



**Universitat de les  
Illes Balears**

Facultad de Ciencias

**Memoria del Trabajo de Final de Grado**

# **Presente y futuro de la inmunoterapia en el tratamiento del cáncer**

Maria Augusta Barreira Batista

Grado de Bioquímica

Año académico 2018-19

Trabajo tutelado por: Silvia Fernández de Mattos

Departamento de Biología Fundamental i Ciencias de la Salud

Se autoriza a la Universidad a incluir mi Trabajo en su Repositorio Institucional para su consulta en acceso abierto y difusión en línea con finalidades exclusivamente académicas y de investigación.	Autor		Tutor	
	Sí	No	Sí	No
	X		X	

Palabras clave del trabajo: **inmunoterapia, cáncer, PD-1/PD-L1, CTLA-4, Anticuerpos monoclonales, células CAR-T, TIL.**



# ÍNDICE

## 1. RESUMEN

## 2. INTRODUCCIÓN

## 3. OBJETIVOS

## 4. MATERIALES Y MÉTODOS

## 5. RESULTADOS

5.1 Análisis de la relevancia historia de la inmunoterapia como terapia contra el cáncer.

5.2 Análisis sobre los diferentes tipos de inmunoterapias

5.2.1 Inhibidores de puntos de control

- Ac anti-PD-1/PD-L1
- Ac anti-CTLA-4

5.2.2 Transferencia adoptiva celular (ACT)

- TIL ( células T infiltrante de tumor)
- Células CAR-T

5.2.3 Anticuerpos monoclonales

5.3 Efectos adversos provocados por el uso de estos tipos de inmunoterapias

## 6. CONCLUSIÓN

## 7. REFERENCIAS

## 1. RESUMEN

La inmunoterapia no adquirió gran importancia hasta el año 1945, cuando se empezó a publicar los primeros artículos relacionados con la también denominada **terapia biológica**; sin embargo, no fue hasta el año 1970 cuando se empezó a dar una gran expansión de esta. Este tipo de terapia ha sufrido una gran evolución a lo largo de los años, es por eso que para resaltar su auge actual se ha llevado a cabo una búsqueda de datos bibliográficos en los diferentes periodos de tiempo mediante el uso de palabras clave. Actualmente es utilizada como tratamiento contra el cáncer, gracias a su capacidad de intensificar la acción del sistema inmunitario contra las células tumorales de manera directa o mediante su excitación.

Existen diferentes tipos de mecanismos que pueden ser utilizados para este tipo de terapia, a lo largo de este trabajo se comentan los tres tipos más utilizados: **los anticuerpos con la capacidad de inhibir puntos de control, la transferencia adoptiva celular** en la que se lleva a cabo una modificación de las células T de manera *ex vivo* y **los anticuerpos monoclonales** capaces de actuar como marcadores para potenciar el ataque sobre las células cancerosas. No obstante, a pesar de que se observe una mejoría en un elevado número de pacientes con diferentes tipos de cánceres gracias a los tratamientos establecidos, hay una serie de factores que impiden una respuesta eficiente en ciertos tipos de cánceres y es por eso que aún se está estudiando diferentes estrategias para hacer frente a los posibles efectos adversos y conseguir en un futuro una mejor comprensión de los mecanismos de control inmunológico y respuestas favorables en la mayoría de pacientes que padecen la enfermedad.

Por lo tanto, el desarrollo de la inmunoterapia contra el cáncer y su rápido avance a lo largo de los años puede hacer que se convierta en un prometedor tratamiento oncológico.

## 2. INTRODUCCIÓN

A lo largo de la historia se han identificado tres grandes pilares para el tratamiento contra el cáncer: la cirugía, la quimioterapia y la radioterapia. Actualmente se empieza a hablar de un cuarto pilar, **la inmunoterapia**.

El concepto de la inmunoterapia se empezó a usar durante el siglo XIX, en el que se usaba la respuesta inmunitaria para el tratamiento de diferentes tipos de enfermedades. El gran precursor de la inmunoterapia fue el Dr. William Coley (siglo XIX), que durante el año 1891 trató por primera vez a un paciente de sarcoma con la bacteria **Streptococcus pyogenes**, consiguiendo una regresión tumoral y una supervivencia del paciente durante 8 años. Posteriormente, decidió combinar para el tratamiento, mezclas de **Streptococcus**

***pyogenes* y *Serratia marcescens*** vivos e inactivos junto con endotoxinas activas en los tumores de los pacientes, obteniendo respuestas favorables y duraderas en cánceres como el carcinoma testicular, linfoma y sarcoma, a pesar de la gran variedad de efectos adversos considerables debido a las infecciones causadas por las bacterias.<sup>1</sup>

Sin embargo, debido al desconocimiento de los mecanismos de acción de las toxinas y el elevado riesgo de infecciones, los oncólogos aumentaron el uso de la cirugía y la radioterapia a principios del siglo XX, en el que se empezó a desarrollar las diferentes estrategias para conseguir una buena activación y uso del sistema inmunitario para el tratamiento del cáncer. Fue en el año 1957, que gracias a la **teoría de la inmunovigilancia** del cáncer de Thomas y Lewis Burnet, teoría que sugiere la capacidad de los linfocitos de identificar y eliminar las células somáticas mutadas, se empezó a usar la inmunoterapia contra el cáncer. Aunque, el crecimiento de esta técnica se empezó a observar a partir del año 1970, donde el número de publicaciones y ensayos clínicos crecen exponencialmente. Uno de los grandes descubrimientos en la historia de la inmunoterapia fue en el año 1976, la función de la interleucina 2 (IL-2), un factor de crecimiento de las células T, que permitió conseguir por primera vez el cultivo de las células T in vitro.<sup>2</sup>

