

RESUMEN

INTRODUCCIÓN:

En la hipertensión pulmonar (HP) y en la enfermedad pulmonar intersticial (EPI), la fibrosis contribuye tanto al remodelado vascular pulmonar como al parenquimatoso. En el desarrollo clínico de la HAP y de la EPI-HP, seralutinib es un potente inhibidor inhalado de las quinasas PDGFR α / β , CSF1R y c-KIT. En el estudio fase 2 TORREY (NCT04456998) en pacientes con HP del Grupo 1, seralutinib redujo biomarcadores circulantes de fibrosis, incluyendo colágeno 1a1.

OBJETIVO:

Evaluar si seralutinib inhibe la fibrosis establecida en cortes pulmonares de precisión (PCLS) y fibroblastos pulmonares humanos (HLF) obtenidos de pacientes con fibrosis pulmonar idiopática (FPI).

MÉTODOS:

Se cultivaron PCLS de dos donantes con FPI y se trataron durante 4 días con vehículo, seralutinib (0.1–10 μ M) o nintedanib (1 μ M). Se recolectaron sobrenadantes y se evaluaron marcadores profibróticos.

El efecto antifibrótico también se estudió en fibroblastos pulmonares de pacientes con FPI bajo los mismos tratamientos. La significancia estadística se determinó mediante ANOVA de una cola con $p < 0.05$.

RESULTADOS:

Los PCLS de ambos donantes con FPI liberaron constitutivamente marcadores profibróticos. Seralutinib redujo de manera dosis-dependiente procolágeno 1a1, fibronectina, MMP3, TIMP1 y MCP1. Esta reducción igualó o superó la de nintedanib en concentraciones clínicamente relevantes en ambos PCLS. En el ensayo con HLF, seralutinib inhibió significativamente la liberación de procolágeno 1a1 y MCP1 de forma dosis-dependiente. Además, seralutinib inhibió la expresión de ARNm y de la proteína de α SMA, marcador de la activación de los miofibroblastos.

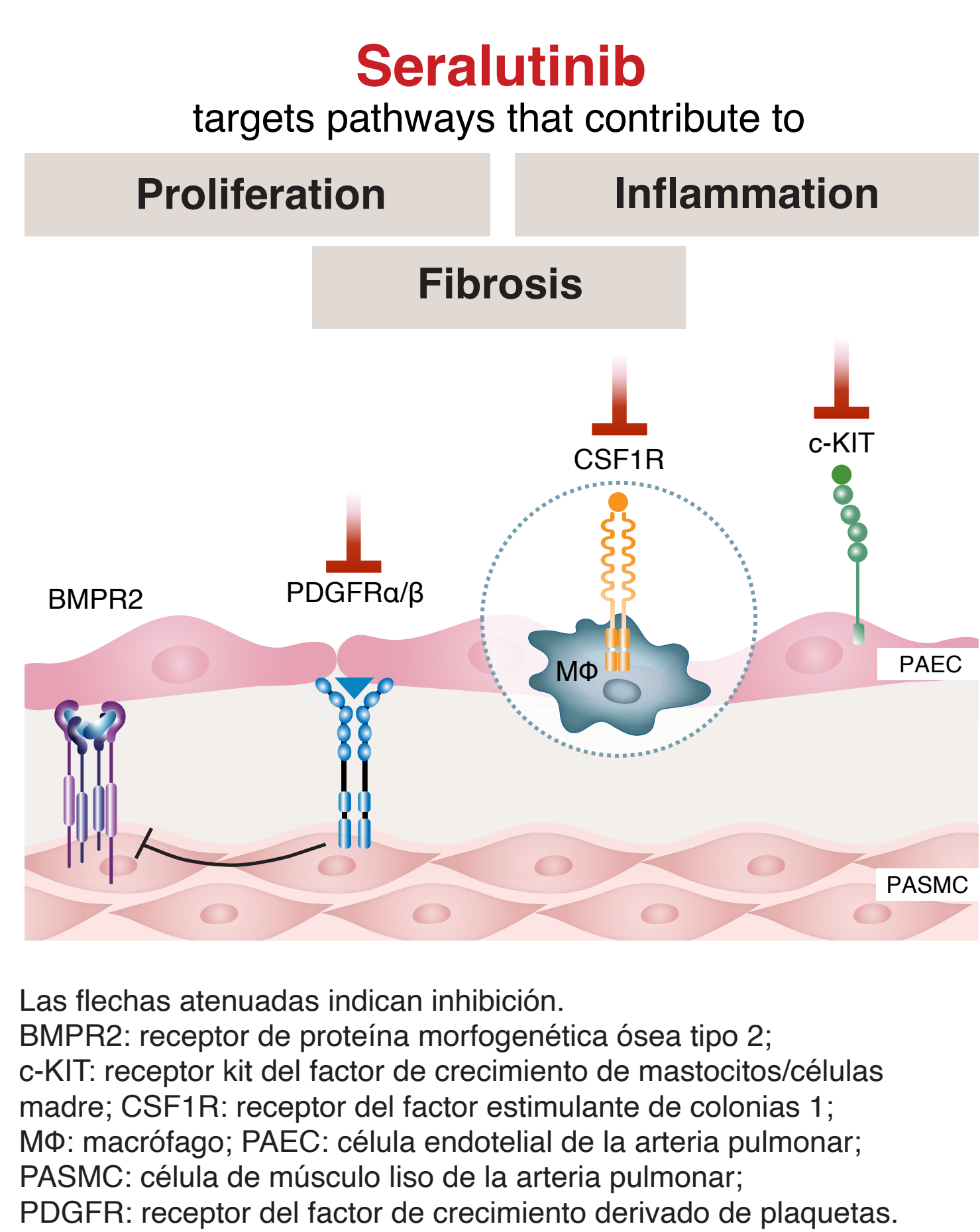
CONCLUSIONES:

