



**FACULTAD DE FARMACIA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE**

TRABAJO FIN DE GRADO

**Rompiendo la inmunotolerancia en el entorno
tumoral mediante el uso de vacunas oncolíticas.**

Autor: **Víctor E. Cervera Carrascón**

Tutor: **María Pilar Gómez-Serranillos Cuadrado**

Convocatoria: **Febrero 2016**

ÍNDICE

1. RESUMEN.....	3
2. ABSTRACT.....	3
3. INTRODUCCIÓN.....	4
4. OBJETIVOS.....	6
5. METODOLOGÍA.....	6
6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	6
6.1 El papel del sistema inmune en relación al cáncer..	6
6.2 De virus oncolíticos a vacunas oncolíticas.....	9
6.3 Mecanismos de especificidad oncolítica	13
7. CONCLUSIONES.....	16
8. BIBLIOGRAFÍA.....	17

1. RESUMEN.

La inmunoterapia contra el cáncer está mejorando día a día y cobrando mayor importancia gracias a los avances que han mejorado el conocimiento del sistema inmune en esta enfermedad y el proceso de inmunoedición. Uno de los objetivos principales de estos tratamientos es revertir la inmunosupresión inherente al entorno tumoral para así facilitar la creación de una respuesta antitumoral específica por parte del sistema inmune. Una estrategia incluida en este grupo terapéutico es la de las vacunas oncolíticas, una herramienta que consiste en el uso de virus modificados genéticamente para destruir selectivamente las células cancerosas. La destrucción de células cancerosas se consigue de dos formas: a corto plazo (oncolisis por acción directa del virus) y a largo plazo (reversión de la inmunosupresión y generación de la respuesta inmune). A la hora de diseñar los virus no sólo se fomenta la especificidad por células tumorales sino que también se han probado con éxito otras modificaciones que les permitan conseguir una mayor respuesta del sistema inmunitario. El uso de virus oncolíticos ofrece una gran variedad de estrategias de tratamiento diferentes debido a la relativa facilidad con la que se puede modificar un virus para armarlo con genes que supongan un tratamiento más efectivo.

2. ABSTRACT.

Cancer immunotherapy is being improved and also becoming more important day by day due to the achievements which made possible a better understanding of the immune system role in cancer and also the discovery of the immunoediting process. One of the main goals of these treatments is to revert the immunosuppression inherent to the tumor microenvironment and hence allowing the immune system to elaborate an specific antitumoral response. Oncolytic vaccine strategies are included in this therapeutic group and they entail the use of genetically engineered viruses to destroy cancer cells in a specific manner. With this treatment the sort term (oncolysis directly caused by the viruses) and long term (reversion of the immunosuppression and immune response generation) mechanisms are combined. When viruses are designed, cancer cell destruction is not the only thing taken into account but another sort of modifications which make them achieve higher responses from the immune system. The use of oncolytic viruses offers a large amount of different treatment strategies due to how relatively easy is to modify a virus and arm it with genes which will mean more effective treatments.

3. INTRODUCCIÓN.

Afortunadamente, el desarrollo de distintos campos del conocimiento ha proporcionado a la humanidad las herramientas necesarias para combatir ciertas enfermedades que hasta el siglo pasado causaban la mayor parte de las muertes en la sociedad. El mejor ejemplo de esas enfermedades son las enfermedades infecciosas, donde la introducción de vacunas, antibióticos y medidas higiénico-sanitarias supuso una drástica reducción de la morbilidad y mortalidad que éstas suponían. Dichos avances supusieron la base para la transformación de la población, pasando a crecer en número de habitantes y cuya esperanza de vida aumentó. Sin embargo, la reducción de la mortalidad por unas causas determinadas siempre genera el aumento por otras. Éste es uno de los principales motivos que han llevado a que las enfermedades no transmisibles sean la causa de la mayoría de las muertes en España en la actualidad, suponiendo las enfermedades del sistema circulatorio y el cáncer más de la mitad del total (1).

En el año 2013, el cáncer supuso la segunda causa de muerte en España (1). Sin embargo, hay que tener presente que término cáncer engloba a un numeroso conjunto de patologías en las que aparecen células que se multiplican incontroladamente evadiendo sistemas de control de la proliferación, señales de apoptosis, induciendo angiogénesis en la zona y adquiriendo capacidad de invasión a tejidos cercanos y metástasis (2). A pesar de todos los avances en la lucha contra esta enfermedad (factores de riesgo, técnicas de diagnóstico, tratamientos, prevención...) la incidencia y mortalidad del cáncer sigue aumentando año a año y se ha pronosticado que siga aumentando notablemente en décadas sucesivas (3).

Uno de los enfoques utilizados actualmente a la hora de abordar el tratamiento de esta enfermedad es a través de la inmunoterapia, que engloba diferentes estrategias con el objetivo común de restaurar o mejorar la capacidad del sistema inmune para luchar contra el cáncer. En este momento, la inmunoterapia contra el cáncer se basa en cuatro pilares (4): el uso de anticuerpos monoclonales específicos contra células tumorales, el bloqueo de las rutas de “immuno checkpoints”, el uso de citoquinas que estimulen directamente al sistema inmune y el uso de vacunas contra el cáncer que generen una respuesta contra estas células.

Las “cancer vaccines” se basan en facilitar la disponibilidad de antígenos específicos de las células cancerosas para conseguir generar en última instancia una respuesta adaptativa contra las células tumorales portadoras de dicho antígeno (5). El hecho de llamarlas “vacunas” reside en que se produce una inmunización activa, al suministrar o generar *in situ*, determinados péptidos contra los que se erige la respuesta inmune, pero tienen un matiz diferente al de otras vacunas más conocidas como las que previenen contra enfermedades infecciosas. En este caso se trata de una herramienta diseñada principalmente para luchar contra una enfermedad existente en el momento de su uso, aunque el desarrollo de vacunas contra el cáncer como medida de prevención primaria (más allá de las vacunas contra virus carcinogénicos como aquellas contra el virus del papiloma humano (6) o el virus de la hepatitis B (7)) es un claro objetivo en el futuro de la investigación oncológica.