Las células cancerosas tienen la capacidad de desarrollar una serie de mecanismos capaces de evitar las respuestas antitumorales, permitiendo que en la célula huésped se dé un crecimiento progresivo del tumor. A lo largo de los años se han estudiado los diferentes mecanismos capaces de hacer frente a estas células, entre ellos ha ido adquiriendo una gran importancia los diferentes tratamientos basados en la inmunoterapia, que tras la realización de ensayos clínicos se han ido aprobando por la FDA, para su uso clínico.<sup>1</sup>

**La inmunoterapia o la también denominada terapia biológica** se trata de un tipo de terapia utilizada para el tratamiento del cáncer, basada en la estimulación de las defensas naturales del organismo para atacar a las células tumorales actuando de diferentes maneras sobre los leucocitos, la primera defensa del organismo contra enfermedades.<sup>3</sup> Además tiene la capacidad de contrarrestar las señales producidas por células cancerosas, que suprimen las respuestas del sistema inmunitario, a diferencia de otras terapias convencionales en las cuales el ataque se dirige directamente al tumor. Este tipo de terapia tiene diferentes tipos de administración, entre las cuales se encuentra la vía tópica, la oral, la intravenosa y la intravesicular.<sup>4</sup>

En este trabajo se reúnen los principales tipos de inmunoterapia utilizados en la clínica actualmente, entre los cuales se encuentran:

- **Los inhibidores de los puntos de control inmunitario**, una de las opciones de tratamiento contra el cáncer más exitosas en los últimos años, con la capacidad de fortalecer la respuesta de las células T contra el tumor evitando la actuación de moléculas capaces de inhibir la función de células T.
- **La transferencia adoptiva celular**, en el que se trata con las propias células T, es decir se aíslan los linfocitos del propio paciente con la enfermedad que estén suficientemente dotados para actuar contra los antígenos tumorales y *ex vivo* en el laboratorio, se aumenta la capacidad de ataque para poder combatir el cáncer; un ejemplo de este tipo de terapia serían las células **CAR-T** o los conocidos como linfocitos tumorales infiltrantes (**TIL**).
- **Los anticuerpos monoclonales** elaborados en el laboratorio para actuar como marcadores de las células cancerígenas y por tanto facilitar el reconocimiento por parte del sistema inmunitario.

Sin embargo el uso de estos tipos de terapias puede causar efectos adversos sobre los pacientes y afectar de diferentes maneras no solamente dependiendo de la terapia recibida o la dosis de ésta, sino que también depende de varios factores como pueden ser el estado físico de la persona, lo avanzada que esté la enfermedad y el tipo de cáncer que presenta, entre otros. <sup>4</sup>

### 3. OBJETIVOS

Se lleva a cabo tres principales objetivos para la realización de este trabajo:

- Valorar el impacto bibliográfico de la inmunoterapia en el tratamiento del cáncer, analizando el número y tipo de artículos publicados a lo largo de los años.
- Revisar los diferentes tipos de inmunoterapia y recoger la información fundamental de aquellos que hayan tenido mayor relevancia hasta la fecha.
- Efectos adversos que pueden ocasionar el uso de este tipo de terapia.

#### 4. MATERIALES Y MÉTODOS

Para llevar a cabo una búsqueda ampliada y con suficiente información para la realización de este trabajo, además de la consulta en algunas páginas fiables sobre el cáncer, como puede ser la página web del **Instituto Nacional del Cáncer** y algunas revisiones relacionadas con el tema, se ha utilizado la base de datos **PubMed**, donde mediante los comandos de búsqueda, se ha utilizado una combinación de diferentes palabras relacionadas con el tema.

Para poder observar la relevancia de la inmunoterapia contra el cáncer en la comunidad científica y los tipos de inmunoterapias utilizadas actualmente, se ha realizado una búsqueda bibliográfica con la finalidad de comparar la importancia que ha ido adquiriendo a lo largo de los años. Para abarcar todos los artículos científicos que tratan sobre la inmunoterapia contra el cáncer se ha utilizado una combinación de palabras: ***((cancer) AND immunotherapy)***. Esta búsqueda engloba todos los artículos sobre las investigaciones que se han llevado a cabo durante los años hasta la actualidad, para así poder tener una mayor observación sobre la relevancia que va adquiriendo la inmunoterapia y su uso como tratamiento del cáncer en las últimas décadas.

Además, para enfocar las terapias más relevantes utilizadas actualmente se realizó una búsqueda con las palabras clave recopiladas en la siguiente tabla, donde para valorar la relevancia de estos tipos de inmunoterapias a lo largo de los años, se llevó a cabo una comparación en la cantidad de artículos publicados hasta la actualidad.

Tipos de inmunoterapias	Palabras clave
Inhibidores puntos de control (PD-1/PD-1L)	<b><i>((cancer) AND immunotherapy) AND programmed death 1),</i></b>
Inhibidores punto de control (CTLA-4)	<b><i>((cancer) AND immunotherapy) AND CTLA-4)</i></b>
Transferencia adoptiva celular (CAR-T cells)	<b><i>((cancer) AND immunotherapy) AND car-t cells)</i></b>
Anticuerpos monoclonales	<b><i>((cancer) AND immunotherapy) AND monoclonal antibodies)</i></b>
TIL (Linfocitos de infiltración tumoral)	<b><i>((cancer) AND immunotherapy) AND tumor infiltrating lymphocytes))</i></b>

