VIII SIMPOSIUM
ICAPEM
Madrid, **7** de **noviembre** de 2024
PRESENCIAL
RETRANSMITIDO EN DIRECTO

Disección de los mecanismos genéticos y moleculares de resistencia a los inhibidores tirosina quinasa en adenocarcinomas de pulmón de mujeres no fumadoras portadores de reordenamientos de *RET*

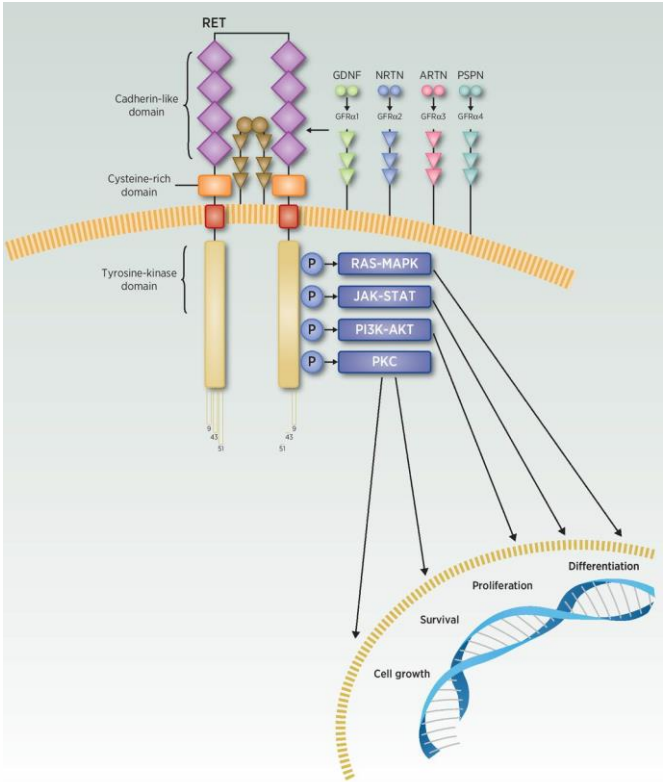
Eva Pros Simón
Instituto de Investigación contra la Leucemia Josep Carreras
BECA de Investigación Traslacional en Cáncer de Pulmón en Mujeres

RET: REarranged during Transfection

- ✓ *RET* codifica para el **receptor de membrana tirosina quinasa (TK)** de la família de ligandos (GFLs) del factor neurotrófico derivado de la glía (GDNF).

- ✓ Para la activación de RET es necesaria la formación de un complejo entre RET y un co-receptor GFR unido al ligando (GLS).

- ✓ La formación del complejo **RET-GLF-GFR promueve**:
    1. La **dimerización** de RET
    2. La **fosforilación** del dominio tirosina quinasa
    3. La **activación** de múltiples **vías de señalización celular**:
        - RAS-MAPK
        - PI3K-AKT
        - JAK-STAT
        - PKC

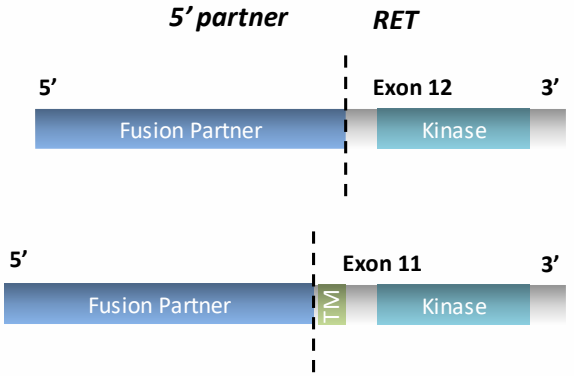


(Belli et al. Clin Cancer Res, 2020)

Activación de RET en cáncer de pulmón

- ✓ RET se encuentra activado en **1-2% de los NSCLC**, principalmente en adenocarcinomas de pacientes jóvenes, no fumadores, y mayoritariamente mujeres.