Estos datos respaldan la investigación de seralutinib como una posible opción de tratamiento inhalado para enfermedades caracterizadas por fibrosis vascular pulmonar e intersticial como la HP y otras EPIs.

ANTECEDENTES

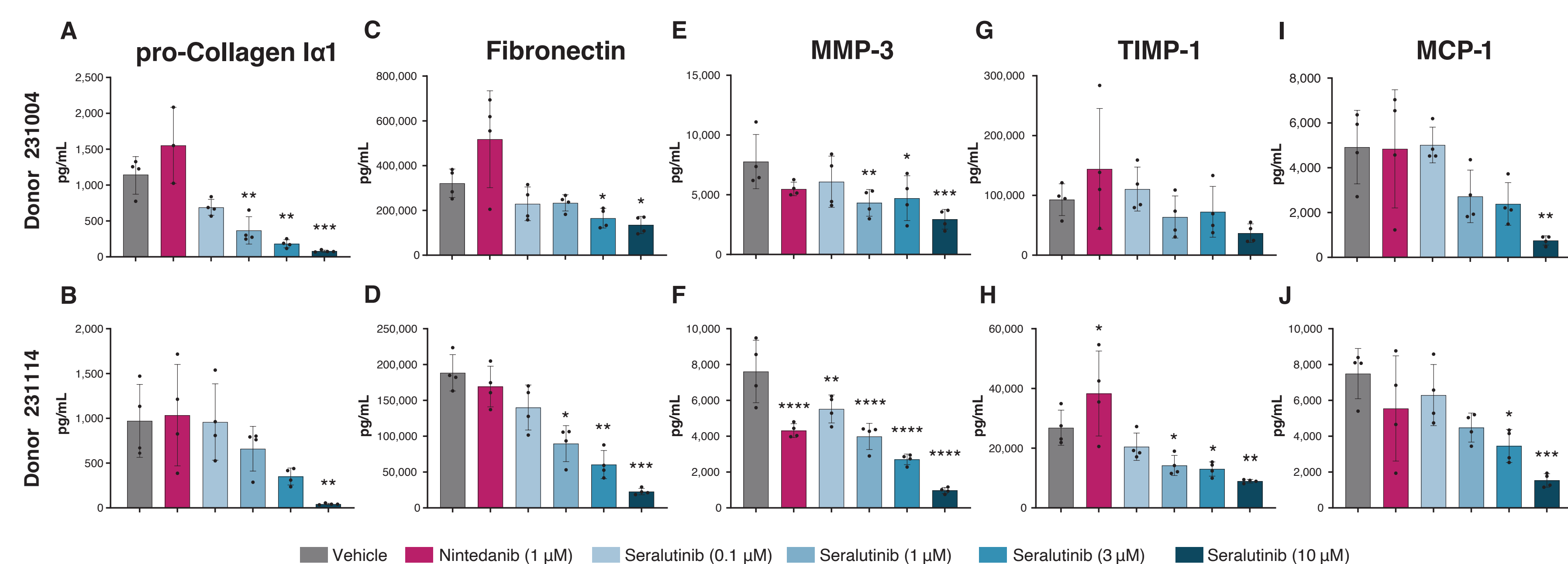
- La fibrosis contribuye tanto a la remodelación vascular pulmonar como a la remodelación del parénquima en la hipertensión pulmonar (PH) y en la enfermedad pulmonar intersticial (ILD)¹
- Seralutinib es un potente inhibidor inhalado de las quinasas PDGFR α / β , CSF1R y c-KIT, en desarrollo clínico para la hipertensión arterial pulmonar (PAH) y PH-ILD^{2,3} (Figura 1)
- En el estudio TORREY de fase 2 (NCT04456998) en pacientes con PH del Grupo 1, seralutinib redujo biomarcadores fibróticos circulantes, incluido colágeno 1a1^{4,5}
- Examinamos si seralutinib inhibe la fibrosis establecida en rebanadas de pulmón de corte de precisión (PCLS) derivadas de pacientes con fibrosis pulmonar idiopática (IPF) y en fibroblastos pulmonares humanos (HLF)

