



FACULTAD DE FARMACIA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE

TRABAJO FIN DE GRADO
ESTADO ACTUAL DE LA INMUNOTERAPIA
EN CÁNCER

Autor: Celia Amil Manjón

Fecha: Junio 2019

Tutor: Luis Miguel Bedoya del Olmo

Índice

Resumen	3
1. Introducción y antecedentes	3
2. Objetivos	5
3. Metodología.....	6
4. Resultados y discusión	6
Efectos adversos.....	7
Factores condicionantes de la respuesta.....	8
Predicción de la respuesta y biomarcadores	10
Terapias combinadas	13
Nuevas moléculas coestimuladoras	15
5. Conclusiones	16
6. Bibliografía.....	17

Resumen

La inmunoterapia, especialmente aquella basada en la inhibición de las moléculas que bloquean la coestimulación de los linfocitos, con fármacos frente a CTLA-4, PD-1 y PD-L1, ha supuesto en los últimos años un gran avance en el tratamiento de muchos tipos de cáncer, entre los que destaca principalmente el melanoma.

Estos tratamientos emplean anticuerpos frente a las moléculas coinhibidoras que regulan negativamente la respuesta inmunitaria, y actualmente se están llevando a cabo numerosos ensayos clínicos en este campo con resultados prometedores. Las líneas de investigación se centran en la búsqueda de nuevas dianas y fármacos, la identificación de biomarcadores predictivos de la respuesta y el desarrollo de nuevas estrategias terapéuticas basadas en la combinación de terapias.

En este trabajo se revisarán los principales tratamientos, su perfil de efectos adversos, los factores que influyen en el desarrollo de la respuesta y los nuevos avances dentro de la inmunoterapia.

1. Introducción y antecedentes

La inmunoterapia constituye actualmente una de las principales líneas de investigación en el tratamiento del cáncer. Se basa en la capacidad del sistema inmune para reconocer las células tumorales gracias a mutaciones que las diferencian del resto del organismo¹.

Los linfocitos T (LT) reconocen mediante su receptor TCR (*T cell receptor*) fragmentos de antígenos presentados a través del complejo mayor de histocompatibilidad (CMH-I y CMH-II). CMH-II se encuentra en las células presentadoras de antígenos (CPA), que presentan antígenos a células T helper o colaboradoras (CD4+), mientras que cualquier célula del organismo, incluidas las células tumorales, puede presentar sus antígenos a través de CMH-I a células T citotóxicas (CD8+)². Sin embargo, para activarse los linfocitos requieren las señales de coestimulación resultantes de la unión de las moléculas CD28 y B7 (B7-1 o B7-2) presentes en la membrana del LT y la CPA respectivamente. Como consecuencia se inducirá la proliferación de los linfocitos y la producción de citoquinas^{3,4}.

Aún así, en el cáncer, el microambiente generado alrededor del tumor es capaz de evadir la respuesta inmune a través de distintos mecanismos, destacando entre otros el aumento de células inmunosupresoras (linfocitos T reguladores), la producción de citoquinas inmunosupresoras (IL-10, TGF- β) o la sobreexpresión de ligandos coinhibidores⁵.

Las señales coinhibidoras o puntos de control inmune son mecanismos necesarios para la regulación de la respuesta inmune y los fenómenos de tolerancia. Existen múltiples puntos de control inmune. Los más conocidos actualmente y que han permitido desarrollar nuevas terapias antitumorales son PD-1 y CTLA-4, aunque hay otros en investigación (LAG-3, Tim-3, TIGIT)⁴.

CTLA-4 es una molécula cuya expresión en la membrana se estimula tras la activación del linfocito. Presenta mayor afinidad por B7 que CD28, desplazándolo de su unión, ejerciendo una regulación negativa y bloqueando la coestimulación. Además induce la degradación de B7 por trans-endocitosis. Este mecanismo es fundamental para la actividad de los LT reguladores y para evitar reacciones autoinmunes mediante el desarrollo de tolerancia³ (Figura 1).

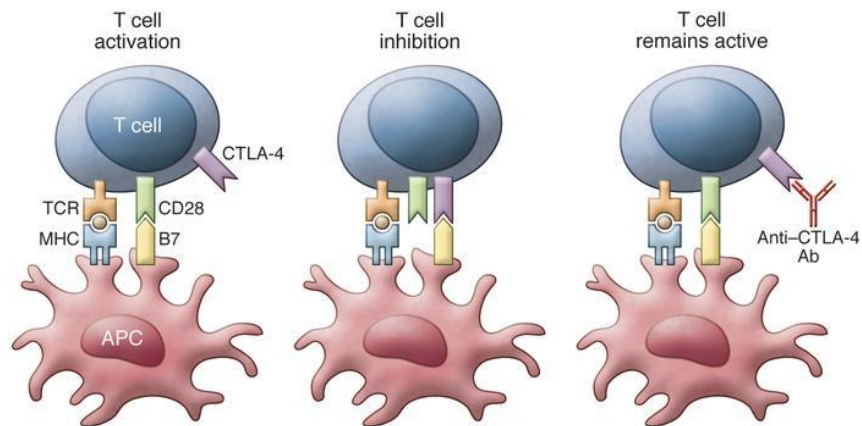
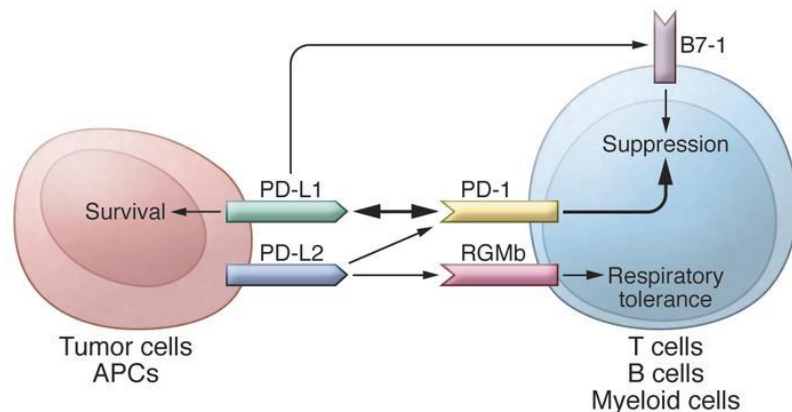


Figura 1: Mecanismo de inhibición de CTLA-4 y bloqueo por anticuerpos. Obtenido de Buchbinder et al., 2015.³

PD-1 desempeña una función similar al unirse a los ligandos PD-L1 y PD-L2: produce citoquinas inmunosupresoras como IL-10 e induce la anergia y apoptosis de los LT activados. Estos ligandos se encuentran sobreexpresados en las células tumorales debido a que el IFN γ producido por los linfocitos presentes en el microambiente tumoral actúa como inductor de PD-L1, por lo que este podría considerarse un mecanismo adaptativo del tumor frente a la infiltración linfocitaria. Además se ha visto que PD-L1 es también ligando de la molécula B7⁶ (Figura 2).