- ✓ El **mecanismo principal de activación oncogénica en NSCLC** son los reordenamientos cromosómicos que causan **fusiones de *RET***, siendo ***KIF5B-RET*** y ***CCDC6-RET*** las más comunes.



- ✓ En los últimos años se ha aprobado el uso de los dos primeros **inhibidores específicos de RET**, que presentan una elevada eficacia:
  - ❖ **Selpercatinib** (LOXO-292)
  - ❖ **Pralsetinib** (BLU-667)

- ✓ No obstante, la **aparición de resistencia a estos inhibidores** limita su efectividad a largo plazo.

Objetivo principal

Identificación de los mecanismos responsables de la resistencia al tratamiento con los inhibidores tirosina quinasa específicos de RET, selpercatinib y pralsetinib, en líneas celulares de cáncer de pulmón.

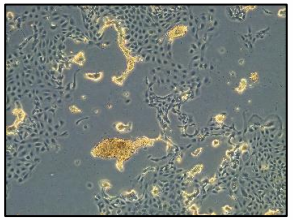
- Generación de líneas celulares de cáncer de pulmón resistentes a los inhibidores

- Determinación de las características genéticas y moleculares adquiridas por las diferentes líneas resistentes

Líneas celulares con fusiones de *RET*

LC-2/ad

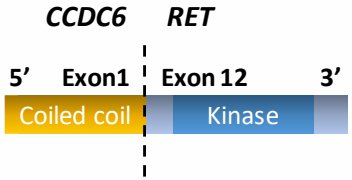
- Línea celular comercial (ECACC)
- LuAD
- Mujer
- 51y



- Establecida a partir de derrame pleural
- Morfología epitelial con formación de agregados celulares

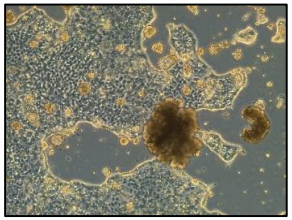
CCDC6-RET

TP53 (p.Ser241Cys)



PDC6

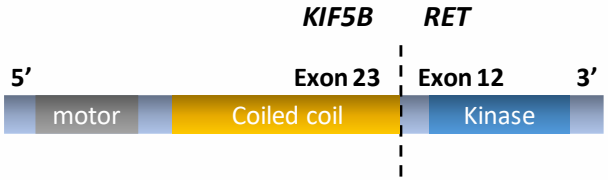
- Línea celular derivada de paciente (*Pros et al. Ann Oncol 2020*)
- LuAD
- Mujer
- 49y
- No fumadora



- Establecida a partir de derrame pleural
- Morfología epitelial con agregados celulares en supensión

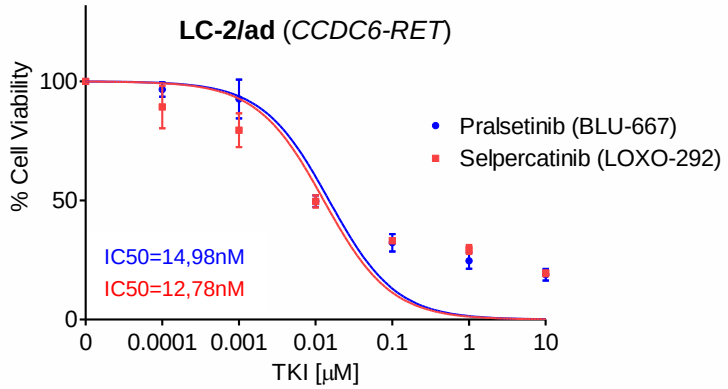
KIF5B-RET

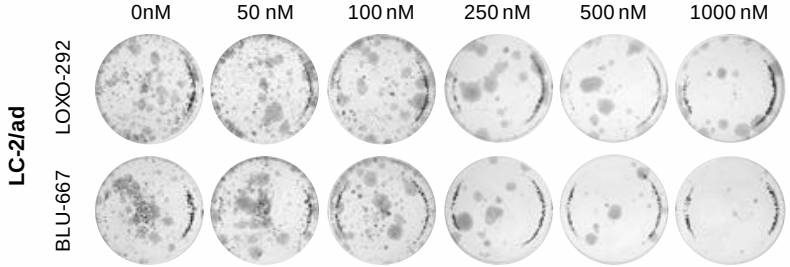
TP53 (p.Cys275Arg)



