivel preclínico el efecto antineoplásico *in vitro/in vivo* de la IVM en CCR
- En particular se evaluó su combinación a inmunoterapia basada en ICIs, en un modelo metastásico con respuesta limitada a quimioinmunoterapia.

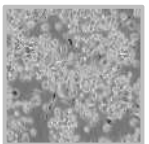
MATERIALES Y METODOS

Modelos experimentales



CT26.WT (CRL-2638)

- Línea de **carcinoma colónico** murino
- **KRAS^{mut}**, **pMMR** y **MSS**
- Metastásica (singénica para ratones **Balb/c**)
- Carga moderada de neoantígenos
- Expresa **niveles elevados de PD-L1**



J774.1 (TIB-67)

- Línea celular de **macrófagos murinos**
- Producción alta de IL-1 beta (Il1b) y citoquinas

Técnicas y protocolos

In vitro

- Crecimiento celular a alta densidad, cultivo clonogénico, quimiotaxis, ELISA y ensayos metabólicos

In vivo

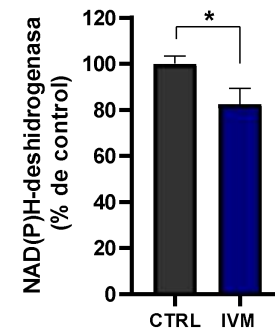
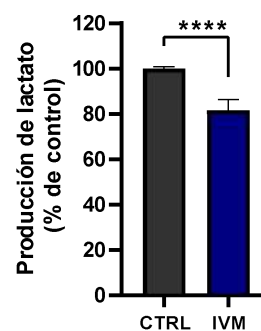
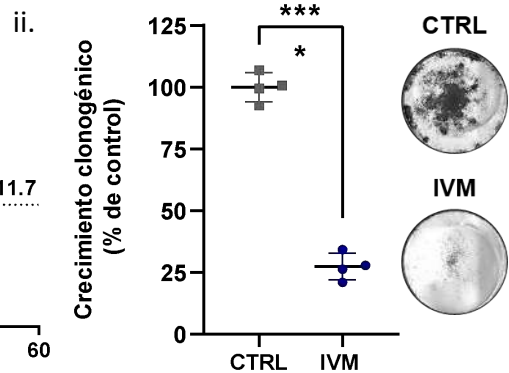
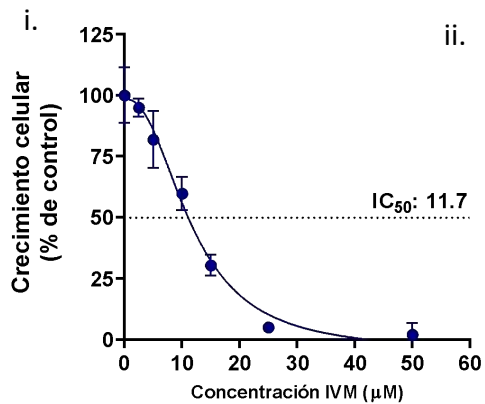
- Diseminación metastásica experimental a pulmón
- Protocolo de pre-inmunización + desafío tumoral

In sílico

- Expresión de blancos moleculares mediante plataforma bioinformática *GEPIA2* (<http://gepia2.cancer-pku.cn/>)