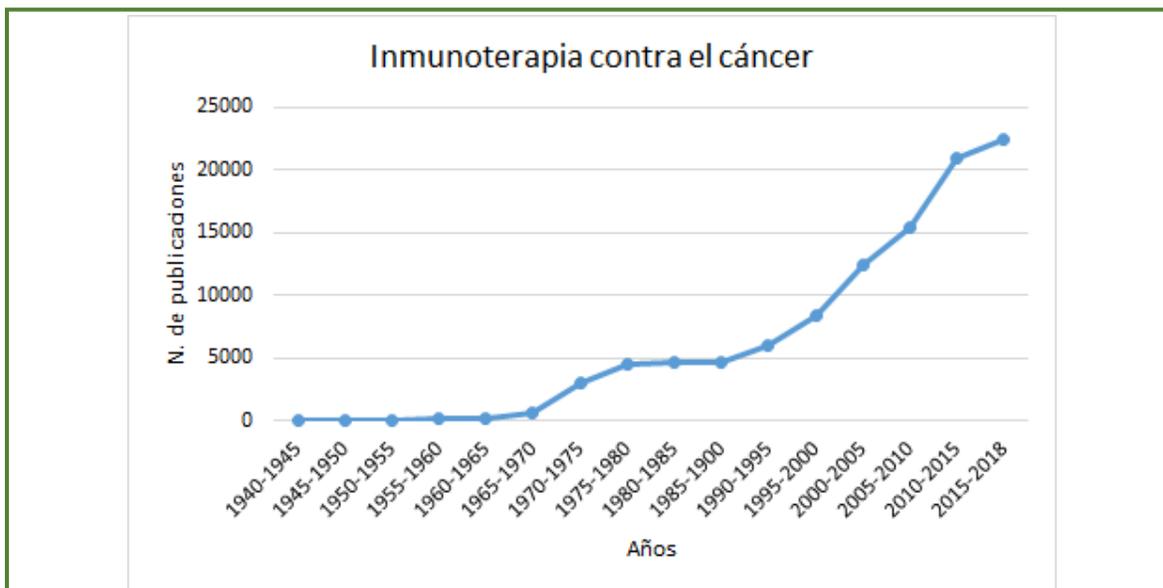
A partir de los artículos obtenidos durante la búsqueda en la base de datos, de manera subjetiva se hizo una elección de aquellos que considerablemente tenían más relevancia y contenían la suficiente información necesaria, además de utilizarlos para poder acceder a los artículos relacionados mencionados en sus respectivas bibliografías.

## 5. RESULTADOS

### 5.1 Análisis sobre la relevancia histórica de la inmunoterapia como terapia contra el cáncer

El primer objetivo del trabajo es el de llevar a cabo una valoración de la importancia de las diferentes terapias inmunológicas para tratar el cáncer a lo largo de los años y hacer una comparación entre su relevancia historia y el número de publicaciones a lo largo de la historia.

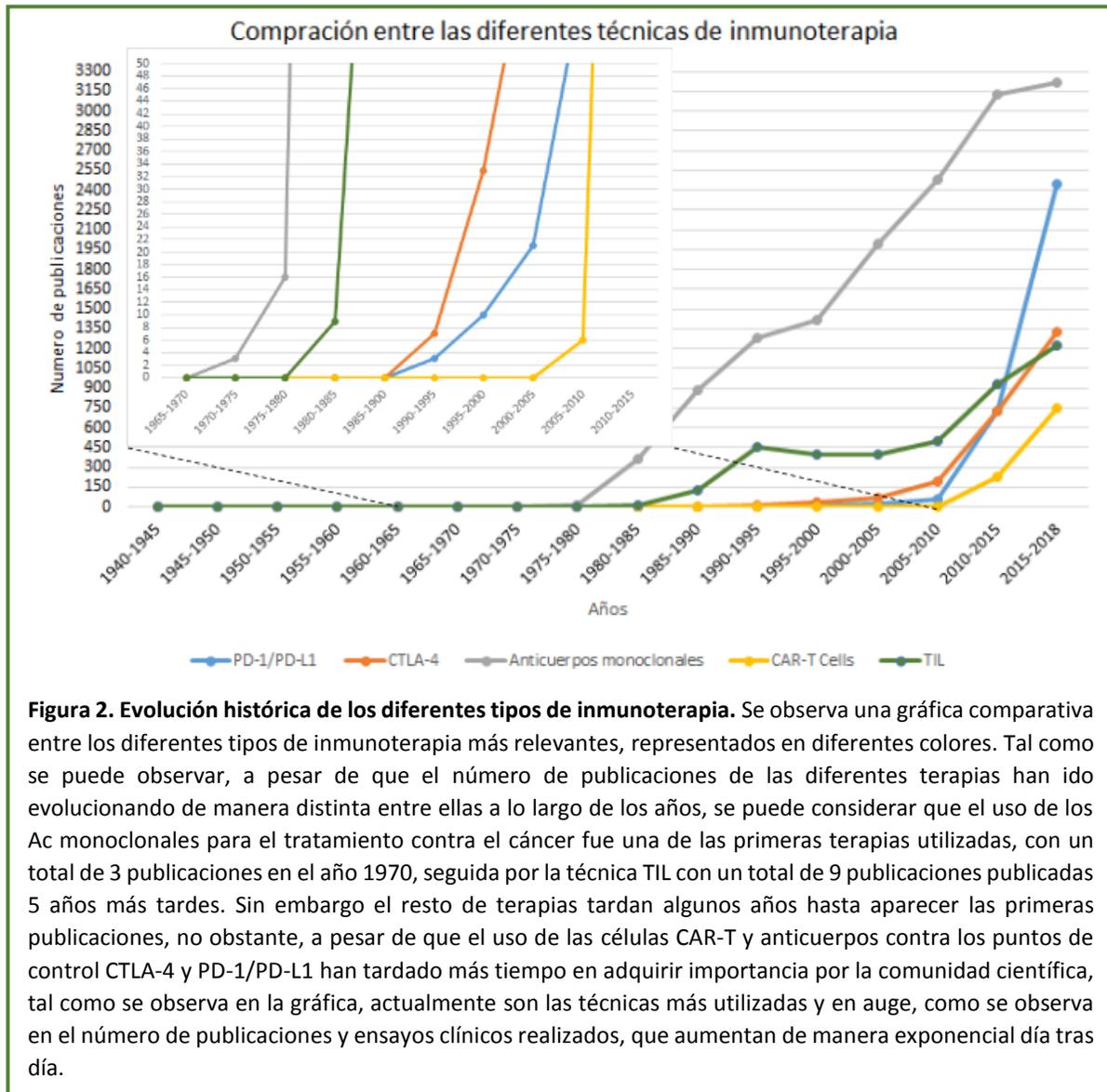
Por un lado para comparar la relevancia del uso de este tipo de terapia a lo largo de los años, se realizó una búsqueda en la base de datos con las palabras clave (**((cancer) AND immunotherapy))**, donde se observaron los primeros artículos publicados entre 1945-1950 con un total de 16 artículos, y un crecimiento exponencial a lo largo de los años hasta la actualidad, en el que el número de artículos publicados ha aumentado hasta un total de 22.391, tal como se puede observar en la **(Figura 1)**.