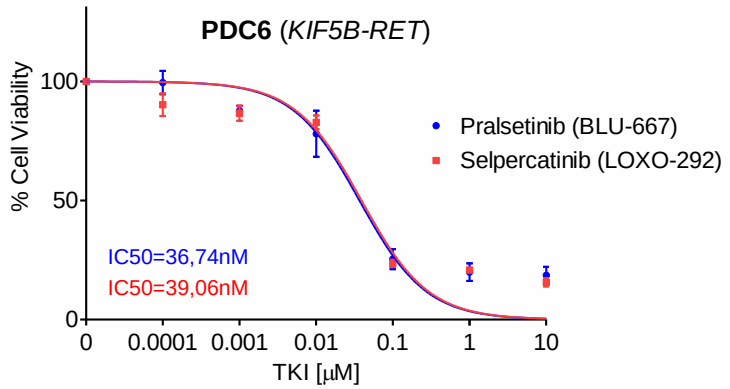
Sensibilidad a Selpercatinib y Pralsetinib

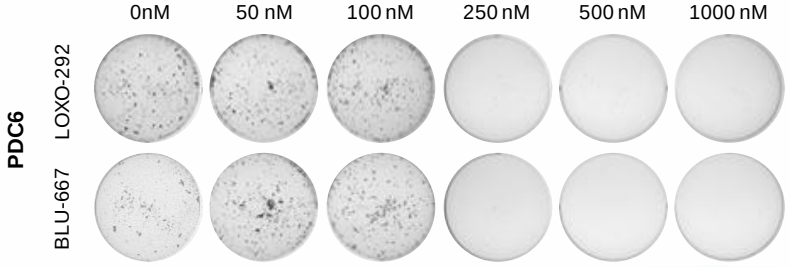
LC-2/ad





PDC6

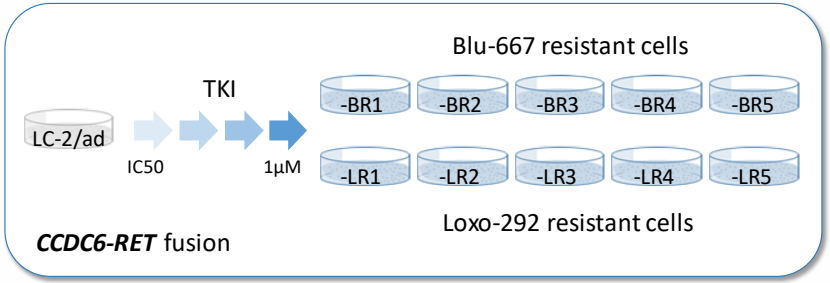


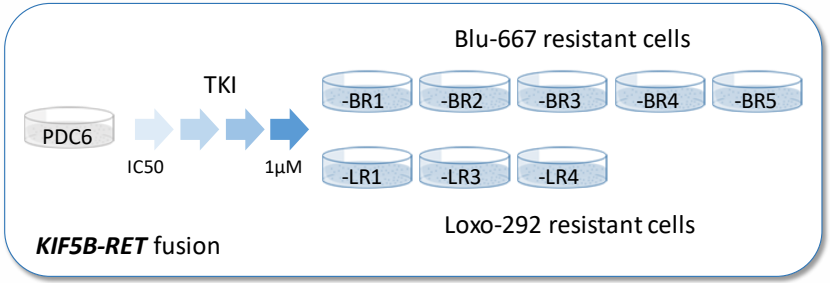


Generación de resistencia y caracterización

Generación de líneas celulares de cáncer de pulmón resistentes a selpercatinib (LOXO-292) y pralsetinib (BLU-667):

- Exponiendo las células a **concentraciones crecientes de los inhibidores** durante varios meses