Aunque existen diferentes métodos por los cuales se consigue desencadenar el proceso de inmunización (8), el uso de vectores virales para tal fin está tomando un protagonismo creciente. Probablemente uno de los factores que hace tan moldeable a este tipo de tratamiento deriva de las posibilidades que ofrece la ingeniería genética y la modificación del virus *in vitro* ampliando la gama de estrategias disponibles a la hora de afrontar la patología (Figura 1). La FDA (Food and Drug Administration) aprobó, en el mes de octubre de 2015, el “Talimogene laherparepvec” (Imlygic, Amgen Inc.) (9), un medicamento constituido por un virus modificado genéticamente indicado para el melanoma irresecable en pacientes refractarios a otros tratamientos. Este tratamiento que también ha recibido la primera aprobación de la EMA (European Medicines Agency) para su autorización (10), es el primer medicamento de su clase, pero existen diversas alternativas que están siendo estudiadas en este momento para continuar con la recién inaugurada estrategia terapéutica en la lucha contra el cáncer.

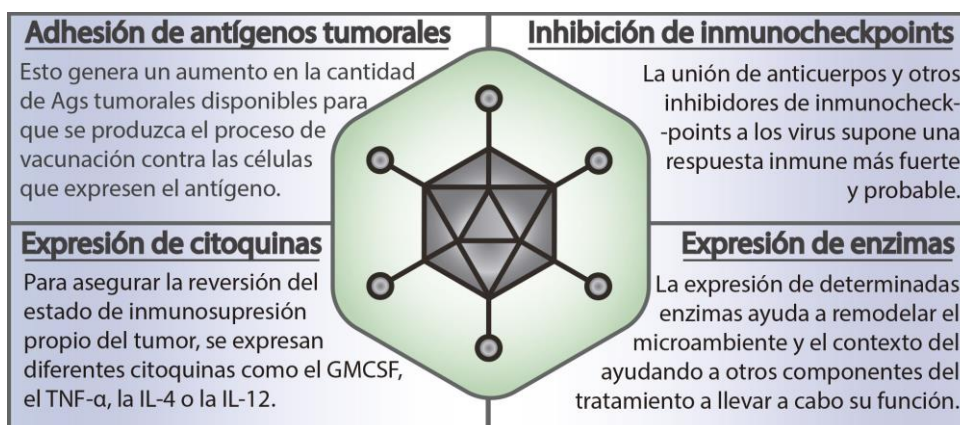


Figura 1. Algunas estrategias empleadas en el desarrollo de vacunas oncolíticas.

4. OBJETIVOS.

El objetivo de esta revisión es intentar esclarecer los mecanismos por los cuales las vacunas oncolíticas pueden revertir la situación de inmunotolerancia en el microambiente tumoral, explicando además como se consigue dirigir esta respuesta hacia las células cancerosas de forma selectiva.

5. METODOLOGÍA.

Se realizó una revisión bibliográfica con el objetivo de explicar los mecanismos por los cuales las vacunas oncolíticas son capaces de desencadenar la reversión del estado de inmunotolerancia frente a células tumorales y cómo se puede conseguir cierto grado de especificidad en este proceso. Esta revisión se basó en diferentes publicaciones científicas especializadas en el tema obtenidas de la base de datos de la Biblioteca Nacional de Medicina de los Estados Unidos a través de la herramienta de búsqueda PubMed y la herramienta análoga BUCea para buscar entre las publicaciones disponibles de la Biblioteca Complutense. El material revisado se restringió a aquel disponible de forma gratuita en dichas bases de datos y que hubieran sido publicados entre los años 2006 y 2015, cuyo idioma fuera inglés o español.

6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

6.1 El papel del sistema inmune en relación al cáncer.

Existen múltiples ejemplos en los que pacientes inmunodeprimidos tienen un riesgo mayor de padecer cáncer en comparación con poblaciones inmunocompetentes. Uno de los ejemplos más claros es en trasplantados. En esta población se ha determinado un riesgo 20 veces mayor de padecer algunos cánceres como el de piel (no melanoma), linfoma no-Hodgkin o Sarcoma de Kaposi (11). De la misma forma, el riesgo de sufrir otros tipos de cáncer está claramente aumentado. Otras poblaciones con mayor riesgo de padecer cáncer y que también sufren algún tipo de inmunodepresión son los infectados por VIH con bajo recuento de linfocitos (12) o los pacientes de artritis reumatoide tratados con inmunosupresores (13).

Estos hechos, además de que la infiltración de linfocitos T al tumor se considere factor de buen pronóstico para el cáncer (14), reflejan el porqué del aumento creciente de la importancia concedida a la inmunología del cáncer en los últimos veinte años.

El proceso tradicional con el que se entendía la relación sistema inmune-cáncer, era el de la inmunovigilancia, en el que la aparición de células aberrantes era detectada por parte del sistema inmune, tras lo cual son eliminadas para mantener así la homeostasis. Se pensaba también que la aparición del cáncer se debía a la no participación del sistema inmune, dando la oportunidad de que las células cancerosas proliferasen. Progresivamente, se han ido añadiendo matices al proceso, cambiando en algunos aspectos la forma de entenderlo, pasando de tener el sistema inmune una función “estática” (puesto que se consideraba cuando actuaba siempre lo hacía favoreciendo a la eliminación del tumor) a una función de naturaleza dinámica (15). El nombre del proceso también ha cambiado a “inmunoedición”. Este término ha evolucionado para incluir la doble naturaleza (dinámica) que puede ejercer el sistema inmune en función con el cáncer. Además de la función protectora descrita en el concepto de inmunovigilancia, también puede desempeñar un papel promotor de la progresión del tumor a través de la inflamación crónica en el entorno tumoral, generando la supresión de respuestas antitumorales o seleccionando células con baja inmunogenicidad (16).