**Figura 1. Evolución historia sobre el interés de la inmunoterapia como tratamiento contra el cáncer.** Se observa una gráfica con el número de publicaciones realizadas a lo largo de los años, exactamente desde 1940 hasta la actualidad; las primeras publicaciones sobre este tipo de terapia empiezan en el año 1945, con un total de 16 publicaciones y se observa un gran crecimiento exponencial a lo largo de los años, sobre todo a partir de 1970, donde se el aumento del número de publicaciones es bastante significativo, con un total de 3061.

Por otro lado, se hizo una búsqueda de los diferentes tipos de inmunoterapias más relevantes a lo largo de los años con las palabras clave (((cancer) AND immunotherapy) AND programmed death 1) , (((cancer) AND immunotherapy) AND CTLA-4)), (((cancer) AND immunotherapy) AND car-t cells) , (((cancer) AND immunotherapy) AND monoclonal antibodies)), (((cancer) AND immunotherapy) AND tumor infiltrating lymphocytes)),

Además de llevar a cabo la búsqueda de las diferentes inmunoterapias por separado, se ha llevado a cabo una comparación entre ellas observando la relevancia de cada una a lo largo de los años mediante una gráfica (Figura 2).



Por último, con el fin de analizar los diferentes ensayos clínicos llevados a cabo con las diferentes técnicas de inmunoterapia, además de utilizar la página web <https://clinicaltrials.gov>, se ha introducido en la base de datos las palabras clave: **((immunotherapy) AND cancer)** seleccionando el apartado de **Clinical Trial**.

## 5.2. Análisis sobre los diferentes tipos de inmunoterapias relevantes a lo largo de los años

Como ya se ha comentado anteriormente, la inmunoterapia ha adquirido una gran importancia a lo largo de estas últimas décadas y con ella las diferentes tipos de tratamientos utilizados, gracias a la aprobación de la FDA como uso clínico. A pesar de existir una gran cantidad de tipos de inmunoterapias, se ha hecho una selección de los tres tipos de inmunoterapias más relevantes actualmente.

A continuación, se presentan las bases moleculares y las características principales estos tres tipos de inmunoterapia. Para cada tipo de inmunoterapia se explica un ensayo clínico realizado con la respectiva técnica.

### 5.2.1 INHIBIDORES DEL PUNTO DE CONTROL

Uno de los diferentes tipos de inmunoterapias más utilizados son los **inhibidores del punto de control**, cuya función principal es ayudar al sistema inmunitario a actuar de manera más agresiva contra el tumor, sin actuar directamente contra este. Tratan de impedir que las células cancerosas puedan eludir al ataque del sistema inmunitario mediante la inhibición de moléculas capaces de detener la acción de las células T, como las moléculas PD-1/PD-L1 y los CTLA-4.

#### ○ **Ac anti-PD-1/ PD-L1**

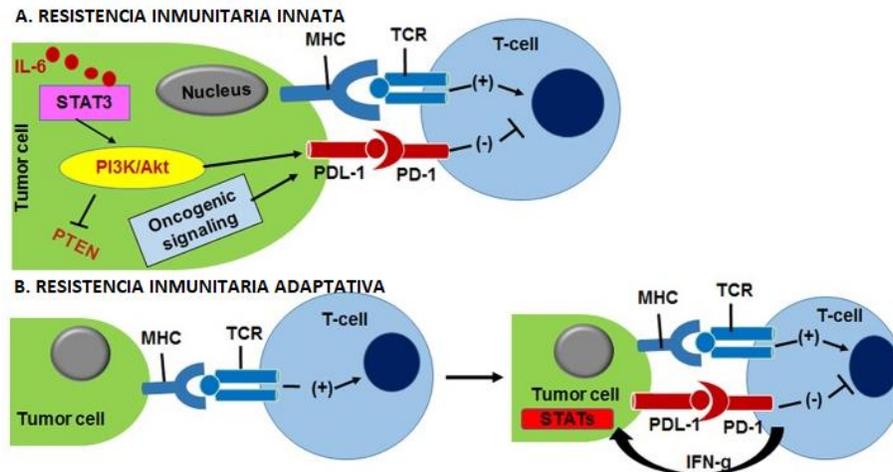
Uno de los primeros hallazgos clínicos en esta terapia fue **la molécula PD-1 (programmed cell death 1)** descubierta por el inmunólogo Tasiku Honjo en el año 1992, en la universidad de Kioto en Japón. Se trata de una molécula del sistema inmunológico con capacidad de coestimular la inhibición de las células T, actuando en contra de las propias defensas.<sup>5</sup>