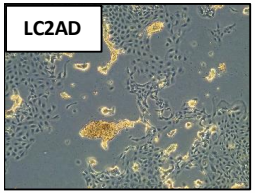


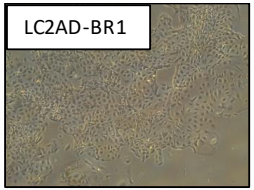


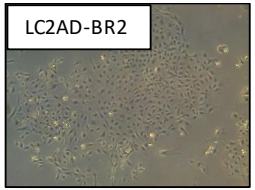
Caracterización genética y molecular de las líneas resistentes:

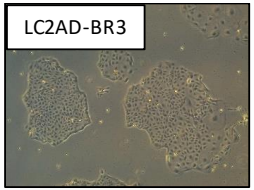
- **Vías de señalización celular** (estado de fosforilación de AKT, ERK y S6)
- **Secuenciación del Exoma** (mutaciones genéticas y variaciones en el número de copias (CNV))
- **Secuenciación del mRNA** (fusiones y expresión)

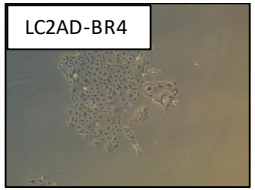
Diferencias en la morfología y la velocidad de crecimiento

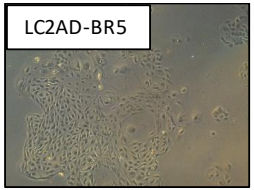


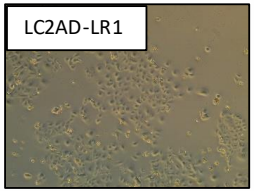


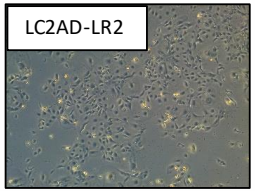


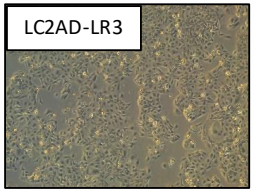


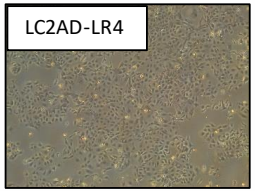


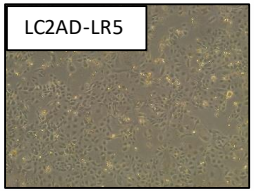


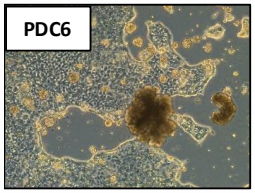