Actualmente el concepto global de inmunoedición se separa en tres etapas a partir del surgimiento de una célula cancerosa: En primer lugar, sucede la fase de eliminación, en la que el sistema inmune genera una respuesta (innata y/o adaptativa) para destruir las células cancerosas. La eliminación incluye básicamente todo lo que implica el concepto de inmunovigilancia. Esta fase puede derivar en la eliminación completa de estas células o progresando hacia la fase de equilibrio. En ésta existe un control del crecimiento de las células cancerosas de tal forma que el balance neto es cercano a cero; se destruyen células a un ritmo similar al que éstas se multiplican, logrando mantener indetectable clínicamente el proceso. Este estadio supone una cuenta atrás contra la enfermedad puesto que o se logra desarrollar una respuesta suficiente para destruir el foco tumoral o a cada segundo que pasa es más probable que las células desarrollen una mutación que las haga escapar del control del sistema inmune. Este escape supone una selección de las células menos inmunogénicas sobre aquellas que pueden ser destruidas por el sistema inmune, produciéndose la inmunoedición que lleve a la última fase (16, 17). En la última fase, conocida también como fase de escape, las células seleccionadas por su capacidad para evadir al sistema inmune crecen de forma

incontrolada manifestándose clínicamente (2). El flujo de etapas es bidireccional, participando el desarrollo de respuestas efectivas (ya sea de forma natural o mediante tratamiento) en la vuelta a la fase de eliminación y con ello al estado de salud y la aparición de mutaciones e inmunosupresión hacia la fase de escape y con ello de enfermedad.

El hecho probablemente más determinante en cuanto al sistema inmune y su relación con el cáncer es cómo será la naturaleza de su respuesta frente al mismo; generando inmunotolerancia en dicho entorno o creando una respuesta anticancerosa eficaz, mayoritariamente protagonizada por linfocitos T CD8⁺ (14). El hecho de que se oriente hacia una u otra, depende de ciertas características particulares presentes o ausentes a lo largo del proceso de generación de la respuesta inmune (4), que pueden ser agrupadas en tres fases:

1) Presentación de antígenos por parte de las APC.

Las APC y en particular las células dendríticas (DCs) inician la generación de la respuesta antitumoral, para lo cual necesitan captar antígenos específicos de las células cancerosas, los cuales serán procesados y presentados a través del MHC. En este punto tiene relevancia suma, la presencia de señales de maduración de APCs como por ejemplo el TNF- α , la IL-1 β , ligandos de TLRs o el ligando del receptor CD-40 (18).

2) Activación de linfocitos T de respuesta contra el tumor.

No se conoce con exactitud qué subtipo de linfocitos T CD8⁺ son los que ejercen la mejor respuesta antitumoral, pero sí se conoce la importancia de que las DCs hayan madurado puesto que, de no ser así a llegar a los nódulos linfáticos, en lugar de activar Linfocitos T con actividad citotóxica sobre las células cancerosas, se generaría la activación y proliferación de linfocitos T reguladores cuya función es inmunosupresora y favorecedora de tolerancia (19).

3) Infiltración en el entorno tumoral y acción de los linfocitos antitumorales.

Los linfocitos T CD8⁺ activados dejan el nódulo linfático y tienen que conseguir infiltrarse en el tumor. Una vez en el entorno tumoral, los linfocitos efectores han de reconocer a las células cancerosas por sus antígenos y ejercer su función citolítica. En este punto, la presencia de un ambiente inmunosupresor puede inactivar los linfocitos efectores, evitando que ejerzan cualquier tipo de acción antitumoral (4).

El hecho de haber profundizado en el proceso de creación de la respuesta inmune contra el cáncer ha puesto de manifiesto nuevos puntos clave (Figura 2) para la orientación del sistema inmune, bien hacia tolerancia o bien hacia la creación de respuestas antitumorales. A su vez, este conocimiento ha hecho posible el desarrollo de nuevas estrategias que intenten perfeccionar la respuesta inmune y así brindar la posibilidad de crear una respuesta eficiente y duradera contra la enfermedad.

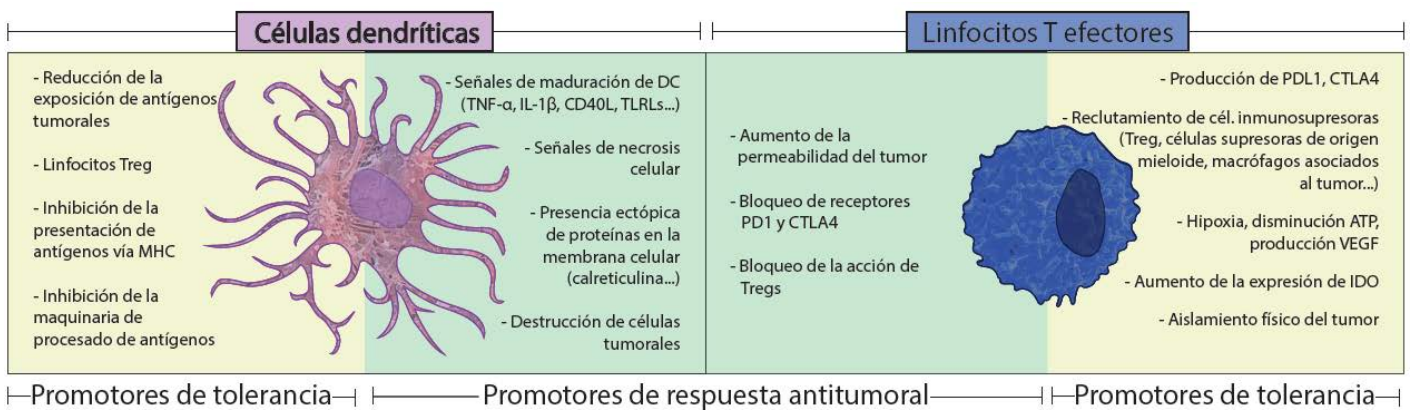


Figura 2. Factores promotores de la creación de una respuesta inmune con carácter antitumoral o una promoción de la tolerancia al tumor.