Esta molécula se expresa en una gran variedad de células inmunes, como las células B, células T, células dendríticas y monocitos. Estas células se protegen de la muerte celular cuando se produce la unión con los ligandos **PD-L1** (presentes en células hematopoyéticas y no hematopoyéticas) o **PD-L2** (presente en células hematopoyéticas como células dendríticas, células B y ciertas células epiteliales). La expresión del ligando PD-L1 es menor

que la del ligando PD-L2 a pesar de que éste último presenta mayor afinidad por su receptor. <sup>6</sup>

PD-1 regula la activación de las células T mediante la unión a su ligando (PD-L1 o PD-L2). Cuando se une al ligando PD-L1 se produce una disfunción y un agotamiento de las células T, haciendo que las respuestas adaptativas de las células T CD4<sup>+</sup> disminuyan y se dé un aumento en la producción de IL-10, cuya función principal es la de disminuir y regular las respuestas inmunes provocadas por las células dendríticas y macrófagos.<sup>7</sup>

La expresión de PD-1 en la superficie de las células T se activa cuando tiene lugar la unión de la célula T con el antígeno, dando lugar a una estimulación en la liberación de citoquinas inflamatorias, de manera que al tener en el tejido PD-1 activado, se une con su ligando produciendo una tolerancia inmunitaria. La reducción en la activación de las células T se produce debido a la unión de PD-1 y su ligando, que provoca la fosforilación de los motivos de tirosina, como ITIM, causando el reclutamiento de la tirosina fosfatasa (SHP2), encargada de desfosforilar moléculas implicadas en la señalización de TCR, disminuyendo su señal. <sup>6</sup> Además, la expresión de PD-L1 se encuentra regulada positivamente por las quinasas PI3K-Akt o por la secreción de IFN-gamma, produciéndose dos tipos de resistencias inmunitarias, **la resistencia inmune innata** y **la resistencia inmune adaptativa (Figura 3)**. En cuanto a la **resistencia inmune innata**, la expresión de PD-L1 está regulada debido a la inhibición del supresor tumoral PTEN, por parte de PI3K-Akt, que a su vez están activadas por STAT3 y que a su vez está modulada por la liberación de citoquinas inflamatorias como la IL-6. En cuanto a la **resistencia inmune adaptativa**, la expresión de PD-L1 se induce debido a la secreción por parte de las células tumorales del IFN-gamma, un pro-inflamatorio de las células tumorales, que tiene la capacidad de neutralizar las respuestas inmunes antitumorales inducidas por las células T citotóxicas CD8<sup>+</sup>. <sup>7</sup>