Figura 2: Unión entre PD-1 y sus ligandos. Obtenido de Chen et al., 2015.⁶



El descubrimiento de estas dos moléculas y su implicación en el cáncer en los años 90 a partir de los trabajos de James Allison (basados en el CTLA-4) y Tasuku Honjo (que descubrió el PD-1), sentó la base de nuevas terapias basadas en su bloqueo mediante anticuerpos monoclonales, y por ello ambos han recibido el Premio Nobel de Fisiología o Medicina en 2018. La primera de estas terapias, el ipilimumab (frente a CTLA-4), fue autorizada en 2011 para el tratamiento del melanoma⁵. Más tarde se autorizaron fármacos anti-PD-1 como nivolumab y pembrolizumab, con aplicaciones actuales en varios tipos de cáncer como melanoma, cáncer de pulmón no microcítico o cáncer urotelial. Finalmente se han desarrollado fármacos frente al ligando PD-L1, como el atezolizumab para cáncer urotelial y de pulmón y otros como avelumab y durvalumab⁷.

Este tipo de terapias presentan ventajas respecto a la quimioterapia convencional, ya que no se centran en una única diana, sino que el sistema inmune puede reconocer distintas alteraciones de las células cancerosas. Además, especialmente en el caso de PD-1, presentan una acción duradera, una toxicidad normalmente bien tolerada y a diferencia de otras terapias inmunes no activan el sistema inmune en general sino que su acción se centra principalmente en el tumor^{1,6}.

Sin embargo, no van a ser eficaces en todos los pacientes, ya que requieren una respuesta inmune previa con infiltración linfocitaria en el tumor y su acción se ve influida por numerosos factores, lo que hace necesaria la búsqueda de biomarcadores, como la presencia de PD-L1 en el tumor, que permitan predecir la respuesta de los pacientes al tratamiento¹.

Otro problema que presentan estas terapias es la aparición de resistencias secundarias que causan una disminución de la respuesta al fármaco a pesar de que este era inicialmente eficaz. Algunos de los mecanismos responsables incluyen un aumento de la producción de citoquinas inmunosupresoras, la sobreexpresión de PD-L1 para compensar el bloqueo de los anticuerpos, y mutaciones genéticas que afectan a la presentación de antígenos o a la respuesta frente al IFN γ ⁸.

Actualmente se están investigando terapias combinadas que permitan una mayor supervivencia y eficacia, ya sea combinando fármacos anti-CTLA-4 y anti-PD-1 entre ellos o con otras terapias preexistentes, como la radioterapia (para estimular al sistema inmune)³ o fármacos que bloquean el receptor del factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) como el axitinib, que en combinación con pembrolizumab presenta resultados favorables en ensayos clínicos de cáncer renal⁹.

Para el desarrollo de nuevos fármacos con aplicaciones en más tipos de cáncer y eficaces en un mayor número de pacientes, es necesario conocer los mecanismos que dan lugar a estos fenómenos de inhibición y descubrir nuevas moléculas que actúen como puntos de control inmune y que puedan servir de diana terapéutica⁴.

2. Objetivos

Dado que los primeros fármacos y ensayos se realizaron en melanoma (un cáncer hasta el momento difícil de tratar en estadios avanzados), el conocimiento existente en este tipo de cáncer es más completo. El objetivo de este trabajo será:

- Estudiar el estado actual de los inhibidores de la coestimulación inmune en el tratamiento del melanoma.
- Determinar los principales problemas que plantean estos tratamientos: efectos secundarios y factores que influyen en la respuesta.
- Estudiar las perspectivas de futuro y nuevas líneas de investigación que se están desarrollando en base a estas terapias.

3. Metodología

Para la realización de este trabajo se ha llevado a cabo una búsqueda bibliográfica en distintas bases de datos como “PubMed” y “Google Scholar”, utilizando términos como “cancer immunotherapy”, “immune checkpoint inhibitors” o “melanoma immunotherapy”, y filtrando los resultados para aquellos artículos publicados en los últimos 5 años. También se han consultado las páginas web de organismos oficiales como la Agencia Europea del Medicamento.

4. Resultados y discusión

El melanoma es un cáncer que responde bien a los tratamientos de inmunoterapia gracias a que normalmente presenta una alta tasa de infiltración de linfocitos T y una alta carga mutacional, que permite el reconocimiento por parte de estas células inmunes¹⁰.

Esta característica ha permitido no solo grandes avances en el tratamiento del melanoma avanzado o metastásico (hasta hace unos años solo tratable con dacarbazina y con pocos resultados), sino que ha supuesto una nueva forma de enfocar los tratamientos oncológicos¹¹.

Los primeros tratamientos de inmunoterapia consistieron en la administración de interferón y citoquinas como la IL-2, sin embargo la tasa de respuesta era baja y daba lugar a efectos adversos graves^{10,11}. También se desarrollaron vacunas con antígenos específicos de los melanocitos, como los pertenecientes a la familia MAGE (*melanoma associated antigen*) o la glicoproteína 100 (gp100), aunque sin resultados destacables¹¹.

El desarrollo de los inhibidores de la coestimulación inmune ha supuesto el mayor avance de la inmunoterapia. Actualmente son tres los fármacos autorizados por la EMA para el tratamiento del melanoma metastásico: ipilimumab (un anticuerpo monoclonal humano de tipo IgG1κ frente a CTLA-4), nivolumab (un anticuerpo monoclonal humano de tipo IgG4 frente a PD-1) y pembrolizumab (un anticuerpo monoclonal humanizado de tipo IgG4κ frente a PD-1). En el caso de nivolumab e ipilimumab está autorizado su uso tanto en monoterapia como en terapia combinada^{12,13,14}.

Los primeros fármacos estudiados fueron los anticuerpos frente a CTLA-4 ipilimumab y tremelimumab. En el caso de ipilimumab, fue autorizado tras la realización de ensayos de fase III que mostraron un aumento tanto de la respuesta global como de la supervivencia en comparación con la vacuna frente a gp100 y también en comparación con dacarbazina. En el caso de tremelimumab, los ensayos realizados no mostraron un aumento global de la supervivencia por lo que no fue autorizado. Aún así, a pesar de su falta de eficacia en monoterapia, actualmente está siendo investigado para su uso combinado con otras terapias y en otros tipos de cáncer^{3,10}.

Los fármacos anti-PD-1 nivolumab y pembrolizumab han demostrado también un aumento de la supervivencia y la tasa de respuesta en ensayos clínicos, tanto frente a la quimioterapia como frente a ipilimumab. Además, presentan un perfil de toxicidad mejor que ipilimumab, con menor frecuencia de efectos adversos graves¹⁰. Estas diferencias se deben a que cada molécula participa en distintos procesos de regulación de la respuesta inmune: CTLA-4 regula principalmente las respuestas inmunes sistémicas frente a antígenos propios a través de los

linfocitos T reguladores, mientras que PD-1 controla el desarrollo de las reacciones inflamatorias para evitar respuestas excesivas, con una distribución de sus ligandos más localizada. Por ello los anticuerpos frente a CTLA-4 causan efectos adversos de tipo autoinmune en mayor medida que los anti-PD-1⁶.