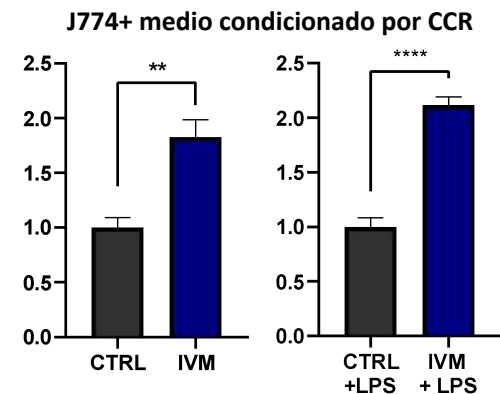
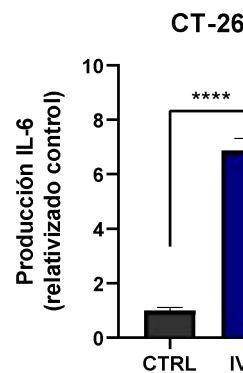
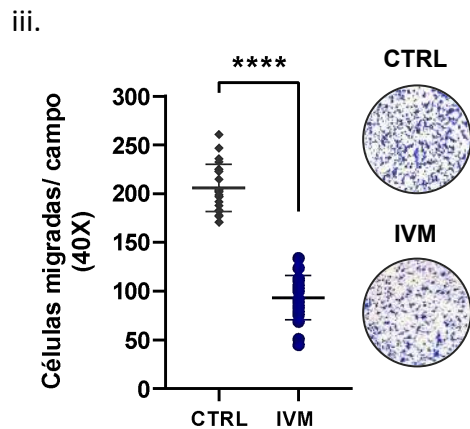
I - RESULTADOS

Actividad citostática directa de IVM sobre células Modulación metabólica e impacto sobre secreción de CT-26 IL-6



- IVM inhibe el crecimiento de células agresivas de CCR a 72 h, mostrando una elevada sensibilidad al compuesto (IC50 11,7 µM)

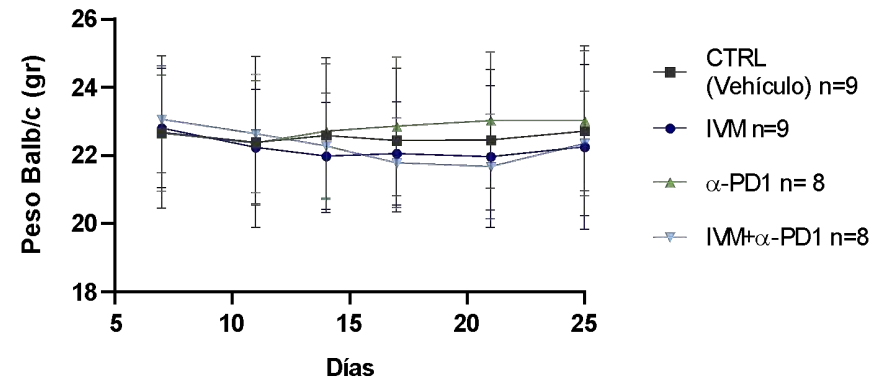
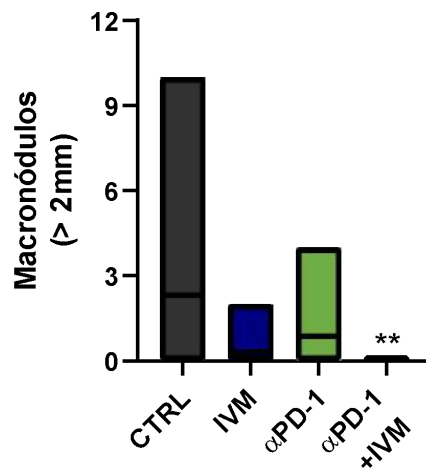
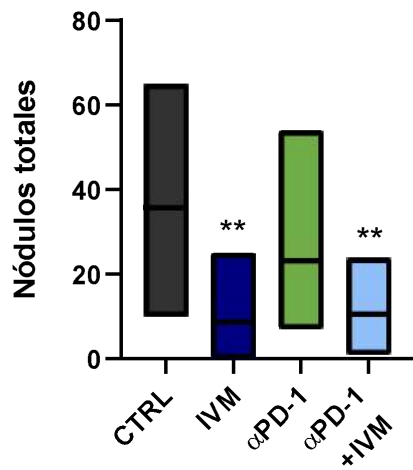
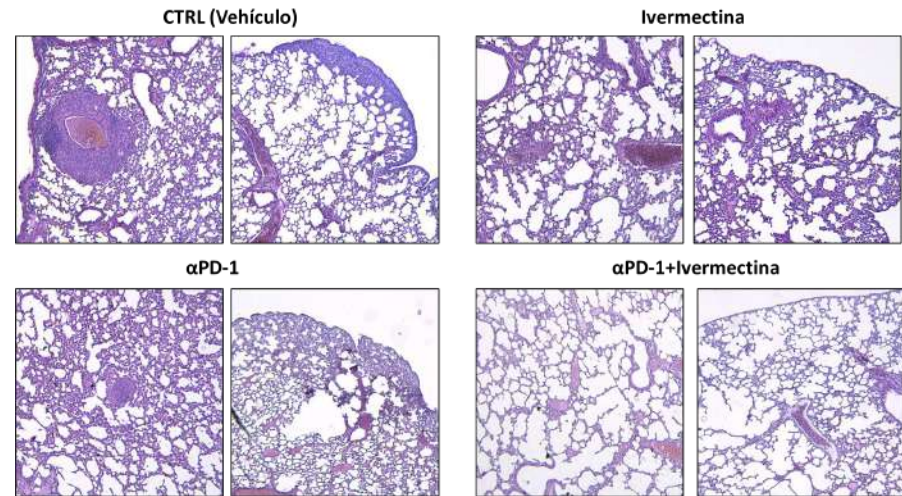
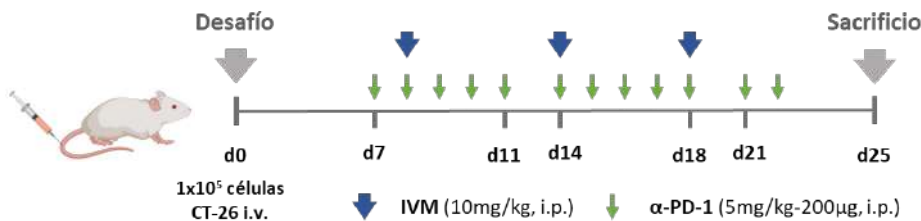
- Adicionalmente, concentraciones sub-IC50 (7,5 µM) de IVM reducen dos parámetros de agresividad relevantes tales como la formación de colonias tumorales en 2D a (7d) y la quimiotaxis celular.