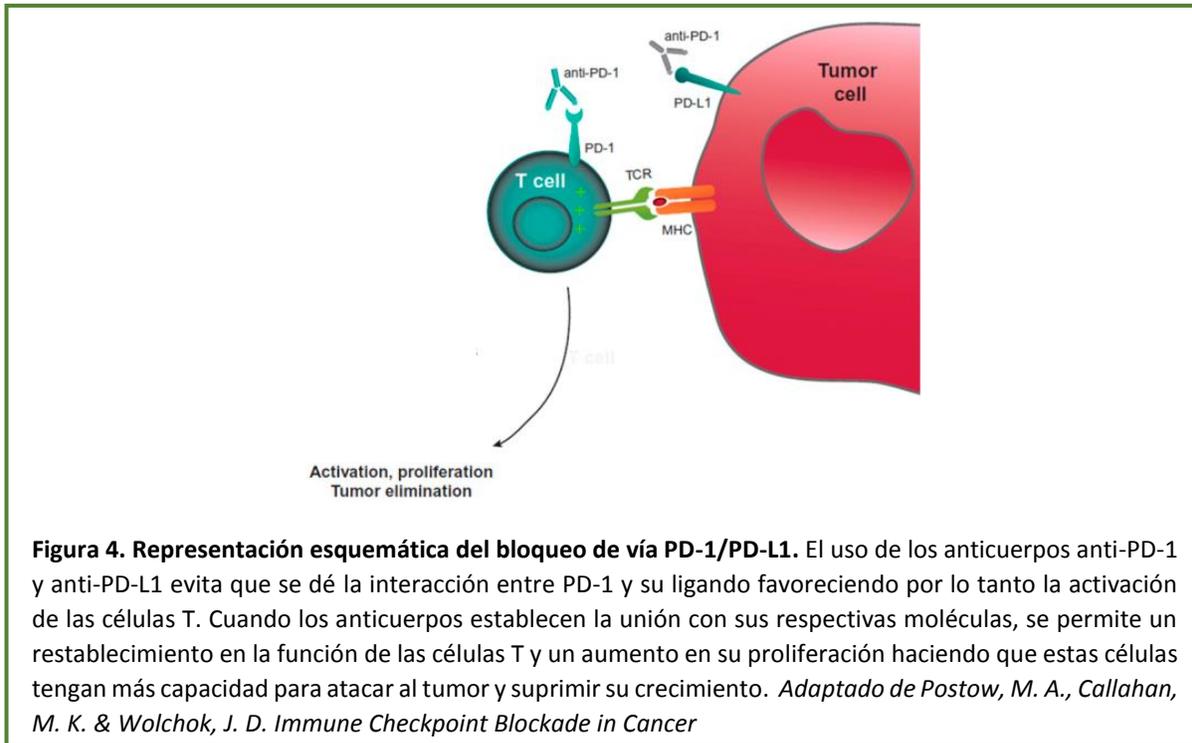


**Figura 3. Representación esquemática de la expresión de PD-L1. A) Resistencia inmunitaria innata** adquirida en la célula tumoral, en el que la expresión de PD-L1 se ve regulada por la actuación de PI3K/Akt, activada por señales oncológicas y por la actuación de STAT, que a su vez esta activada por la acción de la IL-6, haciendo que al producirse la activación del ligando de PD-1, se de una interacción entre estas dos moléculas y por tanto las células T tengan su función inhibida. Además la activación de PI3K/Akt, actúa inhibiendo la acción de la proteína PTEN, que tiene una capacidad de supresión tumoral, por lo tanto este mecanismo evita que la célula tumoral sea atacada por las células T es decir, adquiere una resistencia a la actuación del sistema inmunitario. **B) Resistencia inmunitaria adaptativa** en la que la expresión del ligando PD-L1 se da en las células tumorales por la acción del IFN-gamma, un pro inflamatorio de las células tumorales, provocando que se de la unión entre PD-1 y su ligando PD-L1 dando lugar a una inactivación de las células T. *Adaptado de Alsaab, H. O. et al. PD-1 and PD-L1 Checkpoint Signaling Inhibition for Cancer Immunotherapy*

Como ya se ha comentado anteriormente, al haber un reconocimiento del Ag por las células T se produce la activación del receptor de muerte programada 1 (PD-1) que al unirse a su ligando (PD-L1), provoca una vía con la capacidad de inactivar las células T. Para evitar que en el tejido normal en situaciones inflamatorias se dé una sobre-activación de la vía PD-1/PD-L1 y se produzca un daño, se produce un bloqueo de esta vía.

Sin embargo, las células cancerígenas pueden hacer que se dé la expresión de PD-L1 en la superficie debido a la acción de las citoquinas inflamatorias y vías de señalización oncológicas, por lo tanto aprovechan la vía activada por la unión de este ligando con su respectivo receptor para escapar al ataque de las células T (CD8<sup>+</sup>) y conseguir un aumento de la supervivencia y un crecimiento tumoral.<sup>8,9</sup> Es por eso que se empezó a investigar diferentes mecanismos para evitar la activación de la vía PD-1/PD-L1 en las células cancerígenas mediante el uso de anticuerpos con afinidad por estas moléculas. En el año 2006 aparecieron los primeros Ac contra PD-1 y no fue hasta el 2009 cuando se empezaron a usar en clínica los Ac contra PD-L1. La principal función de estos anticuerpos es unirse tanto al receptor como al ligando impidiendo una interacción entre ambos, impidiendo que la señal de TCR disminuya y por lo tanto permitir que las células T realicen su función de ataque contra las células tumorales (**Figura 4**).

Su efectividad depende de una serie de factores entre los cuales se encuentra el género, el tipo de mutación, la metástasis del tumor y el tipo de tumor que presenta. Aunque se ha podido demostrar la capacidad de los anticuerpos de bloquear la molécula PD-1 con su ligando PD-L1, no se ha conseguido evitar la interacción con el ligando PD-L2 ya que se desconoce el efecto de dicha interacción.<sup>10</sup>



Tras la realización de ensayos que mostraron una respuesta satisfactoria, recientemente la FDA ha aprobado algunos anticuerpos anti-PD-1 y PD-L1 para usar como tratamiento de una serie de cánceres en humanos. Entre ellos el bloqueador **Nivolumab**, aprobado por la FDA el 22 de Diciembre del 2014 para tratar melanomas metastásicos, además de tratar la presencia de una **mutación específica en BRAFV600**. Sin embargo, no fue hasta el 10 de Noviembre del 2016 cuando se aprobó este medicamento para el tratamiento del carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello metastásicos. El bloqueador **Pembrolizumab** fue aprobado por la FDA el 5 de Agosto del 2016 para tratar también este tipo de carcinoma. En cuanto a bloqueadores de PD-L1, el **Atezolizumab** es considerado el primer bloqueador de PD-L1 aprobado por la FDA, usado para tratar en primera línea el carcinoma urotelial metastásico resistente al cisplatino y el NSCLC metastásico y no fue hasta el año 2016 cuando fue aprobado por la FDA para el tratamiento de cáncer de pulmón no microcítico metastásico..<sup>11</sup>

### Ensayo clínico

Entre la gran cantidad de ensayos clínicos realizados hasta la actualidad con anticuerpos anti PD-1 y anti PD-L1, se encuentra el **ensayo clínico en fase I (NCT00730639)** en el que participaron 39 pacientes con tumores sólidos refractarios, sobre los que se ha utilizado **anticuerpos monoclonales de inmunoglobulina G4 denominada MDX-1106** con la capacidad de unirse con gran afinidad al PD-1. Uno de los principales objetivos de este ensayo clínico es el uso de estos bloqueadores del punto de control con el fin de conseguir recuperar la respuesta de las células T CD-4<sup>+</sup> y CD-8<sup>+</sup> antitumorales específicas, además de intentar determinar las dosis máximas tolerables y la seguridad y tolerabilidad del anticuerpo. Uno de los principios de inclusión es la presencia de cáncer de pulmón no microcítico, cáncer de próstata resistente a la castración, metástasis cerebral estables, melanoma metastásico refractario al tratamiento o cáncer color rectal. Mediante ingeniería genética se genera el anticuerpo monoclonal de inmunoglobulina G4, que evita la unión de PD-1 a los ligandos B7-H1 y B7-DC a través de una inyección intravenosa. Los resultados obtenidos fueron favorables y se consiguieron regresiones parciales o completas del tumor y una elevada tolerancia a las altas dosis del tratamiento, asimismo se obtuvieron leves toxicidades asociadas al tratamiento, con un único efecto adverso grave en un paciente, la colitis inflamatoria.<sup>12</sup>