6.2 De virus oncolíticos a vacunas oncolíticas.

El uso de virus en la terapia contra el cáncer surge de la observación de casos reales en los que pacientes que presentaban algún tipo de tumor experimentaba una regresión en el tamaño del mismo al sufrir una infección por virus. La posible relación entre la infección y la mejoría en el tumor, llevó a la realización de diversos estudios a mediados del siglo pasado que arrojaron resultados insatisfactorios o inconclusivos (20), que motivaron el abandono de este tipo de terapia por unas décadas..

La diferencia más significativa entre las estrategias llevadas a cabo en los años 1950-60 con los que se han intentado en los últimos veinte años reside en la forma de enfocar el tratamiento con virus y su relación con el sistema inmune del paciente. En este sentido, se puede clasificar las primeras como “virocentristas” y a las segundas como “inmunocentristas”.

Las estrategias virocentristas nacen, tras la observación desde principios del siglo XX, de casos en los que pacientes con linfomas o leucemia (y por lo tanto un sistema inmune más comprometido) tenían mejor respuesta antitumoral al verse infectados por virus como el de la

hepatitis B o el de las paperas (20). El hecho de que un sistema inmune atenuado sea más permisivo con el virus permite que éste genere una mejor y más prolongada acción lítica sobre las células que conforman el tumor (más adelante se profundiza en el mecanismo de especificidad), generando una disminución del volumen del tumor. Más allá de su validez como concepto teórico, se ha demostrado que la eficacia de un virus oncolítico es mayor cuando se coadministra inmunosupresores como por ejemplo la ciclofosfamida (21). Otras alternativas a la inmunosupresión farmacológicas planteadas en este contexto son el recubrimiento del virus con diferentes moléculas que lo harían menos susceptible de ser detectado por el sistema inmune o incluso el desarrollo de virus que expresen transgenes que generen inmunosupresión (22).

Por otro lado, el argumento virocentrista tiene dos aspectos de peso en su contra; el primero y más obvio es la dificultad y peligrosidad que implica suprimir el sistema inmune del paciente al que se le va a administrar un virus. El segundo es que, en estas estrategias, toda la destrucción de células tumorales es debida a la acción directa del virus, por lo que el virus debe llegar a todas las células tumorales de todos los focos para su curación, con la subsiguiente elevada carga viral sistémica y los posibles efectos adversas que esto supone.

Las estrategias inmunocentristas defienden que el verdadero valor de los virus oncolíticos reside en su capacidad para infectar selectivamente el nicho tumoral, desencadenando una fuerte respuesta inmune que permita corregir la inmunosupresión y promover la eliminación de células cancerosas (23, 24). En realidad, con estas estrategias se aprovechan las propiedades de los virus oncolíticos a dos niveles; a corto plazo, produce una respuesta antitumoral directa causada por la acción lítica de los virus y a largo plazo, generada por la acción supresora de tumores por los linfocitos T citotóxicos desarrollados contra las células malignas. Por este motivo, se pasa de denominar al tratamiento “vacunas oncolíticas” en lugar de “virus oncolíticos”, puesto que se pretende ampliar el concepto e incluir la generación de una respuesta inmune específica.

El mecanismo de acción de las vacunas oncolíticas suele comenzar con la administración intratumoral de las mismas. El virus depositado en el nicho tumoral, infecta a las células cercanas produciendo el fenómeno de la oncolisis (que además de reducir el número de células cancerosas, favorece al aumento de la permeabilidad del tumor (24)). La inmunosupresión inherente al tumor hace que su capacidad de defensa inicial frente a la

infección vírica sea más reducida, sin embargo rápidamente se produce un reconocimiento de patrones moleculares asociados a patógenos (PAMPs) por parte de receptores de reconocimiento de patrones en células epiteliales, células dendríticas o macrófagos (25), que inducen la expresión de diferentes citoquinas como el TNF- α o las IL-1 e IL-6. Estas citoquinas varían, entre otros factores, en función de la vacuna oncolítica usada (26). Estas citoquinas promueven la secreción de quimioquinas que atraen al foco de infección diferentes células del sistema inmune (neutrófilos, células NK, monocitos, macrófagos...) para neutralizar la infección y al mismo tiempo promueven la maduración de DCs (24) y su migración a nódulos linfáticos para continuar con el proceso de generación de respuesta adaptativa (4).

Estas señales de infección viral y de muerte celular inmunogénica, son los factores que facilitan la reversión del estado de inmunosupresión inherente al tumor y conseguir con ello que durante este proceso se den las condiciones necesarias para generar proceso de vacunación *in situ* (Figura 3) (27, 28). La ventaja de usar virus para hacer saltar la alarma inmunológica es que hay pocas cosas que el sistema inmune reconozca como más peligrosas, por ello la reacción inmune es drástica y es más probable acabar con la inmunosupresión. De ser una alerta más moderada ésta no se revertiría, haciendo que aunque se generasen linfocitos T específicos contra antígenos tumorales, no pudieran efectuar su acción por encontrarse en el tumor un contexto de inmunosupresión (29).

Para potenciar el efecto de las vacunas oncolíticas, se suele armar los virus, mediante ingeniería genética, con transgenes productores de diferentes citoquinas, como por ejemplo el GMCSF, TNF- α , IL-4 o IL-12 (24). Uno de los objetivos clave es la potenciación de la acción de los linfocitos T citotóxicos específicos contra células tumorales. Sin embargo la falta de conocimiento preciso del subgrupo de linfocitos T CD8⁺ limita la optimización del proceso (4). Además de armar a los virus con moléculas inmunoestimuladoras, otra estrategia que persigue aumentar la eficacia del tratamiento es la de hacer que los virus expresen antígenos específicos del tumor a tratar (30). Con esta medida se busca incrementar la probabilidad de desencadenar una respuesta contra esos antígenos, también presentes en el tumor. En este caso, la estrategia está limitada por la falta de criterio para seleccionar los antígenos que no sólo se expresen específicamente en las células cancerosas sino que además sean susceptibles de presentación cruzada y supongan una inmunogenicidad aceptable.

