

RESUMEN

El sistema inmunológico contribuye activamente al proceso de oncogénesis. No obstante, el campo de la inmuno-oncología está en constante evolución, debido a la heterogeneidad tumoral y la plasticidad de las células inmunitarias que participan en este proceso. Existen evidencias que indican que las células tumorales pueden crear un microambiente inmunosupresor favoreciendo el desarrollo y la propagación del tumor. En esta tesis, buscamos profundizar en el estudio del microambiente inmunitario del tumor (TME), lo que resultaría en una mejor caracterización del contexto inmunológico de los pacientes y la búsqueda de nuevos biomarcadores en el cáncer de pulmón.

En esta tesis, se emplearon cultivos derivados de pacientes con cáncer de pulmón de células no pequeñas (CPNM) en etapa temprana, y líneas celulares comerciales para ensayos de formación de tumoresferas para enriquecimiento de células madre cancerosas y condiciones adherentes como control. Utilizando la técnica de RT-qPCR, se analizaron los perfiles de expresión génica de diversos factores inmunorreguladores, observándose una mayor expresión de la mayoría de ellos en las tumoresferas en comparación con las células adherentes. Junto con los perfiles de secreción, la Galectina-3 (GAL3 o *LGALS3* cuando se referencian la proteína o el gen, respectivamente) se seleccionó como la molécula que podría tener una fuerte implicación en la modulación del TME. El análisis de electrotransferencia, citometría de flujo y de inmunofluorescencia confirmaron que la GAL3 aumentaba consistentemente en las tumoresferas de cultivos de adenocarcinoma (ADC) y mostraba patrones de localización y expresión diferencial. Las vesículas extracelulares procedentes de tumoresferas también exhibieron niveles altos de *LGALS3*. Además, revelamos que la GAL3 podría desempeñar un papel crucial como molécula inmunomoduladora expresada y secretada en el TME, modulando la inmunosupresión a través de las células T reguladoras (T_{REGS}). Esto se confirmó en muestras tumorales de pacientes, donde los niveles de expresión altos de *LGALS3*, se correlacionaron con mayores niveles de T_{REGS}, lo que sugiere que los tumores pueden reclutar esta población a través de la GAL3. Posteriormente, se evaluaron los roles pronósticos y diagnósticos de la GAL3 soluble (sGAL3) y otros factores inmunorreguladores (sICOSL, sFGL1, sGAL1, sMICA, sMICB, sCD276) en una cohorte de 94 pacientes con CPNM en estadios tempranos resecables proveniente del Consorcio

Hospital General Universitario de Valencia (CHGUV) (cohorte test). En el análisis de curva ROC, sFGL1, sGAL3 y su combinación mostraron una eficacia diagnóstica óptima para los pacientes con CPNM. El análisis de regresión de Cox reveló una asociación entre sGAL3 y el pronóstico. Además, el análisis de supervivencia de Kaplan-Meier demostró que, en la sub-cohorte de ADC en estadio temprano, los pacientes con niveles altos de sGAL3 experimentaron una supervivencia libre de recaída (SLR) [29,70 vs. 125,47 meses, $p=0,048$] y una supervivencia global (SG) más corta [29,70 vs. no alcanzada (NA) meses, $p=0,021$], mientras que no se observó ninguna asociación en la sub-cohorte de pacientes con carcinoma de células escamosas (CCE). El análisis multivariante indicó que sGAL3 podría ser un biomarcador pronóstico independiente para SLR y SG. La expresión génica de nuestro panel de factores inmunoreguladores también se analizó en un grupo independiente de 661 pacientes de TCGA (cohorte de validación), confirmando el valor pronóstico independiente de *LGALS3* en la sub-cohorte de ADC para SLR [23,74 vs. 37,6 meses, $p=0,021$] y SG [40,49 vs. 103,90 meses, $p=0,004$].

El papel diagnóstico, predictivo y pronóstico de estos factores también se evaluó en muestras de plasma en el momento basal (PRE) y en la evaluación de la primera respuesta (FR) en una cohorte de 52 pacientes con CPNM en estadio avanzado procedente del CHGUV tratados en primera línea con pembrolizumab. En el análisis de curva ROC, sFGL1, sGAL3 y su combinación se nuevo ofrecieron una eficacia diagnóstica óptima para esta cohorte de pacientes. La prueba de Mann-Whitney reveló que sGAL3 en FR y sMICB en PRE y FR estaban asociados con un beneficio clínico en toda la cohorte y en la subcohorte de ADC. sCD276 también se asoció con la respuesta global en toda la cohorte y en la sub-cohorte de ADC. Un análisis de regresión de Cox identificó a sMICB en FR como un biomarcador independiente para la supervivencia libre de progresión (SLP) en toda la cohorte y para SLP y SG en la sub-cohorte de ADC. Además, sGAL3 en PRE se encontró como un biomarcador independiente para SLP y SG en toda la cohorte y en FR se identificó como biomarcador independiente para SG en la sub-cohorte ADC. Una disminución en los niveles de sGAL3 en los pacientes en tratamiento se asoció con una reducción en la SG en toda la cohorte. En conclusión, nuestros hallazgos proporcionan información diagnóstica, pronóstica y predictiva relevante del rol de la GAL3 y otros factores inmunoreguladores para los pacientes con cáncer de pulmón y sirven como base para el desarrollo de nuevos biomarcadores y terapias.