#### ○ **Ac anti-CTLA-4**

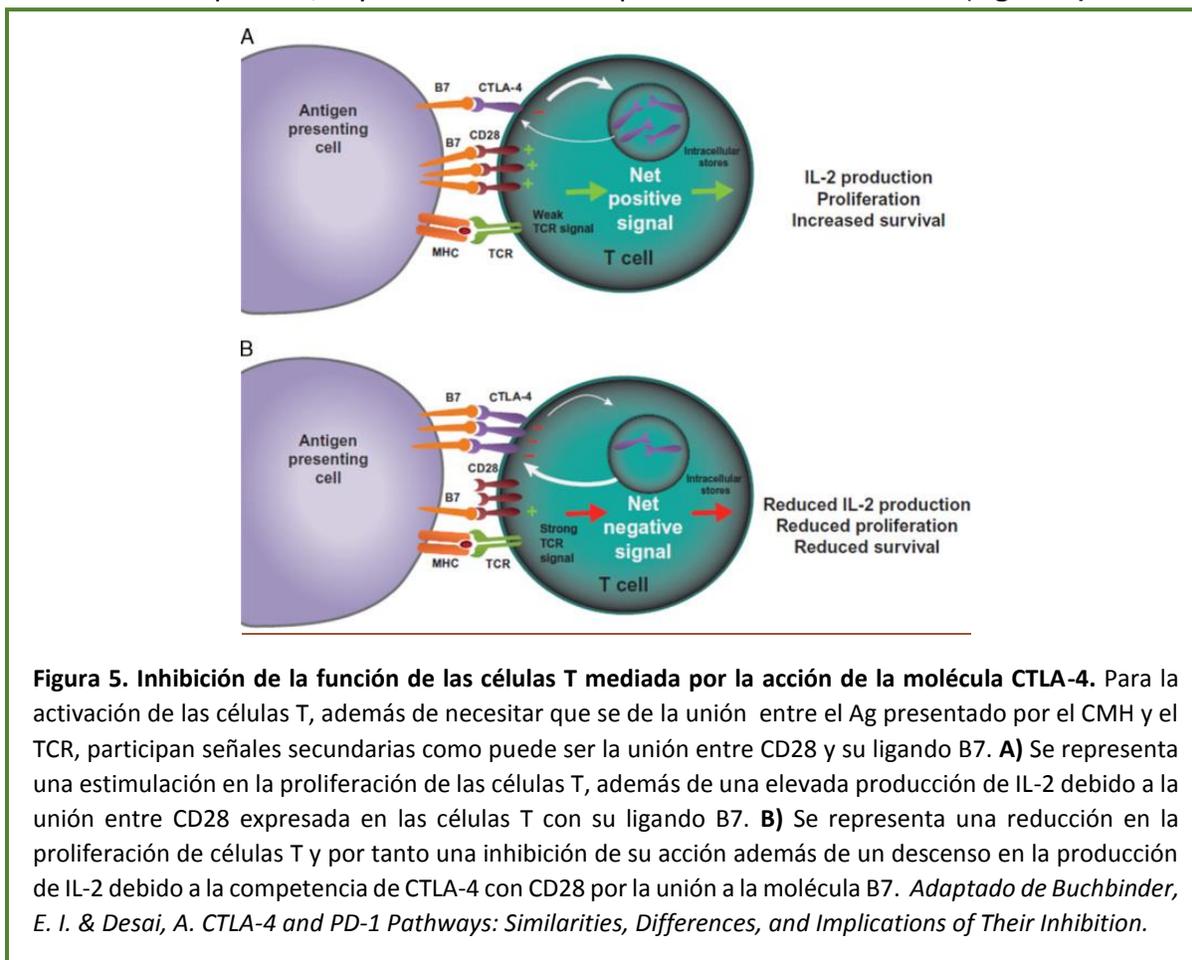
Uno de los primeros receptores del punto de control de inhibición estudiado clínicamente fue **CTLA-4**, cuya función principal es la de actuar disminuyendo la funcionalidad de las células T después de su activación. Entre los mecanismos utilizados se encuentran la coestimulación de la molécula CD28, para que se una con su ligando B7 provocando la detención del ciclo celular.

Primero de todo, para que se pueda dar una activación de las células T, además de producirse una interacción con el antígeno mediante las células presentadoras de antígeno (APCs), se necesitan otras señales secundarias para que puedan responder correctamente, entre las cuales se encuentran la expresión de la molécula CD28, más dependientes de las células T CD4<sup>+</sup> que las CD8<sup>+</sup>.

Las células T Helper o las también denominadas CD4<sup>+</sup> tienen la capacidad de secretar citoquinas al darse el reconocimiento entre el receptor de células T (TCR) y el Antígeno presentado por el Complejo Mayor de Histocompatibilidad II (CMHII), provocando una estimulación en la secreción de anticuerpos por parte de las células T y B y macrófagos, que se encargan de eliminar sustancias extrañas. Sin embargo, en el caso de las T citotóxicas o las denominadas CD8<sup>+</sup>, reconocen mediante su receptor de célula T (TCR) a los antígenos presentados por el Complejo Mayor de Histocompatibilidad I (CMHI) y tienen la capacidad de lisar, para poder protegerse de los efectos negativos de estos.