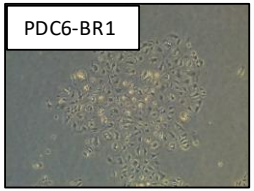


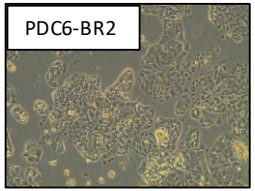


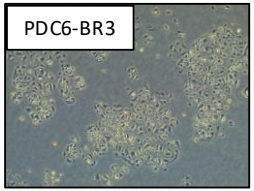


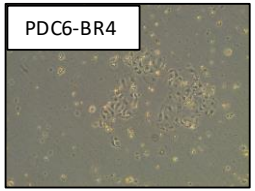


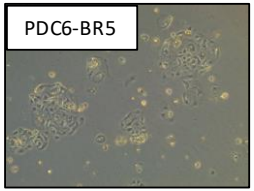


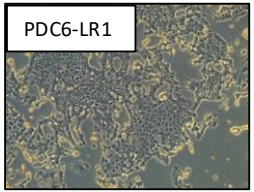


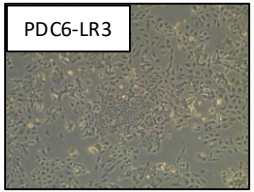


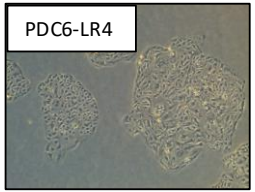






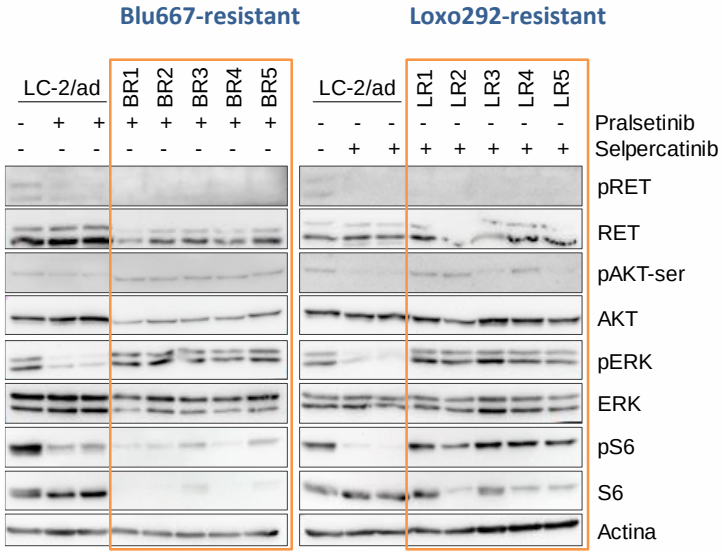






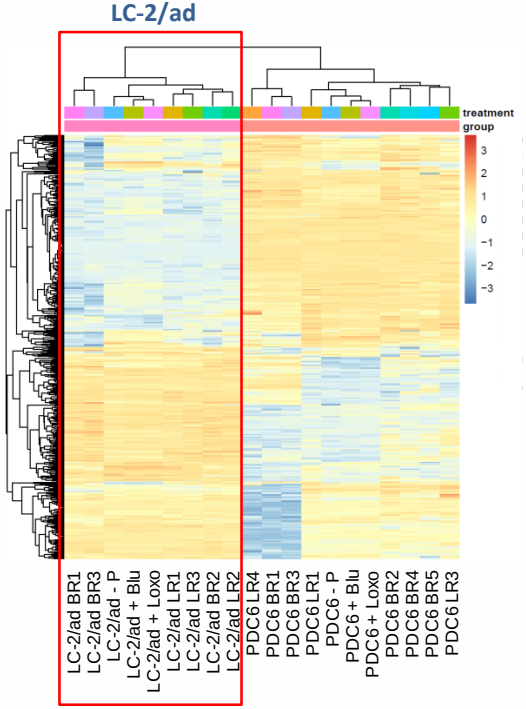
Mecanismos de resistencia en LC-2/ad (*CCDC6-RET*)

Vías de señalización celular



✓ **Re-activación** de **AKT**, **ERK** y **S6** en todas las resistentes

Perfil de expresión



✓ Perfil de expresión similar

Perfil mutacional

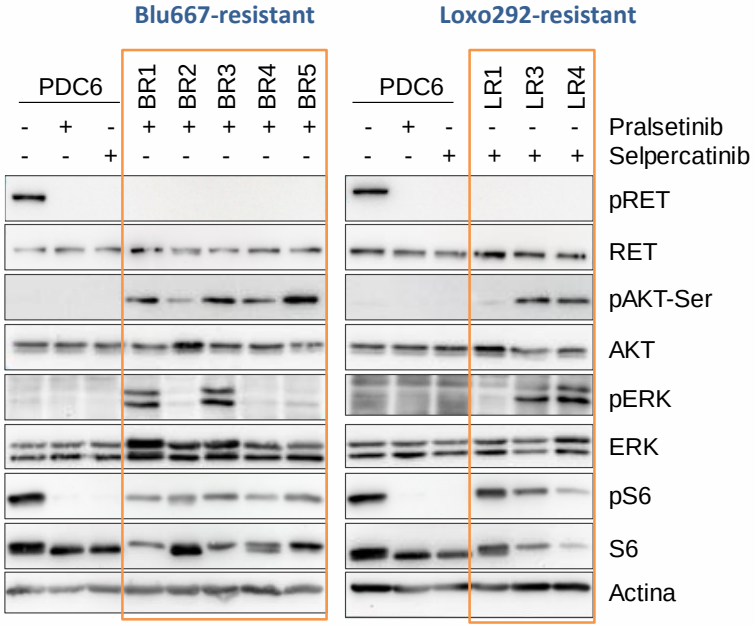
✓ No mutaciones en *RET (on-target)*

✓ **Alteraciones genéticas de significado desconocido**, en genes no asociados previamente con la resistencia a TKIs