Figura 1. Mecanismo de acción de seralutinib



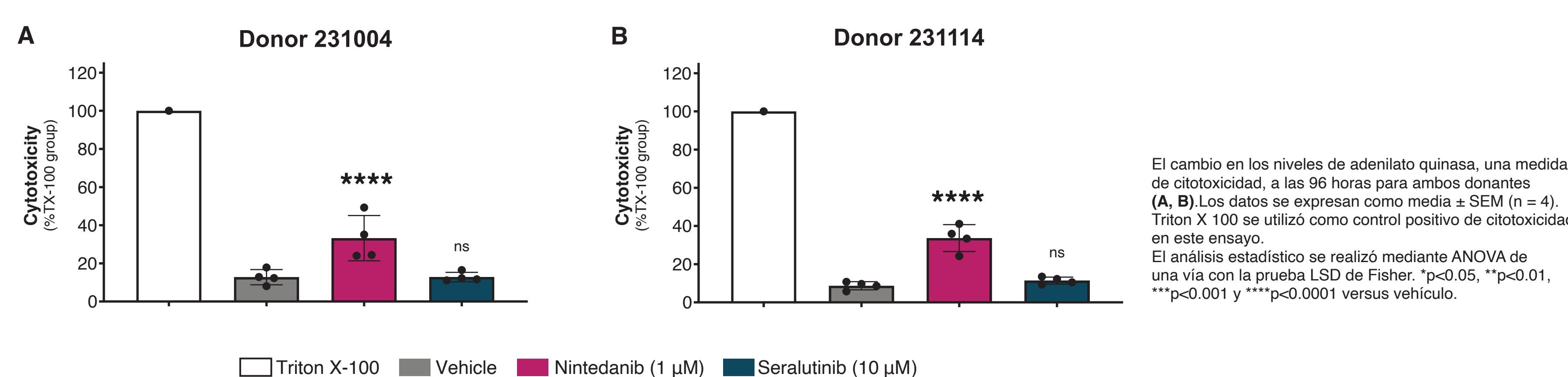
RESULTADOS

Figura 4. Seralutinib inhibió la liberación de marcadores profibróticos en IPF-hPCLS



Los gráficos muestran el efecto del control con vehículo, seralutinib y nintedanib sobre la liberación de los marcadores profibróticos pro-colágeno 1a1 (A, B), fibronectina (C, D), MMP-3 (E, F), TIMP-1 (G, H) y MCP-1 (I, J) secretados por IPF-hPCLS a las 96 horas para ambos donantes evaluados. Los datos se expresan como media \pm SEM (n = 4). El análisis estadístico se realizó mediante ANOVA de una vía con la prueba LSD de Fisher. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$ versus vehículo.