La combinación de ambas terapias se basa en el hecho de que estas moléculas actúan sobre distintas fases del proceso inmune. En los ensayos realizados, al comparar la terapia combinada de nivolumab + ipilimumab frente a la monoterapia, se observó un aumento de la supervivencia significativo, aunque asociado también a un aumento de efectos adversos de tipo grave¹⁰.

Actualmente se están desarrollando numerosos ensayos clínicos para utilizar en melanoma otros fármacos como atezolizumab y durvalumab que actúan frente a PD-L1, tanto en monoterapia como combinados con otros tratamientos inmunes entre los que destaca, como ya se ha comentado, el tremelimumab^{11,15}.

Efectos adversos

Los efectos adversos provocados por los inhibidores de la coestimulación inmune afectan a un número variado de órganos y tejidos dependiendo de la categoría de fármaco empleado y del tipo de tumor que presenta el paciente¹⁶. Aún así todas las reacciones se clasifican bajo una única denominación: irAEs (eventos adversos inmuno relacionados) al ser siempre reacciones de tipo autoinmune o inflamatorio derivadas de la estimulación de la respuesta inmunitaria¹⁷.

Algunos de estos efectos incluyen: reacciones sistémicas como fiebre y fatiga, reacciones dermatológicas (rash cutáneo, prurito, vitíligo), gastrointestinales (colitis y diarrea), endocrinas (hipofisitis, hipotiroidismo o desórdenes adrenales); y con menos frecuencia pulmonares (neumonitis), dolores musculoesqueléticos y hepatotoxicidad^{16,17}. En el caso concreto del melanoma, a diferencia de otros tumores, son más comunes los eventos cutáneos, gastrointestinales, musculoesqueléticos y el hipotiroidismo que otros como la neumonitis¹⁶.

Además, en algunas ocasiones se ha descrito el desarrollo de artritis inflamatoria de forma secundaria al tratamiento, sin embargo es un efecto que no suele indicarse en la mayoría de los ensayos y que en ocasiones puede confundirse con la artralgia, por lo que es necesario mejorar el diagnóstico y manejo de la misma¹⁸.

Como ya se ha comentado, los inhibidores de CTLA-4 presentan mayor porcentaje de eventos adversos que los de PD-1, y además se ha visto que a diferencia de estos, los efectos tóxicos tienen una relación dosis-dependiente. Los primeros cursan principalmente con alteraciones del tracto gastrointestinal, hipofisitis y rash cutáneo, mientras que los fármacos anti-PD-1 se relacionan más con eventos hepáticos, vitíligo, hipotiroidismo, artralgia o neumonitis^{16,17} (Figura 3).

En cuanto al manejo y tratamiento de los irAEs, actualmente se están desarrollando guías de actuación basadas en la gravedad de los mismos. Normalmente se emplean fármacos inmunosupresores (como los glucocorticoides), sustitución hormonal en los trastornos endocrinos y en ocasiones puede ser necesaria la interrupción del tratamiento. En los casos más graves se pueden emplear otros inmunosupresores como infliximab o mofetilo¹⁷. Existe cierta controversia acerca del efecto de los glucocorticoides sobre la terapia

antitumoral. Algunos estudios han mostrado una disminución de la eficacia, mientras que otros reflejan que los corticoides no influyen en la supervivencia final^{8,10,17}.

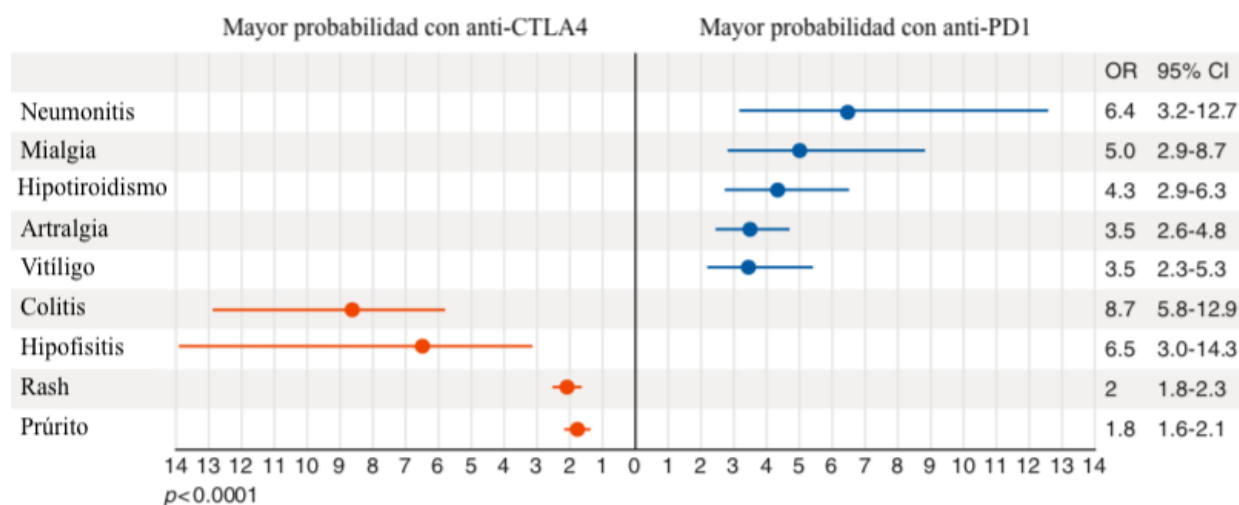


Figura 3: Comparación de efectos adversos según categoría de fármaco. Obtenido de Khoja et al., 2017.¹⁶

El manejo precoz de los síntomas es muy importante ya que, aunque normalmente son reacciones leves, autolimitadas y controlables con tratamiento adecuado, en ocasiones pueden darse reacciones de gravedad que comprometan la vida del paciente como es el caso de la colitis o la neumonitis; por eso se buscan marcadores que muestren mayor probabilidad de sufrir estos efectos o comorbilidades que se relacionen con los mismos¹⁶. En el caso concreto de ipilimumab, altos niveles de IL-17 y de eosinófilos, o la presencia de moléculas indicadoras de la activación de neutrófilos se pueden relacionar con el desarrollo de eventos gastrointestinales¹⁷.

Finalmente hay que considerar aquellos pacientes que presentan enfermedades autoinmunes de base. Tradicionalmente se ha pensado que los inhibidores de la coestimulación estarían contraindicados en estos pacientes ya que provocarían una exacerbación de su sintomatología, y por ello se han excluido de los ensayos clínicos realizados hasta ahora. Sin embargo, es necesario realizar un estudio más profundo del comportamiento del fármaco en estos pacientes, pues en estudios recientes se ha observado que el tratamiento con corticoides puede ser suficiente para controlar estos episodios¹⁹.