✓ **Mecanismos de resistencia** asociados a la **activación de AKT, ERK y S6**

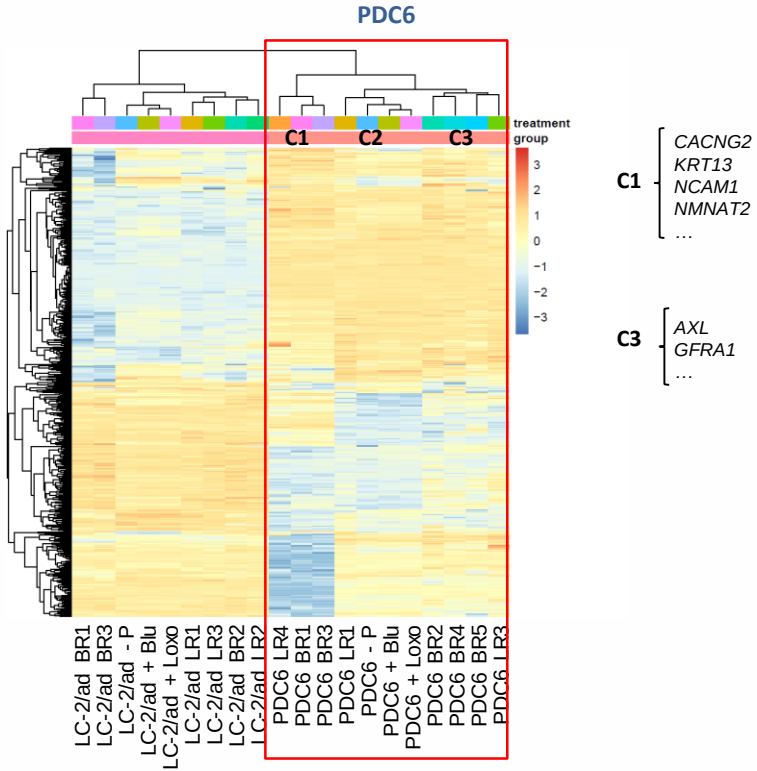
Mecanismos de resistencia en PDC6 (*KIF5B-RET*)

Vías de señalización celular



- ✓ Activación *de novo* de AKT en la mayoría de las resistentes
- ✓ Activación *de novo* de ERK en algunas resistentes
- ✓ Re-activación de S6 en todas las resistentes