Figura 5. Seralutinib no indujo citotoxicidad a concentraciones clínicamente relevantes en IPF-hPCLS

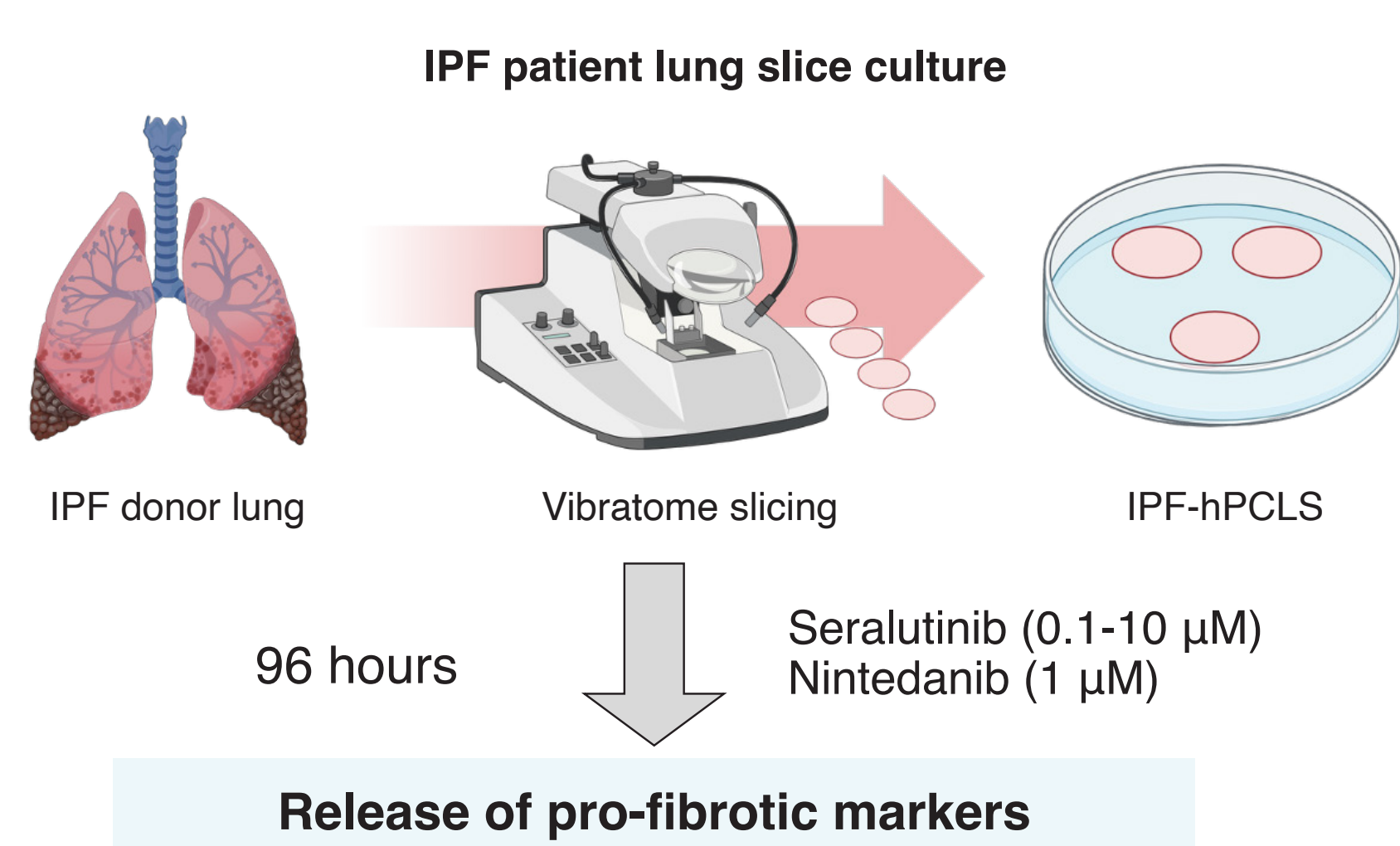


MÉTODOS

Efecto de seralutinib sobre la liberación de marcadores profibróticos en cultivos de PCLS humanos (h) de IPF

- Se cultivaron PCLS de dos donantes con fibrosis pulmonar idiopática (IPF) y se trataron durante 4 