Factores condicionantes de la respuesta

Uno de los principales problemas que plantean los tratamientos con inhibidores de la coestimulación inmune es la falta de uniformidad en la respuesta de los pacientes. Existen muchos factores que pueden condicionar el perfil inmune de los mismos y por tanto la existencia o no de respuesta al tratamiento, o que pueden llevar al desarrollo de resistencias que hagan que un tratamiento se vuelva ineficaz a pesar de haber mostrado resultados en un principio. Comprenden generalmente aspectos propios del paciente, del tumor o factores ambientales¹.

Factores del paciente

Dentro de estos factores destaca el microbioma, especialmente en el caso del melanoma. La microbiota intestinal influye en el estado inmunitario del individuo y participa en su regulación, por lo que alteraciones en la misma, como los tratamientos con antibióticos que provocan su disminución, dan lugar a respuestas antitumorales menos eficaces con los fármacos inhibidores de la coestimulación. Además, se han establecido asociaciones entre determinadas especies bacterianas y el desarrollo de respuestas adecuadas tras el tratamiento con anticuerpos frente a PD-1 o CTLA-4 o incluso el desarrollo de determinados efectos adversos como la colitis^{1,8}.

En cuanto a la influencia de ciertas comorbilidades tales como infecciones crónicas, disfunción orgánica o edades avanzadas, existen pocos ensayos realizados en estos casos, pero en general no se ha visto un deterioro importante de la respuesta. Aún así es necesario seguir realizando estudios que lo confirmen. En el caso del embarazo existe riesgo de aborto espontáneo puesto que PD-1 participa en la tolerancia al feto¹⁹.

Factores del tumor

Respecto al microambiente tumoral, se pueden dar diversas condiciones que afectan a la actividad de los fármacos, como la presencia de células mieloides supresoras, linfocitos T infiltrados en el tumor, la expresión de PD-L1, citoquinas inmunosupresoras (IL-6, IL-10 o TGF- β) y la expresión de indolamina dioxigenasa (IDO), una molécula inmunosupresora que participa en el desarrollo de los LT reguladores y que se investiga como biomarcador. También se ha observado en el melanoma que las células tumorales con aneuploidía son más resistentes al tratamiento⁸.

La carga mutacional del tumor también presenta gran importancia ya que cuanto mayor sea el número de mutaciones que presenten las células tumorales, mayor será la probabilidad de que sean reconocidas como tal por el sistema inmune, desarrollando una respuesta favorable frente a ellas^{1,11}. Además, se ha visto que las mutaciones centrales compartidas por todas las células del tumor suelen ser más inmunogénicas que aquellas que se desarrollan posteriormente solo en determinadas zonas del tumor¹. Todo esto hace que la carga mutacional se esté estudiando también como un importante biomarcador para predecir la respuesta frente a la inmunoterapia.

A pesar de ello, algunas mutaciones pueden desencadenar el desarrollo de resistencias secundarias a los tratamientos de inmunoterapia, como las que afectan a BRAF y KRAS (que suponen una activación de la vía de las MAP quinasas)¹ o a la β 2 microglobulina (subunidad de CMH-I), ambas relacionadas con una disminución de la expresión de CMH-I y por tanto de la presentación de los antígenos tumorales a los linfocitos T CD8+. Del mismo modo, las mutaciones en JAK1 y JAK2 afectan a la ruta de señalización del IFN γ , necesaria para la correcta activación de los LT citotóxicos^{2,8,10}.

Finalmente destacan aquellos pacientes con melanoma y metástasis cerebrales, muy difíciles de tratar puesto que la barrera hematoencefálica dificulta el paso del fármaco. En estos casos se han realizado estudios con ipilimumab y pembrolizumab que han mostrado respuestas favorables y una mejora de la supervivencia. Actualmente se están evaluando también tratamientos combinados de nivolumab e ipilimumab o con radioterapia en estos pacientes para aumentar todavía más la respuesta¹⁹.

Factores ambientales

La inmunidad puede verse afectada además por factores ambientales, entre los que se encuentran: algunos fármacos, la radiación solar (una baja exposición solar se asocia con mayor autoinmunidad y por tanto con una mejores respuestas), la dieta (también relacionada en parte con la microbiota) o determinadas infecciones¹.

A la hora de determinar la respuesta al tratamiento es muy importante tener en cuenta la existencia de diferentes patrones, ya que esta no aparece siempre de manera inmediata. Para ello se han desarrollado nuevos criterios diferentes a los que se emplean tradicionalmente con los tratamientos de quimioterapia, denominados irRC (criterios de respuesta relacionados con la inmunidad) para controlar la evolución de la enfermedad. La evolución en melanoma se controla a través de distintas imágenes radiológicas. En algunos casos, los efectos positivos del fármaco pueden aparecer de forma retardada tras un periodo inicial de progresión del tumor o de respuestas solo parciales al tratamiento, y es por eso que hay que esperar un determinado tiempo antes de retirar la terapia y considerarla ineficaz^{3,11}.

Predicción de la respuesta y biomarcadores

Actualmente el desarrollo de biomarcadores que permitan diferenciar a aquellos pacientes que pueden beneficiarse del tratamiento con inhibidores de la coestimulación es una de las principales líneas de investigación, sobre todo en el caso de la administración de terapias combinadas (ipilimumab y nivolumab) dado que presentan un mayor porcentaje de efectos adversos graves^{15,20}. Dentro de los más importantes destacan: la expresión de PD-L1, la infiltración de linfocitos T, la carga mutacional, algunos marcadores séricos y ciertos efectos adversos.