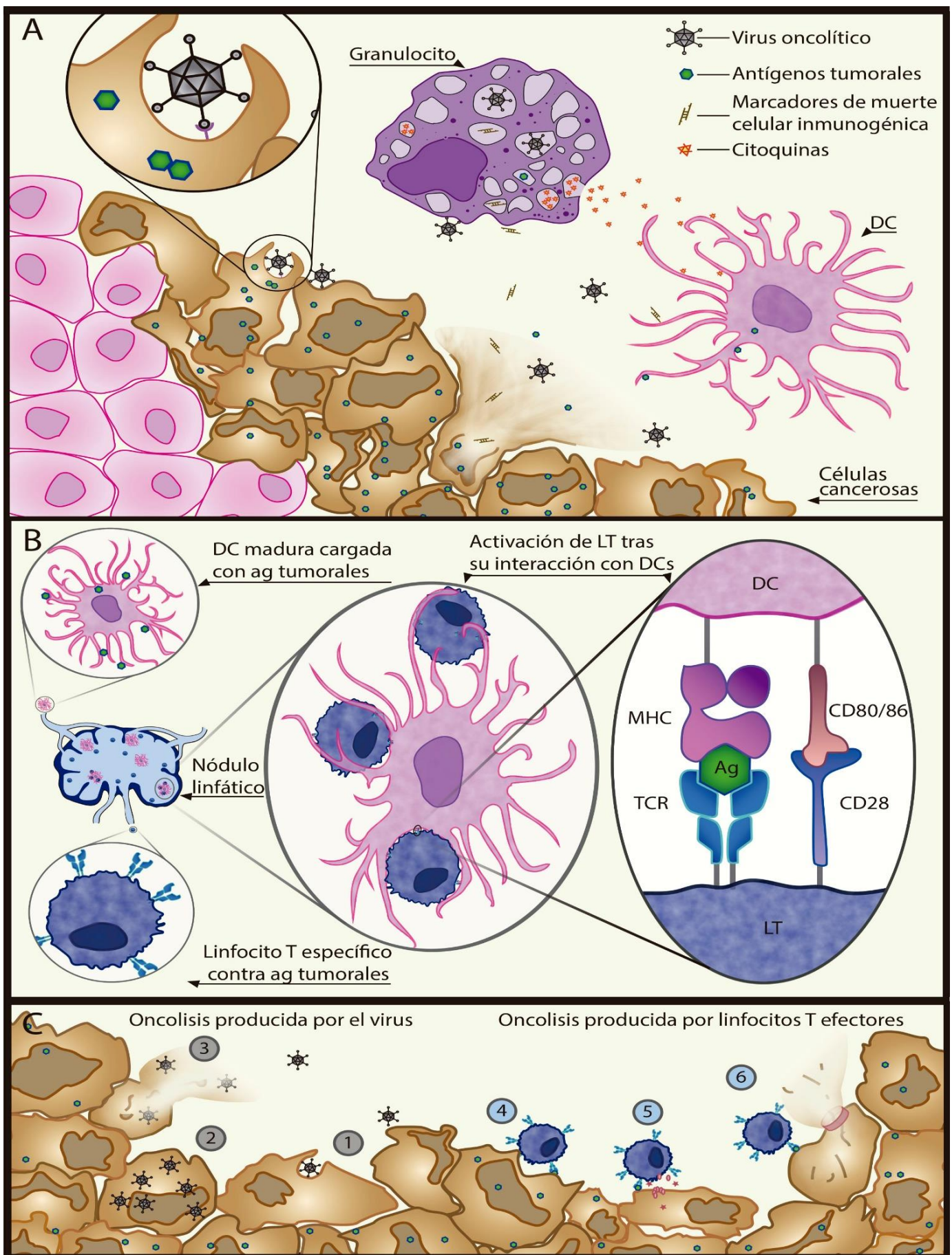


Figura 2. Mecanismo de vacunación *in situ*. A: infección y destrucción de células cancerosas, lo cual genera la liberación de antígenos específicos tumorales y otros componentes que provocan el estado de alarma inmunitaria, permitiendo así la maduración de DCs cargadas con dichos antígenos. B: Activación de los linfocitos capaces de reconocer los antígenos presentados por DCs. C: mecanismo oncolítico directo causado por el virus (1-3) y respuesta adaptativa contra el tumor en la que linfocitos T efectores reconocen antígenos tumorales y lisan esas células (4-6).

Un aspecto particular del tratamiento con vacunas oncolíticas es la necesidad de cambiar los criterios empleados de forma habitual para evaluar la efectividad de dicho tratamiento, como es la evolución del tamaño del tumor incluido en el criterio RECIST (Response Evaluation Criteria In Solid Tumours) (31). A diferencia de otro tipo de tratamiento, las vacunas oncolíticas no muestran, inicialmente, una reducción aparente del tumor, sino que en algunas ocasiones se registra lo contrario. Este hecho puede ser explicado por una inflamación del tumor (debida a la inflamación del tejido e infiltración de diversos componentes del sistema inmune). Además, el desarrollo de una respuesta inmune de este tipo se estima que puede llevar dos o tres meses. Ante estas circunstancias la FDA y la comunidad científica ha establecido una serie de indicaciones para evaluar de una forma más precisa el efecto del tratamiento en el paciente (32). Algunos de los puntos clave son la evaluación de la supervivencia (que no siempre está correlacionada con la disminución del tamaño del tumor durante los primeros meses del tratamiento), la evaluación inmunológica del paciente o una estratificación de pacientes en función de su circunstancia inmunológica. Precisamente algunas de las dificultades a las que se enfrentan los ensayos clínicos con esta modalidad terapéutica son la heterogeneidad de pacientes, puesto que los criterios habituales de estratificación de pacientes contemplan aspectos como la fase de la enfermedad, edad o refractariedad a otros tratamientos, pero pasan por alto puntos tan importantes en esta modalidad como es la condición inmunológica (muchos tratamientos por los que previamente han pasado los pacientes perjudican gravemente al sistema inmune) o la capacidad de infiltración de linfocitos en el tumor. La necesidad de una mejora en el entendimiento de la relación sistema inmune-tumor comentada anteriormente, no es necesaria exclusivamente para mejorar el tratamiento en sí, sino también para entender los resultados del tratamiento.