días con vehículo, seralutinib (0.1–10 μ M) o nintedanib (1 μ M)⁶
- Los sobrenadantes se recolectaron a las 96 h y los marcadores profibróticos se evaluaron utilizando un panel personalizado de Luminex. La citotoxicidad se evaluó mediante un ensayo de adenilato quinasa

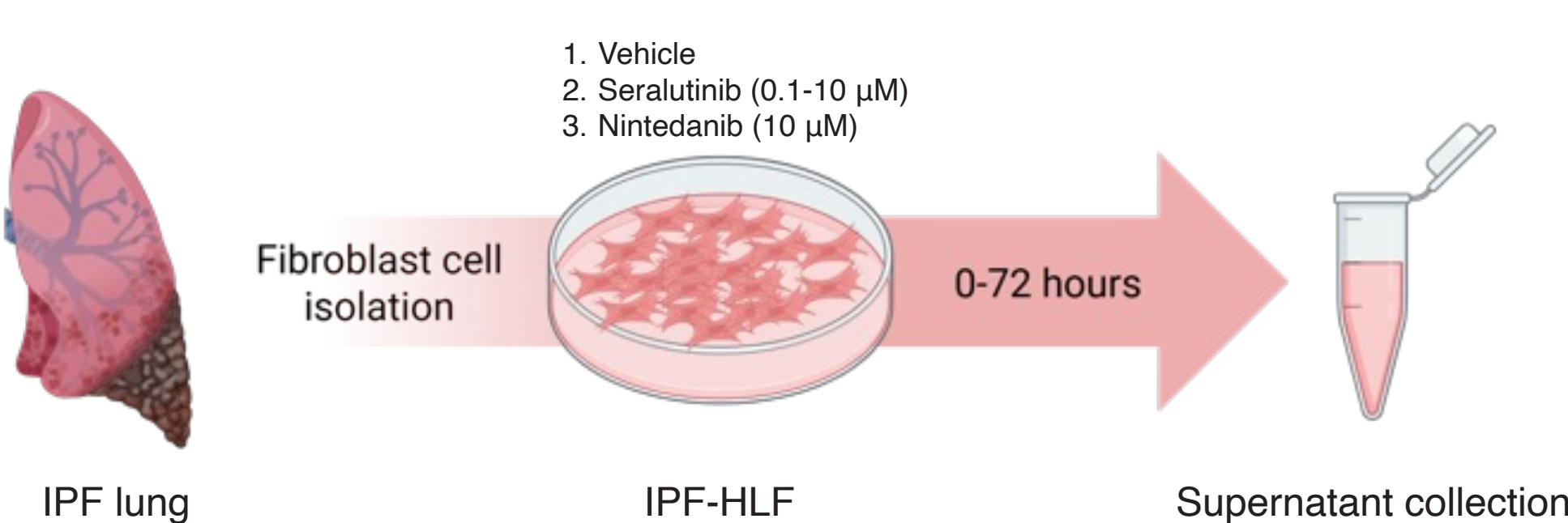
Figura 2. Configuración experimental de IPF-hPCLS