PD-L1

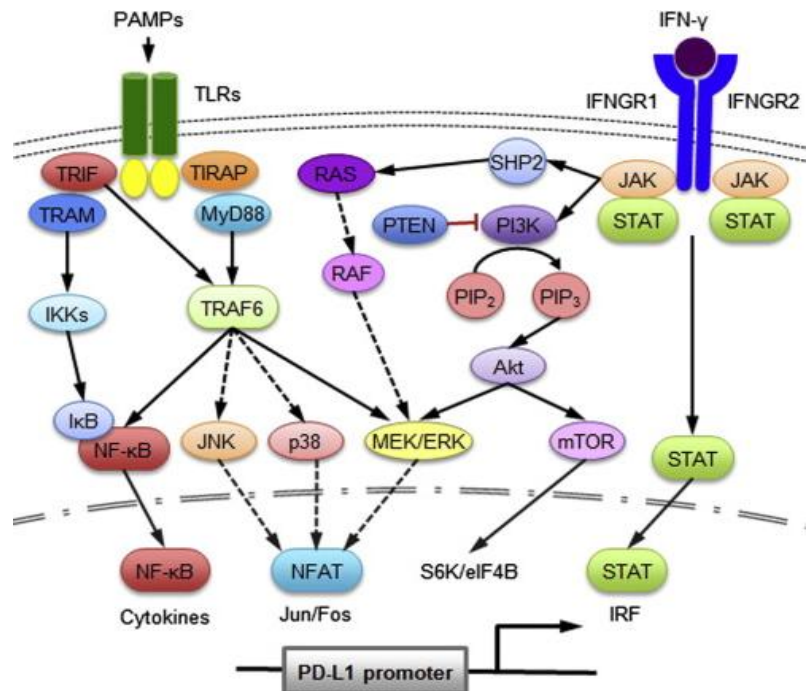
La expresión de PD-L1 en el tumor es el marcador más estudiado por el momento, y se relaciona con una respuesta favorable a los anticuerpos frente a PD-1 o PD-L1. Sin embargo, esta relación no se muestra siempre, y en determinados estudios se han observado respuestas en pacientes con una baja expresión (negativa) de PD-L1. Esto podría explicarse por la existencia de distintos tipos de análisis de la expresión de PD-L1 en el laboratorio. Existen distintos anticuerpos para determinar la presencia de este marcador según el tipo de fármaco investigado, y al mismo tiempo, los distintos estudios han establecido diferentes valores umbral para considerar la expresión positiva o negativa^{10,15,20}. Todo esto lleva a pensar que es necesario establecer unos métodos y valores de diagnóstico unificados para que puedan compararse los resultados obtenidos en las diferentes investigaciones y llegar a conclusiones validas¹⁵. Recientemente se ha visto que para poder establecer una relación adecuada con la respuesta se debe considerar positiva la expresión de PD-L1 a partir de un valor del 5%².

Sin embargo, también hay que tener en cuenta la existencia de múltiples mecanismos adicionales de regulación de la expresión de PD-L1 (vías MAPK, PI3K, factor NFκB) (Figura 4) y que son en parte responsables de la heterogeneidad de los resultados obtenidos^{20,21}. Por tanto es necesario estudiar mejor los mecanismos de acción molecular que llevan a la expresión de estas moléculas.

Se sabe que el IFN γ secretado por los linfocitos del microambiente tumoral induce un aumento de la expresión de PD-L1 en las células del tumor, que estas emplean como mecanismo de evasión frente a la respuesta inmune^{2,21}. Recientemente se ha descrito una vía de señalización que participa en la regulación de este proceso: el complejo de iniciación de la traducción en eucariotas (eIF4F) regula la traducción del factor de transcripción STAT1 (transductor de señal y activador de la transcripción 1), que a su vez controla la expresión del PD-L1 inducible en la superficie de la célula²¹ (Figura 4).

Figura 4: Inducción de PD-L1 en la célula tumoral por IFN γ y otras vías de regulación.

Obtenido de Ritprajak et al., 2014.²²



En base a este mecanismo, eIF4F podría emplearse como un biomarcador de la respuesta a los fármacos anti-PD-1 más eficaz que la determinación de PD-L1, puesto que se ha demostrado que sus niveles se correlacionan de forma exclusiva con la expresión de PD-L1 inducible, que a su vez supone la existencia de linfocitos T en el entorno tumoral²¹. Estos, como se detallará más adelante, son fundamentales en el desarrollo de la respuesta.

Se ha visto además que el complejo eIF4F participa en la traducción de ciertas señales oncogénicas y que sus niveles están elevados en cáncer, participando en el desarrollo de resistencias a la terapia dirigida con inhibidores de BRAF y MEK, por lo que se están desarrollando moléculas inhibitoras como el silvestrol (inhibidor del componente eIF4A) que tendrían un efecto antitumoral directo y al mismo tiempo aplicaciones potenciales en terapia combinada con estos fármacos²¹.

Por otro lado, a partir de determinados estudios se había visto que en aquellos pacientes que fueran PD-L1+ se podría evitar la terapia combinada, puesto que presentaban la misma supervivencia media que con monoterapia^{10,15}. Sin embargo, recientemente se ha comprobado que a largo plazo es mayor la supervivencia con la terapia combinada y que por tanto PD-L1 no es un indicador adecuado para estos casos²⁰.

Finalmente hay que considerar que PD-L1 puede ser empleado también como mecanismo de evasión del tumor (y por tanto marcador de resistencia) frente a los anticuerpos que bloquean CTLA-4.²

Linfocitos T CD8+

La presencia de linfocitos T CD8+ en el microambiente tumoral es necesaria para que se produzca la respuesta al tratamiento además de la expresión de PD-L1, puesto que estas células son las encargadas de llevar a cabo la acción antitumoral. Por tanto, constituye también un buen indicador de cara al tratamiento². En concreto, la presencia de LT clonales con un receptor menos diverso (específico frente a determinados antígenos) se ha asociado con una mejor evolución de la enfermedad. Sin embargo los niveles de linfocitos obtenidos en pacientes respondedores y no respondedores se superponen en algunos valores, lo que dificulta que se pueda fijar un punto de corte para diferenciarlos²⁰.

Carga mutacional

Como ya se ha comentado, una elevada carga mutacional favorece la respuesta de los linfocitos frente a las células tumorales y puede ser un buen indicador de respuesta a la inmunoterapia². En el caso concreto del melanoma, la tasa de mutaciones suele ser elevada en comparación con otros cánceres debido a la exposición a la radiación UV, lo que explica en parte que estos pacientes suelen beneficiarse de los inhibidores de la coestimulación inmune^{2,20}.

Además de la cantidad total de mutaciones, también es importante la heterogeneidad de los neoantígenos presentes, pues se ha visto que cuanto menor sea esta, mayores son las respuestas al tratamiento²⁰.

Se han llevado a cabo múltiples estudios para identificar neoantígenos asociados a estas mutaciones que podrían emplearse como marcadores de respuesta. Sin embargo todavía no se ha podido encontrar ningún antígeno tumoral común entre los pacientes respondedores que pueda usarse específicamente como marcador^{2,20}.

Marcadores séricos

Se han identificado también ciertos marcadores séricos que pueden correlacionarse con el pronóstico del tratamiento. Dentro de estos destaca la lactato deshidrogenasa (LDH): unos niveles elevados de base se asocian a una mayor tasa de división celular y progresión del tumor, y por tanto a una menor supervivencia y peor pronóstico^{8,10}. Otro parámetro importante serían los niveles de neutrófilos y linfocitos, especialmente la relación existente entre ellos. A mayor proporción de neutrófilos peor será el pronóstico, al contrario de lo que sucede en el caso de los linfocitos^{8,20}.