6.3 Mecanismos de especificidad oncolítica.

Ya se emplee una estrategia virocentrista o bien una inmunocentrista, en todas las estrategias en las que se usan virus para tratar el cancer, la selectividad de los mismos para destruir las células cancerosas es un requisito indispensable. No sólo hay que tener en cuenta la capacidad oncolítica del virus sino que es necesario que sea seguro. Los puntos principales que se evalúan relativos a la seguridad de un virus para usarlo en la terapia antitumoral son: selectividad de lisis celular, probabilidad de que se reviertan las mutaciones volviendo a un estado de patogenicidad, transmisión a individuos sanos, efectos secundarios indeseados y existencia de inmunidad previa al virus (33).

Para conseguir dirigir la capacidad lítica de estos virus hacia las células cancerosas, se urden estrategias basadas en sus diferencias respecto a células sanas (2). Básicamente estas estrategias se pueden agrupar en cinco grupos:

1) Estrategias basadas en las diferencias en procesos apoptóticos.

La evasión de la apoptosis es una de las características de las células cancerosas. En muchas ocasiones es el fruto de diversas mutaciones en los mecanismos controladores de la muerte programada como son la proteína supresora de tumores, p53 o la proteína del retinoblastoma, pRb (34). De la misma forma, ciertos virus incluyen un arsenal inhibitor de la apoptosis en las células que infectan. La causa principal es porque de esta manera se evita que una célula, al detectar la presencia de un virus en sí misma, entre en apoptosis como mecanismo de defensa. La mayoría de adenovirus empleados como virus oncolíticos, se basan en la inactivación de los genes E1A y E1B (33, 35). Los genes E1A y E1B inactivan, al expresarse, la pRb y la p53 respectivamente. Estas inhibiciones significan la entrada de la célula en fase S (donde sucede la síntesis DNA) e inhibición de la apoptosis. De esta manera, los adenovirus con estos genes inactivados no podrán evitar la acción de las proteínas pRb y p53, por lo que su replicación y dispersión hacia otras células se verá interrumpida. Por el contrario, las células tumorales que sufran mutaciones en estas proteínas, serán el candidato ideal para completar el ciclo infectivo del virus modificado.

2) Estrategias basadas en la presencia de diferentes promotores.

Otra forma de generar especificidad en la lisis de células cancerosas se basa en el hecho de que en estas células hay un perfil de expresión de promotores que varía respecto a las células sanas. Esta variación puede ser debida a una producción específica en cuanto a su producción en células cancerosas, como el promotor de E2F-1 activado en células con defectos en la ruta del pRb (34), o bien un promotor expresado específicamente en un tejido que se quiere destruir como sucede con la próstata en pacientes con cáncer de póstata, en los que se usa el promotor de PSA (prostrate specific antigen). Para usar esos promotores como generadores de especificidad, se modifica el genoma del virus de tal forma que la expresión de algún gen imprescindible para el virus sea dependiente de esos mismos promotores, así sólo completarán el ciclo viral en las células con los promotores elegidos.

3) Estrategias basadas en las diferencias de respuesta frente al virus.

La diferencia de respuesta frente a la infección viral entre una célula sana y una cancerosa, también puede ser un recurso para aprovechar a la hora de diseñar un mecanismo de especificidad. En muchos cánceres se ha observado la ausencia expresión de IFN- β ante una infección viral, al contrario de lo que sucede en células sanas. El papel del IFN- β es inducir en las células vecinas un estado de defensa contra la infección por virus, reduciendo la actividad de la maquinaria de traducción convirtiéndose en mal objetivo para la propagación de la infección. De esta manera, se diseñan virus que inducen una potente expresión de IFN- β , así en las células sanas la propagación es prácticamente nula mientras que, en las cancerosas, debido a sus defectos en la producción del interferón, se propagan con mucha mayor facilidad (36). Otras estrategias similares abordan la expresión de genes de virulencia del virus que son requisito indispensable en la infección de células sanas pero prescindibles en determinados tipos de cáncer (37).

4) Estrategias basadas en la diferencia en cuanto a proteínas expresadas.

Un factor más a tener en cuenta para dirigir los virus a las células tumorales es el hecho de que éstas expresan o sobreexpresan algunas moléculas. Algunas de esas moléculas pueden ser las utilizadas por los virus para reconocer la célula e infectarla. El virus Coxsakievirus A21, por ejemplo, reconoce células que expresen ICAM-1 y DAF, el Poliovirus infecta células que expresen CD155, el enterovirus Echovirus tipo 1 infecta preferentemente células que sobreexpresen el dominio I de la integrina $\alpha 2\beta 1$ (33). Por este motivo, tan importante es modificar mediante ingeniería genética el virus como elegir un virus u otro en función de las características del tumor. No sólo por la selectividad sino también porque cada virus genera una respuesta inmunitaria particular, que puede ser más o menos óptima para generar una respuesta inmune contra ese tumor (24, 26). También es posible generar especificidad modificando al virus para que exprese anticuerpos de cadena simple o ligandos que se unan a los receptores que expresan las células cancerosas, incluso introduciendo el virus en un vector con afinidad por éstas (38).

5) Estrategias basadas en las diferencias en el microentorno tumoral

Otro factor más con el que jugar, es las características del microambiente tumoral. La hipoxia, la presencia de ciertas proteasas o la angiogénesis pueden ser aprovechadas

para ganar especificidad. Para ello se puede regular la expresión de genes vitales para el virus con éstas características propias del entorno tumoral (39).