- La actividad citostática de la IVM está asociada a una **reducción de la producción de lactato y de la actividad reductora mitocondrial**, incluso a tiempos a cortos de incubación (16 h).
 - IVM **incrementa significativamente la producción de IL-6** en células de CCR y macrófagos activados o expuestos a medios condicionados por tumor.

II - RESULTADOS

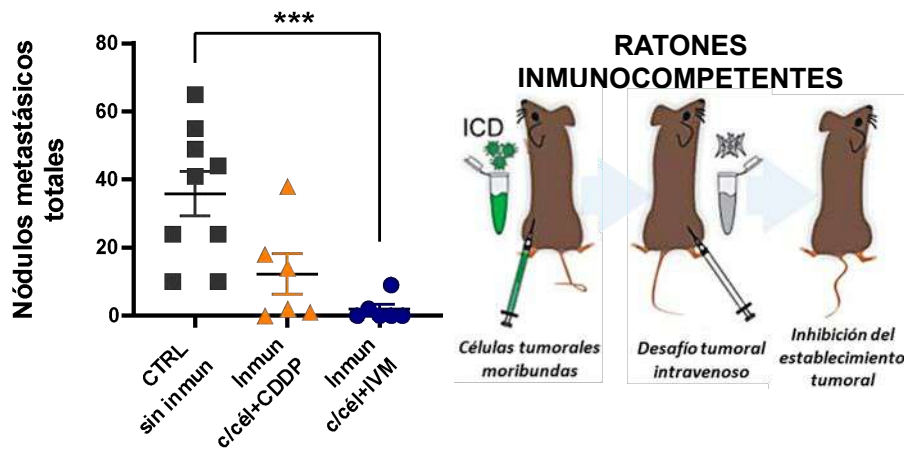
- En ratones singénicos inmunocompetentes inyectados i.v. con células CT-26 el tratamiento con IVM (10 mg/kg i.p.) en adición al ICI α -PD-1 (5 mg/kg i.p.) empleando dosis clínicamente relevantes logró inhibir por completo la presencia de macronódulos metastásicos (> 2 mm) en pulmón.
- Sorprendentemente la IVM administrada como monoterapia desplegó una robusta actividad antimetastásica.
- Todas las terapias fueron bien toleradas.