Vitíligo

Finamente hay que mencionar la asociación que se ha observado entre el desarrollo de determinados efectos adversos y la respuesta al tratamiento con inhibidores de la coestimulación inmune. Este es el caso de los pacientes con melanoma que desarrollan vitíligo. El vitíligo es una reacción adversa típica del tratamiento en los pacientes con melanoma, sobre todo con fármacos anti-PD-1, y esta relación puede explicarse por la presencia de linfocitos sensibilizados frente a los antígenos tumorales que reaccionan de forma cruzada frente a los epítomos de los melanocitos sanos^{2,11}.

Existen otros muchos biomarcadores en investigación y todos ellos se encuentran en mayor o menor medida correlacionados, como se ha visto en el caso de PD-L1 y la infiltración de LT CD8+, lo que dificulta el papel predictivo que puedan tener de forma individual. La determinación de un solo marcador puede asociarse a una respuesta positiva y sin embargo el paciente puede ser no respondedor al ser negativos otros indicadores. Por eso la tendencia actual es desarrollar análisis combinados determinando diferentes marcadores que den una visión más completa de la posible respuesta²⁰.

Un caso destacado recientemente es el desarrollo en melanoma de un score inmunopredictivo (IMPRES) a través de la expresión de 15 pares de genes que ha dado muy buenos resultados en comparación con los métodos predictivos creados hasta ahora. Se ha generado a partir de asociaciones con los mecanismos de regresión espontánea en neuroblastoma, puesto que esta se observa también en melanoma de forma habitual. Consiste en un score de puntuación con valores de 1 a 15 en el que puntuaciones altas indican mayores respuestas y mejor supervivencia²³.

Terapias combinadas

Para aumentar los efectos de los inhibidores de la coestimulación inmune e intentar conseguir respuestas más duraderas y en un mayor número de pacientes, se están desarrollando terapias combinadas, ya sea entre ellos o con otros grupos farmacológicos³.

Dentro de estas combinaciones destaca la terapia conjunta con ipilimumab y nivolumab, ya descrita previamente, y que se caracteriza por un aumento significativo de la respuesta y la supervivencia de los pacientes respecto a la monoterapia, pero que al mismo tiempo supone un aumento en la incidencia de efectos adversos al tratamiento. Por ello se han realizado ensayos para determinar si existen diferencias entre la administración de la terapia de forma conjunta o secuencial y si esta última tiene menos efectos adversos. En ellos se ha visto que en la terapia secuencial la eficacia es superior cuando nivolumab se administra en primer lugar, sin embargo el perfil de irAEs sigue siendo similar a lo observado en estudios anteriores^{10,15}.

Las combinaciones con otro tipo de terapias tienen como principal objetivo estimular la acción de los linfocitos, por ejemplo aumentando la liberación de antígenos tumorales que sean presentados a las células inmunes, estimulando su proliferación o modificando el entorno tumoral³. Dentro de estas combinaciones se destacan a continuación las más importantes:

Radioterapia

La radioterapia es capaz de activar al sistema inmune frente a los antígenos tumorales, lo cual, unido a una mayor activación de los linfocitos T por parte de los inhibidores de la coestimulación genera efectos sinérgicos contra las células cancerosas. Además, se ha visto que la radiación produce el conocido como “efecto abscopal”, por el cual la administración de radiación de forma localizada en una lesión tumoral puede activar los linfocitos T a nivel sistémico y generar respuestas en metástasis no irradiadas directamente. Estos efectos han sido estudiados en ensayos tanto con ipilimumab como con fármacos anti-PD-1^{2,3}.

Citoquinas

Con el mismo objetivo se están investigando combinaciones con otras terapias inmunes entre las que destacan moléculas moduladoras como IL-2, IFN-alfa-2b o el factor estimulante de colonias de granulocitos y macrófagos (GM-CSF). En los estudios realizados junto a ipilimumab se han visto ciertas mejoras respecto a la monoterapia y, en el caso de GM-CSF, una menor incidencia de efectos adversos. Aún así, son necesarios más estudios para evaluar el beneficio que pueden tener estas combinaciones^{3,15}.

Actualmente las investigaciones se centran en terapias conjuntas entre estas citoquinas y fármacos anti-PD-1 como pembrolizumab o en triples terapias con fármacos anti-CTLA-4 y anti-PD-1¹⁵.

Terapias dirigidas

Los progresos en el tratamiento del melanoma metastásico no solo se deben al desarrollo de la inmunoterapia, sino también a la aparición de terapias dirigidas frente a las mutaciones oncogénicas que se detectan comúnmente en los melanocitos, especialmente aquellas que se dan en la vía MAPK. Dentro de estas, las mutaciones en BRAF del tipo V600E o V600K suelen ser las más comunes y los inhibidores de BRAF como el vemurafenib o dabrafenib han supuesto un gran avance de cara al tratamiento en los pacientes que las presentan, mostrando mejores respuestas y supervivencia que la quimioterapia convencional en los ensayos realizados. Además, suelen emplearse en terapia combinada con inhibidores de MEK como trametinib o cobimetinib, que actúan en el siguiente nivel de la vía de señalización evitando el desarrollo de resistencias al tratamiento y mejorando aún más los resultados¹⁰.

Se ha visto que la combinación de inhibidores de BRAF con inhibidores de la coestimulación inmune podría ser favorable, puesto que los primeros pueden potenciar la acción de los LT citotóxicos a través de un aumento en la expresión de antígenos en el melanoma. También se cree que los inhibidores de la coestimulación no deben combinarse con inhibidores de MEK porque estos podrían tener un efecto contraproducente y disminuir la actividad de los linfocitos, aunque recientes investigaciones indican que no tiene por qué ser así, por lo que es necesario seguir investigando. Se están llevando a cabo múltiples estudios al respecto y actualmente el mayor interés se centra en la posibilidad de emplear terapias triples^{3,10}.

Virus oncolítico

Un avance reciente y significativo ha sido el desarrollo y autorización de Talimogene laherparepvec (T-VEC), un virus oncolítico atenuado obtenido a partir de la modificación genética del virus herpes simplex 1 que tras inyectarse en el tumor es capaz de reconocer e infectar las células tumorales y al mismo tiempo inducir la producción de GM-CSF (Figura 5). Esto permite una mayor activación del sistema inmune en la zona tumoral, gracias a la liberación de antígenos a partir de la lisis de las células infectadas y la estimulación de los macrófagos por parte de la citoquina^{10,15,24}.

Los ensayos realizados han mostrado un aumento significativo de la respuesta en comparación con la administración subcutánea de GM-CSF, y una ventaja que se ha observado en ellos es la capacidad de generar (de forma ocasional) respuestas sistémicas en focos distantes a la zona de inyección gracias a la proliferación y migración de los linfocitos que reconocen los antígenos tumorales^{10,15,24} (Figura 5).