Para conseguir una mayor especificidad, a la hora de llevar estas estrategias a la realidad, se apuesta por combinar varias de éstas para conseguir mejores resultados (33, 39, 40).

Otra forma de generar especificidad independientemente de las características intrínsecas del virus o del tumor radica en la elección de la ruta de administración. En este sentido, la ruta elegida en la mayoría de los casos es la intratumoral, puesto que así se consigue una carga viral en el tumor mucho mayor de la que se conseguiría administrando por vía intravenosa la misma cantidad de virus. Con ello se aumenta la efectividad del tratamiento, la seguridad y además se mantiene reducida la alarma inmune al entorno tumoral (41). Este tipo de administración tampoco supone que el virus se restrinja únicamente al tumor, puesto que es probable que en mayor o menor medida escape de la zona llegando a distribuirse sistémicamente. En cualquier caso, a día de hoy no se han producido muertes debidas ninguno de los virus oncolíticos modificados mediante ingeniería genética, en los pacientes tratados con éstos (42).

7. CONCLUSIONES.

El nacimiento de la inmunoterapia del cáncer ha abierto la puerta a nuevos tratamientos que pretenden generar una respuesta personalizada frente al mutanoma específico cada paciente. Además, consigue generar una acción selectiva respecto a células sanas y capaz de mantenerse efectiva a lo largo del tiempo gracias a la capacidad de memoria del sistema inmune. Para conseguir estos resultados es prioritario revertir el estado de inmunosupresión inherente al entorno tumoral, que impide que se efectúe una respuesta de tipo inmunitaria eficaz. Una herramienta útil para dicho fin son los virus oncolíticos que son diseñados para destruir específicamente las células del tumor y además generar una situación de alarma inmunológica en el entorno que consiga romper la inmunosupresión y desencadenar la generación de ésta respuesta inmune de tipo adaptativa. Por eso se conoce a esta línea de tratamiento como vacunas oncolíticas. Un conocimiento más profundo del campo permitirá la

optimización del diagnóstico y tratamiento de la enfermedad para en última instancia, conseguir un tratamiento curativo contra el cáncer.

8. BIBLIOGRAFÍA.

1. Spanish Statistics National Institute [Internet]. Madrid (Spain): Defunciones según la causa de muerte. c2015 – [updated 2015 Feb 27; cited 2015 Dec 12]. Available from: <http://www.ine.es/jaxi/menu.do?type=pcaxis&path=/t15/p417&file=inebase&L=0>.
2. Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell*. 2011;144(5):646-74.
3. IARC [Internet]. Lyon (France): GLOBOCAN 2012. Estimated cancer incidence, mortality and prevalence worldwide in 2012. c2015 – [updated 2012; cited 2015 Dec 12]. Available from: http://globocan.iarc.fr/Pages/burden_sel.aspx.
4. Mellman I, Coukos G, Dranoff G. Cancer immunotherapy comes of age. *Nature*. 2011;480(7378):480-9.
5. Drake CG. Prostate cancer as a model for tumour immunotherapy. *Nat Rev Immunol*. 2010;10(8):580-93.
6. Joura EA, Giuliano AR, Iversen OE, Bouchard C, Mao C, Mehlsen J, et al. A 9-valent HPV vaccine against infection and intraepithelial neoplasia in women. *The New England journal of medicine*. 2015;372(8):711-23.
7. Chang MH, You SL, Chen CJ, Liu CJ, Lee CM, Lin SM, et al. Decreased incidence of hepatocellular carcinoma in hepatitis B vaccinees: a 20-year follow-up study. *Journal of the National Cancer Institute*. 2009;101(19):1348-55.
8. Di Lorenzo G, Buonerba C, Kantoff PW. Immunotherapy for the treatment of prostate cancer. *Nature reviews Clinical oncology*. 2011;8(9):551-61.
9. FDA [Internet]. Silver Spring, MD (USA): Talimogene Laherparepvec. c2015 – [updated 2015 Nov 15; cited 2015 Dec 28]. Available from: <http://www.fda.gov/drugs/informationondrugs/approveddrugs/ucm476925.htm>
10. Committee for Medicinal Products for Human Use, EMA [Internet]. London (UK): Imlygic (talimogene laherparepvec) initial authorisation. c2015 – [updated 2015 Oct 22; cited 2015 Dec 28]. Available from: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Summary_of_opinion_-_Initial_authorisation/human/002771/WC500195907.pdf.
11. Herrero JI. De novo malignancies following liver transplantation: impact and recommendations. *Liver Transpl*. 2009;15 Suppl 2:S90-4.