Efecto de seralutinib sobre la liberación de marcadores profibróticos en IPF-HLF

- Los HLF de IPF provenientes de tres donantes independientes se trataron con vehículo, seralutinib (0.1–10 μ M) o nintedanib (10 μ M) durante 24, 48 y 72 horas
- Se recolectaron los sobrenadantes en cada punto temporal y los marcadores profibróticos se evaluaron mediante un panel personalizado de Luminex

Figura 3. Configuración experimental de IPF-HLF



Efecto de seralutinib sobre la transición de fibroblasto a miofibroblasto en IPF-HLF

- Los HLF de IPF se pretrataron con seralutinib (0.1–10 μ M) o nintedanib (3 μ M) y se estimularon con 10 ng/mL de TGF- β durante 72 horas
- Los niveles de expresión del gen de alfa actina de músculo liso (α -SMA) se determinaron mediante PCR cuantitativa y la expresión de proteína se evaluó mediante tinción por inmunofluorescencia

Figura 6. Seralutinib disminuyó de manera dependiente de la dosis la liberación de marcadores fibróticos en IPF-HLF

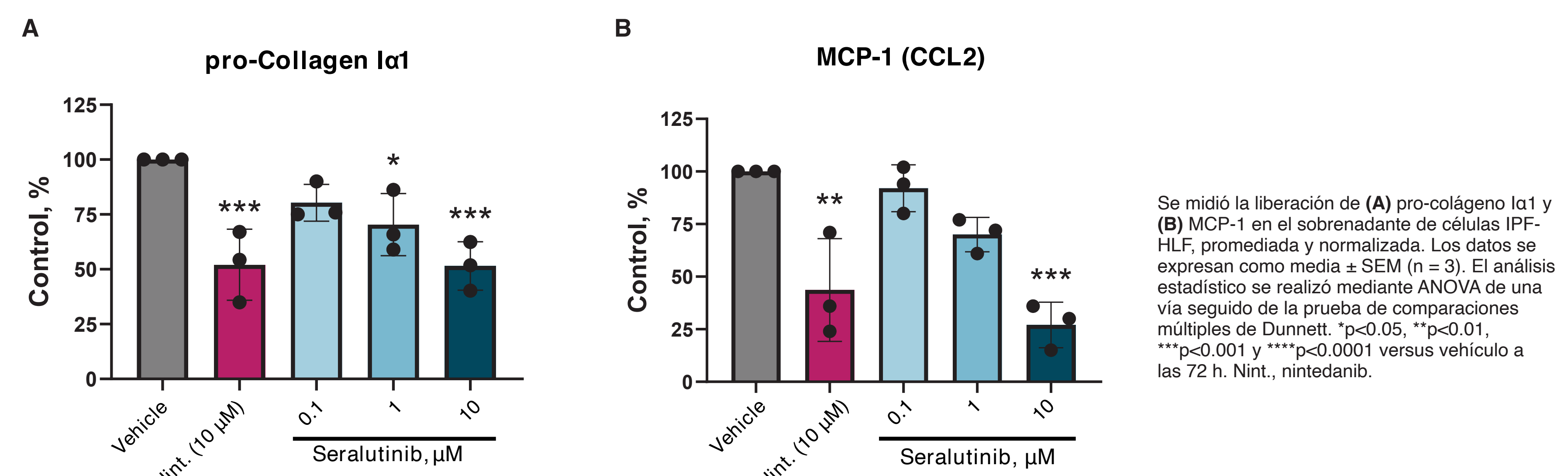
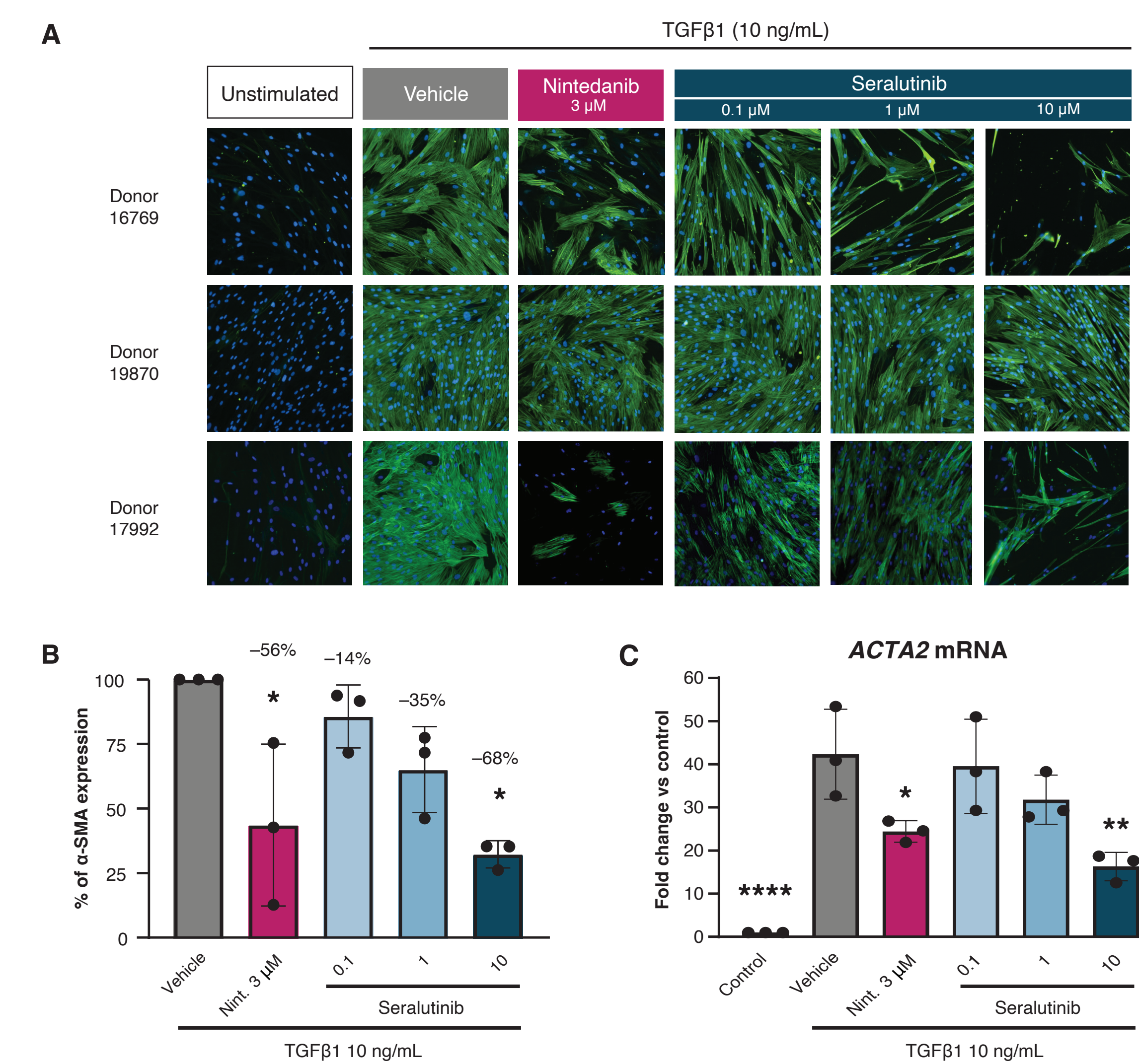


Figura 7. Seralutinib inhibió la α SMA inducida por TGF- β en IPF-HLF



CONCLUSIONES

- Seralutinib disminuyó de manera dependiente de la dosis los niveles de pro-colágeno 1a1, fibronectina, MMP-3, TIMP-1 y MCP-1 en IPF hPCLS, sin observarse citotoxicidad
- En IPF-HLF, seralutinib inhibió significativamente la liberación de pro-colágeno 1a1 y MCP-1, así como la expresión de α -SMA inducida por TGF- β , de manera dependiente de la dosis
- Estos datos respaldan la investigación de seralutinib como una posible opción de tratamiento inhalado para enfermedades caracterizadas por fibrosis pulmonar vascular e intersticial subyacente