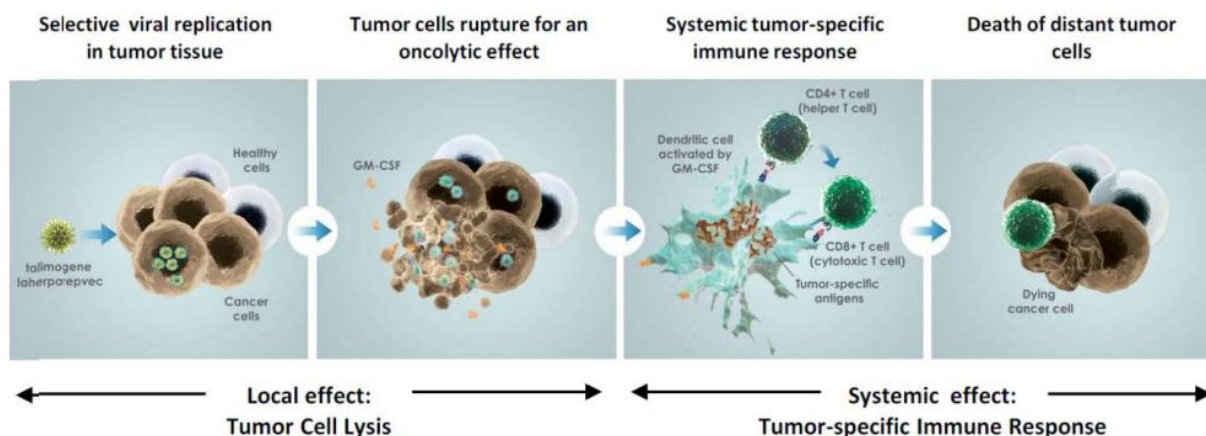


Figura 5: Mecanismo de acción propuesto para T-VEC. Obtenido de Imlygic EPAR, EMA/734400/2015.²⁵

La combinación con inhibidores de la coestimulación inmune se basa en esta acción sinérgica de estimulación del sistema inmune, que podría aumentar la respuesta en pacientes con baja activación linfocitaria en la zona tumoral¹⁰. Actualmente se está evaluando en ensayos clínicos junto a ipilimumab o pembrolizumab, con resultados iniciales prometedores en ambos casos, que muestran aumentos de la respuesta en relación a la monoterapia²⁴.

Nuevas moléculas coestimuladoras

PD-1 y CTLA-4 no son los únicos puntos de control inmune que existen, aunque son los más estudiados. Actualmente se encuentran en investigación otras moléculas que regulan negativamente la respuesta linfocitaria y se están desarrollando fármacos para inhibirlas. Del mismo modo, se han identificado nuevas moléculas coestimuladoras en los linfocitos que también pueden ser el objetivo de fármacos agonistas¹⁵.

Dentro de las primeras destacan LAG-3, Tim-3 y TIGIT. Todas ellas son moléculas que se expresan en la superficie de las células inmunes, se encuentran muy relacionadas con la expresión de PD-1 y al igual que este actúan como ligandos coinhibidores. Actualmente se están llevando a cabo distintos ensayos con anticuerpos frente a ellas^{4,7}.

- **LAG-3:** presenta una estructura similar al CD4 y su ligando es el CMH-II. Su expresión se encuentra aumentada en aquellos tumores que presentan también PD-L1 y por tanto su bloqueo conjunto con PD-1 podría dar respuestas antitumorales más efectivas, lo que ha llevado a estudiar los anticuerpos frente a LAG-3 en combinación con nivolumab^{4,7,15}.
- **Tim-3:** participa en el desarrollo de tolerancia a través de la unión a sus ligandos galectina-9 y CEACAM-1. Este último se expresa junto a Tim-3 en los linfocitos y su interacción es necesaria para la correcta acción inhibitoria de este, por lo que se están investigando anticuerpos frente a ambos como tratamiento. También se ha visto que la expresión de Tim-3 en los linfocitos T está inducida por la citoquina IL-27 a través del factor de transcripción NFIL3. Además, y al igual que en el caso anterior, tiene un papel sinérgico con PD-1, por lo que el bloqueo de ambas moléculas sería más efectivo en la respuesta frente al tumor^{4,7}.

- **TIGIT**: es un receptor coinhibidor que se une a los ligandos CD155 y CD112, presentes en las células inmunes y en las tumorales, ejerciendo una acción opuesta a la de CD226, que es la molécula coestimuladora que se une a estos ligandos. Se expresa con frecuencia en los linfocitos del entorno tumoral junto a PD-1, LAG-3 y Tim-3, y la existencia de acciones sinérgicas con PD-1 y Tim-3 indica que el bloqueo conjunto de ambas moléculas podría tener potencial terapéutico^{4,7}.

Existen muchas otras moléculas con función inhibidora de la respuesta linfocitaria que actualmente se encuentran en investigación como potenciales terapias antitumorales. Algunos ejemplos son: BTLA (aún en fase de estudios preclínicos), PD-1H o VISTA (una molécula homóloga a PD-1 de la que se está estudiando un anticuerpo en ensayos de fase I) y CD96 y CD112R (ambas en fases de estudio preclínicas y que al igual que TIGIT unen CD112 o CD155)⁷.

Finalmente hay que destacar la existencia de moléculas coestimuladoras que pueden activarse a través de anticuerpos agonistas, dando lugar a efectos parecidos a los que se obtienen cuando inhibimos los mecanismos de regulación negativa. Entre estas moléculas destacan ICOS, GITR, CD137 y también 4-1BB, OX40 o CD27, cuyos agonistas se están investigando en combinación con fármacos anti-PD-1 o anti-PD-L1 como pembrolizumab, durvalumab y nivolumab respectivamente^{4,15}.

5. Conclusiones

El tratamiento del cáncer y en concreto del melanoma ha mejorado mucho en los últimos años gracias al desarrollo de los inhibidores de la coestimulación inmune. Los primeros fármacos autorizados actuaban frente a CTLA-4 y desde entonces ha habido una gran evolución en este campo. Se han diseñado fármacos frente a PD-1 con mejores resultados que los anteriores, terapias combinadas que aumentan aún más la supervivencia y también se investigan fármacos frente a PD-L1 ya autorizados en otro tipo de tumores para incluirlos en el tratamiento del melanoma.

El principal problema que plantean estos fármacos es la falta de uniformidad en los resultados que muestran los pacientes. Se sabe que la respuesta inmune está influida por numerosos factores que hacen que no todos respondan adecuadamente al tratamiento. Ante esto, existe la necesidad de investigar biomarcadores que nos permitan predecir estas situaciones para optimizar la selección de las terapias. Además, también hay que tener en cuenta los efectos adversos asociados, que en ocasiones pueden ser graves y comprometer la vida de los pacientes.

A pesar de las dificultades actuales, las investigaciones que se están llevando a cabo con el desarrollo de fármacos frente a nuevos puntos de control inmune o nuevas estrategias basadas en la combinación de terapias son prometedoras, y en un futuro se podrían mejorar aún más los resultados que estos fármacos nos ofrecen, alcanzando a más pacientes y tipos de cáncer.