12. Petoumenos K, van Leuwen MT, Vajdic CM, Woolley I, Chuah J, Templeton DJ, et al. Cancer, immunodeficiency and antiretroviral treatment: results from the Australian HIV Observational Database (AHOD). *HIV Med.* 2013;14(2):77-84.
13. Wolfe F, Michaud K. Biologic treatment of rheumatoid arthritis and the risk of malignancy: analyses from a large US observational study. *Arthritis Rheum.* 2007;56(9):2886-95.
14. Galon J, Costes A, Sanchez-Cabo F, Kirilovsky A, Mlecnik B, Lagorce-Pages C, et al. Type, density, and location of immune cells within human colorectal tumors predict clinical outcome. *Science.* 2006;313(5795):1960-4.
15. Mittal D, Gubin MM, Schreiber RD, Smyth MJ. New insights into cancer immunoediting and its three component phases--elimination, equilibrium and escape. *Curr Opin Immunol.* 2014;27:16-25.
16. Vesely MD, Schreiber RD. Cancer immunoediting: antigens, mechanisms, and implications to cancer immunotherapy. *Annals of the New York Academy of Sciences.* 2013;1284:1-5.
17. Koebel CM, Vermi W, Swann JB, Zerafa N, Rodig SJ, Old LJ, et al. Adaptive immunity maintains occult cancer in an equilibrium state. *Nature.* 2007;450(7171):903-7.
18. Ahn YH, Hong SO, Kim JH, Noh KH, Song KH, Lee YH, et al. The siRNA cocktail targeting interleukin 10 receptor and transforming growth factor-beta receptor on dendritic cells potentiates tumour antigen-specific CD8(+) T cell immunity. *Clin Exp Immunol.* 2015;181(1):164-78.
19. Orsini G, Legitimo A, Failli A, Ferrari P, Nicolini A, Spisni R, et al. Defective generation and maturation of dendritic cells from monocytes in colorectal cancer patients during the course of disease. *International journal of molecular sciences.* 2013;14(11):22022-41.
20. Kelly E, Russell SJ. History of oncolytic viruses: genesis to genetic engineering. *Molecular therapy : the journal of the American Society of Gene Therapy.* 2007;15(4):651-9.
21. Thomas MA, Spencer JF, Toth K, Sagartz JE, Phillips NJ, Wold WS. Immunosuppression enhances oncolytic adenovirus replication and antitumor efficacy in the Syrian hamster model. *Molecular therapy : the journal of the American Society of Gene Therapy.* 2008;16(10):1665-73.
22. Haralambieva I, Iankov I, Hasegawa K, Harvey M, Russell SJ, Peng KW. Engineering oncolytic measles virus to circumvent the intracellular innate immune response. *Molecular therapy : the journal of the American Society of Gene Therapy.* 2007;15(3):588-97.
23. Lichty BD, Breitbach CJ, Stojdl DF, Bell JC. Going viral with cancer immunotherapy. *Nat Rev Cancer.* 2014;14(8):559-67.

24. Alemany R, Cascallo M. Oncolytic viruses from the perspective of the immune system. *Future microbiology*. 2009;4(5):527-36.
25. Bowie AG, Unterholzner L. Viral evasion and subversion of pattern-recognition receptor signalling. *Nat Rev Immunol*. 2008;8(12):911-22.
26. Zamarin D, Pesonen S. Replication-Competent Viruses as Cancer Immunotherapeutics: Emerging Clinical Data. *Human gene therapy*. 2015;26(8):538-49.
27. Gulley JL. Therapeutic vaccines: the ultimate personalized therapy? *Hum Vaccin Immunother*. 2013;9(1):219-21.
28. Elsedawy NB, Russell SJ. Oncolytic vaccines. *Expert Rev Vaccines*. 2013;12(10):1155-72.
29. Mantovani A, Allavena P, Sica A, Balkwill F. Cancer-related inflammation. *Nature*. 2008;454(7203):436-44.
30. Li QX, Liu G, Wong-Staal F. Oncolytic virotherapy as a personalized cancer vaccine. *International journal of cancer Journal international du cancer*. 2008;123(3):493-9.
31. Eisenhauer EA, Therasse P, Bogaerts J, Schwartz LH, Sargent D, Ford R, et al. New response evaluation criteria in solid tumours: revised RECIST guideline (version 1.1). *European journal of cancer*. 2009;45(2):228-47.
32. Ogi C, Aruga A. Approaches to improve development methods for therapeutic cancer vaccines. *Immunol Lett*. 2015;164(2):100-8.
33. Singh PK, Doley J, Kumar GR, Sahoo AP, Tiwari AK. Oncolytic viruses & their specific targeting to tumour cells. *The Indian journal of medical research*. 2012;136(4):571-84.
34. Bouchet BP, Caron de Fromentel C, Puisieux A, Galmarini CM. p53 as a target for anti-cancer drug development. *Crit Rev Oncol Hematol*. 2006;58(3):190-207.
35. Hirvonen M, Rajecki M, Kapanen M, Parviainen S, Rouvonen-Lagerstrom N, Diaconu I, et al. Immunological effects of a tumor necrosis factor alpha-armed oncolytic adenovirus. *Human gene therapy*. 2015;26(3):134-44.
36. Russell SJ, Peng KW. Viruses as anticancer drugs. *Trends Pharmacol Sci*. 2007;28(7):326-33.
37. Sarinella F, Calistri A, Sette P, Palu G, Parolin C. Oncolysis of pancreatic tumour cells by a gamma34.5-deleted HSV-1 does not rely upon Ras-activation, but on the PI 3-kinase pathway. *Gene therapy*. 2006;13(14):1080-7.
38. Bunuales M, Garcia-Aragoncillo E, Casado R, Quetglas JI, Hervas-Stubbs S, Bortolanza S, et al. Evaluation of monocytes as carriers for armed oncolytic adenoviruses in murine and Syrian hamster models of cancer. *Human gene therapy*. 2012;23(12):1258-68.

39. Guo ZS, Thorne SH, Bartlett DL. Oncolytic virotherapy: molecular targets in tumor-selective replication and carrier cell-mediated delivery of oncolytic viruses. *Biochimica et biophysica acta*. 2008;1785(2):217-31.
40. Wakayama M, Abei M, Kawashima R, Seo E, Fukuda K, Ugai H, et al. E1A, E1B double-restricted adenovirus with RGD-fiber modification exhibits enhanced oncolysis for CAR-deficient biliary cancers. *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research*. 2007;13(10):3043-50.
41. Russell SJ, Peng KW, Bell JC. Oncolytic virotherapy. *Nature biotechnology*. 2012;30(7):658-70.
42. Koski A, Bramante S, Kipar A, Oksanen M, Juhila J, Vassilev L, et al. Biodistribution Analysis of Oncolytic Adenoviruses in Patient Autopsy Samples Reveals Vascular Transduction of Noninjected Tumors and Tissues. *Molecular therapy : the journal of the American Society of Gene Therapy*. 2015;23(10):1641-52.

Todas las imágenes y figuras presentes en este documento han sido creadas por Víctor E. Cervera Carrascón y se reserva Copyright de dichas obras.