Perfil de expresión

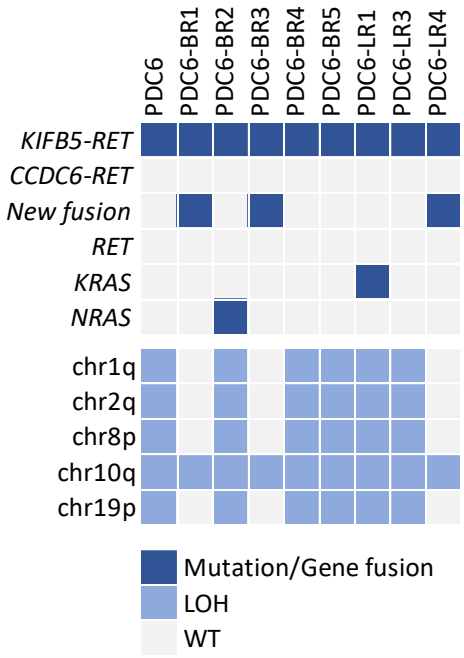


C1
- *CACNG2*
- *KRT13*
- *NCAM1*
- *NMNAT2*
- …

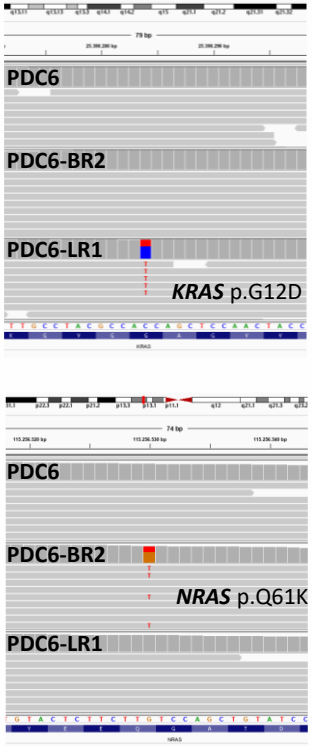
C3
- *AXL*
- *GFRA1*
- …

Mecanismos de resistencia en PDC6 (*KIF5B-RET*)

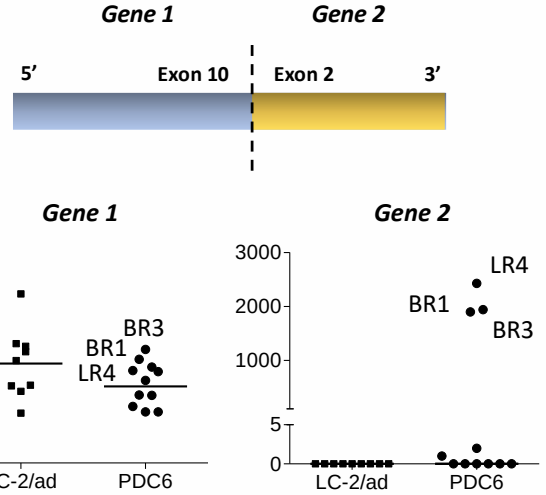
Perfil mutacional

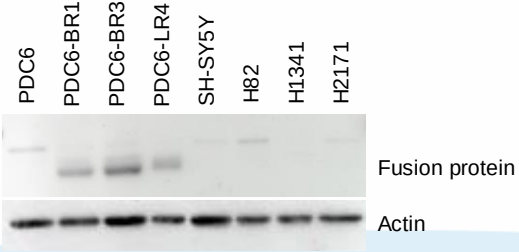


✓ ***KRAS*** (p.G12D) en PDC6-LR1
✓ ***NRAS*** (p.Q61K) en PDC6-BR2



✓ **Nueva fusión** en PDC6-BR1, -BR3 y -LR4





✓ **No mutaciones en *RET*** (*on-target*)

Conclusiones

- ✓Todas las líneas resistentes a selpercatinib y pralsetinib se asociaron a una activación de AKT, y en algunos casos también a activación de ERK.

- ✓No se han identificado mecanismos de resistencia *on-target*, pero sí mecanismos de resistencia *off-target* (*KRAS* y *NRAS*) en dos clones.

- ✓Se ha identificado una nueva fusión que podría ser un mecanismo de resistencia en algunos de los modelos.

- ✓La aparición de diferentes alteraciones genéticas en distintos clones de una misma línea celular indicaría la existencia de mecanismos de resistencia simultáneos en un mismo tumor.

¡MUCHAS GRACIAS!

Cancer genetics Group

Isabel Bartolessis
Marc Cucurull
Ana Cristina Díaz
Juan Morillas
Pablo Navajas-Chocarro
Eva Pros
Octavio Romero
Montse Sánchez-Céspedes

ICO-Badalona

Maria Saigí
Marc Cucurull

Josep Carreras LEUKAEMIA Research Institute
Institució CERCA Centres de Recerca de Catalunya
ICAPEM ASOCIACIÓN PARA LA INVESTIGACIÓN DEL CÁNCER DE PULMÓN EN MUJERES
cnag
ICO Institut Català d'Oncologia