6. Bibliografía

- ¹ Chen DS, Mellman I. Elements of cancer immunity and the cancer-immune set point. *Nature*. 2017 Jan 18;541(7637):321-330. doi: 10.1038/nature21349
- ² Byrne EH, Fisher DE. Immune and molecular correlates in melanoma treated with immune checkpoint blockade. *Cancer*. 2017 Jun 1;123(S11):2143-2153. doi: 10.1002/cncr.30444
- ³ Buchbinder E, Hodi FS. Cytotoxic T lymphocyte antigen-4 and immune checkpoint blockade. *J Clin Invest*. 2015 Sep;125(9):3377-83. doi: 10.1172/JCI80012
- ⁴ Tsai HF, Hsu PN. Cancer immunotherapy by targeting immune checkpoints: mechanism of T cell dysfunction in cancer immunity and new therapeutic targets. *J Biomed Sci*. 2017 May 25;24(1):35. doi: 10.1186/s12929-017-0341-0
- ⁵ Yang Y. Cancer immunotherapy: harnessing the immune system to battle cancer. *J Clin Invest*. 2015 Sep;125(9):3335-7. doi: 10.1172/JCI83871
- ⁶ Chen L, Han X. Anti-PD-1/PD-L1 therapy of human cancer: past, present, and future. *J Clin Invest*. 2015 Sep;125(9):3384-91. doi: 10.1172/JCI80011
- ⁷ Torphy RJ, Schulick RD, Zhu Y. Newly Emerging Immune Checkpoints: Promises for Future Cancer Therapy. *Int J Mol Sci*. 2017 Dec 6;18(12). doi: 10.3390/ijms18122642
- ⁸ Seto T, Sam D, Pan M. Mechanisms of Primary and Secondary Resistance to Immune Checkpoint Inhibitors in Cancer. *Med Sci (Basel)*. 2019 Jan 22;7(2). doi: 10.3390/medsci7020014
- ⁹ Lee CH, Motzer R. Combination VEGFR/immune checkpoint inhibitor therapy: a promising new treatment for renal cell carcinoma. *Br J Cancer*. 2018 Oct;119(8):911-912. doi: 10.1038/s41416-018-0175-x
- ¹⁰ Luke JJ, Flaherty KT, Ribas A, Long GV. Targeted agents and immunotherapies: optimizing outcomes in melanoma. *Nat Rev Clin Oncol*. 2017 Aug;14(8):463-482. doi:10.1038/nrclinonc.2017.43
- ¹¹ Herzberg B, Fisher DE. Metastatic melanoma and immunotherapy. *Clin Immunol*. 2016 Nov;172:105-110. doi: 10.1016/j.clim.2016.07.006
- ¹² European Medicines Agency. Yervoy: EPAR - Product Information. 2019:1-83. Disponible en: https://www.ema.europa.eu/documents/product-information/yervoy-epar-product-information_es.pdf
- ¹³ European Medicines Agency. Opdivo: EPAR - Product Information. 2019:1-96. Disponible en: https://www.ema.europa.eu/documents/product-information/opdivo-epar-product-information_es.pdf
- ¹⁴ European Medicines Agency. Keytruda: EPAR - Product Information. 2019:1-142. Disponible en: https://www.ema.europa.eu/documents/product-information/keytruda-epar-product-information_es.pdf
- ¹⁵ Redman JM, Gibney GT, Atkins MB. Advances in immunotherapy for melanoma. *BMC Med*. 2016 Feb 6;14:20. doi: 10.1186/s12916-016-0571-0
- ¹⁶ Khoja L, Day D, Wei-Wu Chen T, Siu LL, Hansen AR. Tumour- and class-specific patterns of immune-related adverse events of immune checkpoint inhibitors: a systematic review. *Ann Oncol*. 2017 Oct 1;28(10):2377-2385. doi: 10.1093/annonc/mdx286

- ¹⁷ Kumar V, Chaudhary N, Garg M, Floudas CS, Soni P, Chandra AB. Current Diagnosis and Management of Immune Related Adverse Events (irAEs) Induced by Immune Checkpoint Inhibitor Therapy. *Front Pharmacol*. 2017 Feb 8;8:49. doi: 10.3389/fphar.2017.00049
- ¹⁸ Naidoo J, Cappelli LC, Forde PM, Marrone KA, Lipson EJ, Hammers HJ, et al. Inflammatory Arthritis: A Newly Recognized Adverse Event of Immune Checkpoint Blockade. *Oncologist*. 2017 Jun;22(6):627-630. doi: 10.1634/theoncologist.2016-0390
- ¹⁹ Johnson DB, Sullivan RJ, Menzies AM. Immune checkpoint inhibitors in challenging populations. *Cancer*. 2017 Jun 1;123(11):1904-1911. doi: 10.1002/cncr.30642
- ²⁰ Gibney GT, Weiner LM, Atkins MB. Predictive biomarkers for checkpoint inhibitor-based immunotherapy. *Lancet Oncol*. 2016 Dec;17(12):e542-e551. doi: 10.1016/S1470-2045(16)30406-5
- ²¹ Cerezo M, Guemiri R, Druillennec S, Girault I, Malka-Mahieu H, Shen S, Allard D, Martineau S, Welsch C, Agoussi S, Estrada C, Adam J, Libenciuc C, Routier E, Roy S, Désaubry L, Eggermont AM, Sonenberg N, Scoazec JY, Eychène A, Vagner S, Robert C. Translational control of tumor immune escape via the eIF4F-STAT1-PD-L1 axis in melanoma. *Nat Med*. 2018 Dec;24(12):1877-1886. doi: 10.1038/s41591-018-0217-1
- ²² Ritprajak P, Azuma M. Intrinsic and extrinsic control of expression of the immunoregulatory molecule PD-L1 in epithelial cells and squamous cell carcinoma. *Oral Oncol*. 2015 Mar;51(3):221-8. doi: 10.1016/j.oraloncology.2014.11.014
- ²³ Auslander N, Zhang G, Lee JS, Frederick DT, Miao B, Moll T, Tian T, Wei Z, Madan S, Sullivan RJ, Boland G, Flaherty K, Herlyn M, Ruppin E. Robust prediction of response to immune checkpoint blockade therapy in metastatic melanoma. *Nat Med*. 2018 Oct;24(10):1545-1549. doi: 10.1038/s41591-018-0157-9
- ²⁴ Dummer R, Hoeller C, Gruter IP, Michielin O. Combining talimogene laherparepvec with immunotherapies in melanoma and other solid tumors. *Cancer Immunol Immunother*. 2017 Jun;66(6):683-695. doi: 10.1007/s00262-017-1967-1
- ²⁵ European Medicines Agency. Imlygic: EPAR - Public assessment report. EMA / 734400 / 2015. 2016:1-150. Disponible en: https://www.ema.europa.eu/en/documents/assessment-report/imlygic-epar-public-assessment-report_en.pdf