**p < 0.01 vs. control. ANOVA + Tukey's. Graphpad PRISM

III - RESULTADOS

Impacto de pre-inmunización con células de CCR tratadas con IVM a concentraciones citotóxicas sobre la colonización metastásica



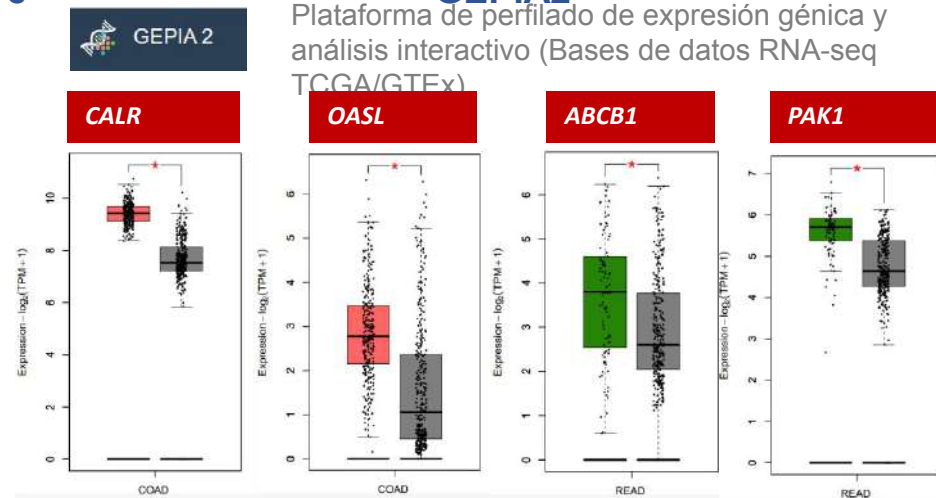
***p < 0.01 vs. control. ANOVA + Tukey's. Graphpad PRISM

- La "vacunación" o pre-inmunización s.c. con células CT-26 expuestas a concentraciones citotóxicas de IVM (100 μ M por 24 h) una semana previa a la desafío i.v. de células viables, **logró prevenir la formación de metástasis**, postulando a la ICD como posible mecanismo de acción.

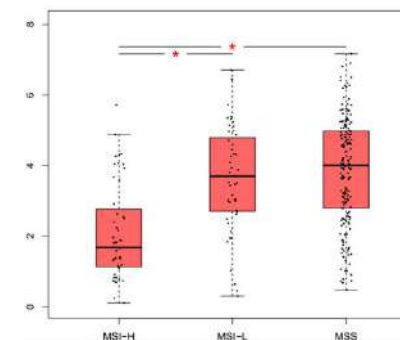
- En contraste, la pre-inmunización con células expuestas a 100 μ M de cisplatino (CCDP) un quimioterápico estándar conocido por no inducir ICD solo

Expresión de blancos moleculares de IVM en GEPIA2

Plataforma de perfilado de expresión génica y análisis interactivo (Bases de datos RNA-seq TCGA/GTEX)



ABCB1



- Mediante análisis bioinformático de transcriptómica se evidencia que **distintos blancos putativos de IVM se sobreexpresan en tejido COAD (rojo) y READ (verde) en comparación Normal (gris)**

- Dichos blancos presentan un grado de expresión comparable o en algunos casos significativamente superior al control MSI-L/MSS versus

CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS

- En conclusión, el agente reposicionado IVM podría complementar e incrementar la eficacia de la terapia basada en ICIs en tumores de CCR agresivos considerados “fríos” o de baja inmunoreactividad.
- Actualmente estamos analizando sus mecanismos de acción y marcadores de respuesta en distintos modelos de CCR pMMR
- Es necesario continuar su validación preclínica, explorando distintos esquemas de combinación con ICIs, en particular en modelos de diseminación metastásica a hígado.

AGRADECIMIENTOS Y FINANCIAMIENTO (HEC, P-UNQ, ANPCYT PICTs Y PICT AI, SALUD INVESTIGA)

