



## P-28 - ESTUDIO DEL PERFIL METABOLÓMICO DE CÉLULAS MIELOIDES SUPRESORAS CIRCULANTES E INFILTRANTES DE PACIENTES CON CÁNCER DE PULMÓN NO MICROCÍTICO

Galbis, J.<sup>1</sup>; Piquerias, M.<sup>2</sup>; Benet, M.<sup>2</sup>; Cremades, A.<sup>1</sup>; Alcacer, J.<sup>3</sup>; Estors, M.<sup>1</sup>; Suai, G.<sup>2</sup>; Martínez, N.<sup>1</sup>; Carretero, J.<sup>4</sup>; Lahoz, A.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Hospital Universitario de La Ribera, Valencia; <sup>2</sup>Instituto de Investigación Sanitaria La Fe, Valencia; <sup>3</sup>Hospital Quiron Valencia, Valencia; <sup>4</sup>Departamento de Fisiología. Facultad de Farmacia. Universidad de Valencia, Valencia.

### Resumen

**Introducción:** El sistema inmune desempeña un papel fundamental en el control de la progresión tumoral. Sin embargo, en el microambiente tumoral se producen distintos eventos moleculares y celulares que promueven el escape inmunitario. Entre ellos, se sabe que las células mieloides supresoras (*Myeloid-Derived Suppressor Cells [MDSC]*) limitan la actividad antitumoral de los linfocitos-T mediante la depleción de aminoácidos necesarios para su activación, como la arginina.

**Objetivos:** Comparar el perfil metabólico y transcriptómico de las células MDSC circulantes (cMDSC) e infiltrantes de tumor (tMDSC) para en un futuro proponer intervenciones metabólicas (restricción de nutrientes, inhibidores de enzimas o transportadores metabólicos...) que inhiban el efecto inmunosupresor de las MDSC.

**Métodos:** Se trata de un estudio observacional prospectivo preliminar llevado a cabo con muestras pareadas de biopsias de tumor y sangre periférica de cuatro pacientes con cáncer de pulmón no microcítico (CPNM, I-II). Las MDSC son un grupo heterogéneo de células que fenotípicamente se caracterizan por ser CD33+ CD11b+ y HLA-DR-. El aislamiento de cMDSC y tMDSC se realizó mediante clasificación de células activadas por fluorescencia (“Sorting”, FACS). Una vez obtenidas las MDSC, se caracterizaron por citometría de flujo y mediante cocultivos con linfocitos CD8+ para confirmar su efecto inmunosupresor. A continuación, se estudió en paralelo el perfil expresión de genes involucrados en su efecto inmunosupresor (i.e., *ARG1*, *IDO1* y *PD-L1*) y su perfil metabolómico mediante una plataforma de espectrometría de masas acoplada a cromatografía líquida.

**Resultados:** El análisis por citometría de flujo reveló la pureza de las MDSC aisladas tanto de sangre periférica como de tumor, siendo el porcentaje de células CD33+ CD11b+ HLA-DR- respecto a la celularidad total de la muestra superior al 50% para ambos grupos. Asimismo, los cocultivos de tMDSC con linfocitos CD8+ demostraron su capacidad inmunosupresora (proliferación CD8+ activados,  $58,37\% \pm 16,85$  vs. proliferación CD8+ activados en presencia de tMDSC,  $33,03\% \pm 14,12$ ), siendo estas diferencias estadísticamente significativas (prueba T de Student, p-valor = 0,033). Por el contrario, las cMDSC no mostraron actividad inhibitoria sobre la proliferación de los CD8+. Una vez confirmado el fenotipo de las cMDSC y tMDSC y su actividad inmunosupresora, se midió por RT-qPCR la expresión de ciertos genes relacionados con la inmunosupresión, como son *ARG1*, *IDO1* y *PD-L1*. Se observaron perfiles de expresión génica diferentes, siendo la expresión de *ARG1* superior en cMDSC mientras que las tMDSC mostraron

mayores niveles de expresión de *IDO1* y *PD-L1*. Por último, se estudió el perfil metabolómico de las cMDSC y tMDSC, donde se observaron niveles superiores en tMDSC de metabolitos como la metionina sulfóxido, hipoxantina o quinurenina, este último directamente relacionado con el metabolismo del triptófano e *IDO1*.

**Conclusiones:** Nuestros resultados muestran que existe un patrón diferencial metabolómico y de expresión génica entre las cMDSC y las tMDSC de pacientes con CPNM, lo que sugiere que el microambiente tumoral juega un papel importante en la reprogramación metabólica de las tMDSC, así como en la expresión de genes clave involucrados en su efecto inmunosupresor, probablemente a través de interacciones celulares, así como por la presencia de citoquinas y otros factores solubles.