CD28 se trata de una molécula con una gran importancia a la hora de llevar a cabo la activación de los linfocitos T, ya que al unirse con sus ligandos B7-1 (o CD80) y B7-2 (o CD86), glucoproteínas homólogas de la cadena lateral sencilla presentadas por las Células Presentadoras de Antígeno (CPA), se da lugar a la activación de las señales de supervivencia. Estas señales se accionan debido a la activación de los genes antiapoptóticos que conllevan a una proliferación de las células T, además de un aumento en su supervivencia y diferenciación gracias a la liberación de citoquinas como la interleuquina-2 (IL-2) secretadas por las T Helper.<sup>13</sup> Esta IL-2 además de estimular la proliferación y la expansión clonal, provoca una diferenciación de las células T hacia TH1.

La **molécula CTLA-4** es homóloga de la molécula CD28, pero con una mayor afinidad por su respectivo ligando B7, sin embargo una de las principales diferencias, es que al darse la unión de CTLA-4 con su ligando B7 la señal estimuladora se ve inhibida, al contrario de lo que sucede al darse la unión de CD28 con B7. Es por eso que se considera CTLA-4 una molécula competitiva, cuya finalidad es la de producir la muerte celular (**Figura 5**).<sup>9</sup>

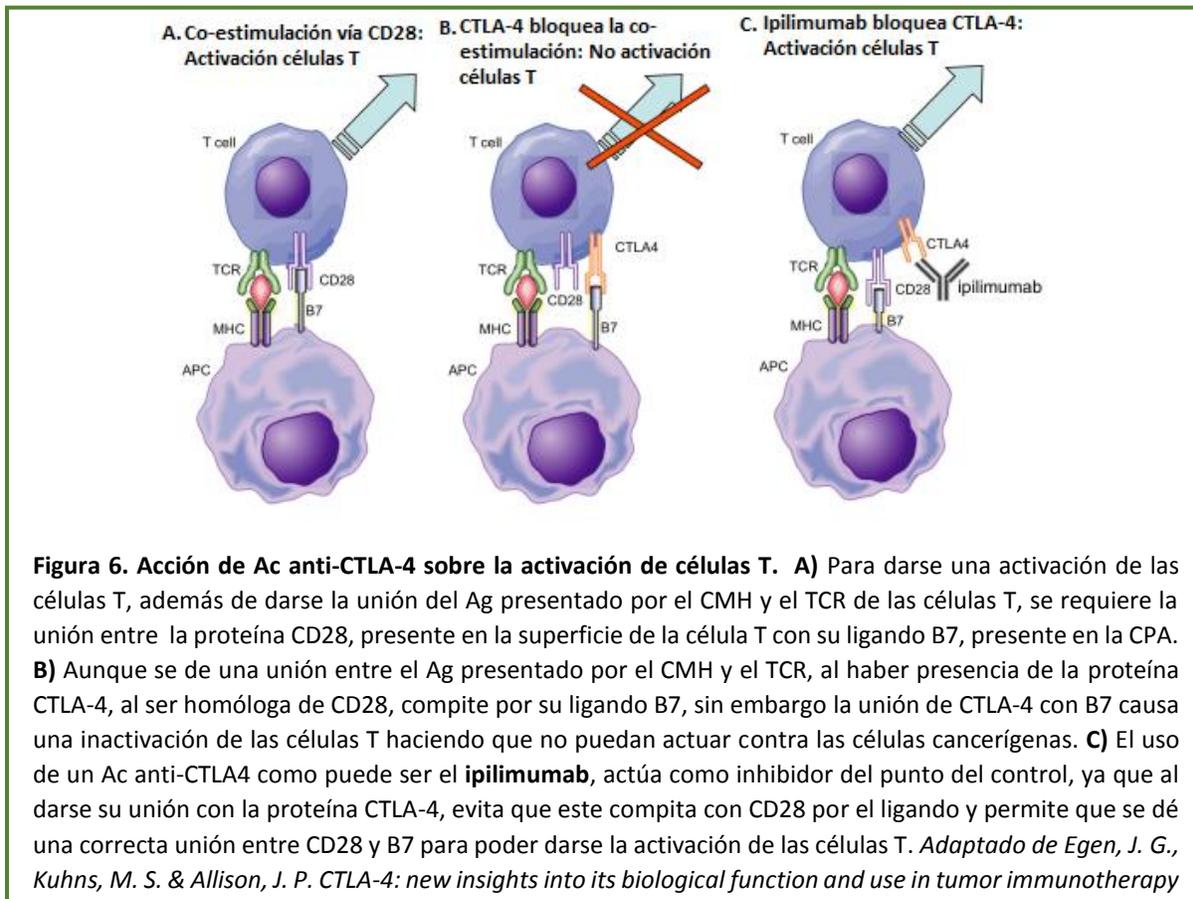


**Figura 5. Inhibición de la función de las células T mediada por la acción de la molécula CTLA-4.** Para la activación de las células T, además de necesitar que se de la unión entre el Ag presentado por el CMH y el TCR, participan señales secundarias como puede ser la unión entre CD28 y su ligando B7. **A)** Se representa una estimulación en la proliferación de las células T, además de una elevada producción de IL-2 debido a la unión entre CD28 expresada en las células T con su ligando B7. **B)** Se representa una reducción en la proliferación de células T y por tanto una inhibición de su acción además de un descenso en la producción de IL-2 debido a la competencia de CTLA-4 con CD28 por la unión a la molécula B7. *Adaptado de Buchbinder, E. I. & Desai, A. CTLA-4 and PD-1 Pathways: Similarities, Differences, and Implications of Their Inhibition.*

En una situación fisiológica, normalmente después de darse la activación de las células T mediante la unión de CD28 con su ligando, se produce una retroalimentación gradual provocando una mayor translocación de CTLA-4 en la superficie de la célula para así conseguir mantener una homeostasia inmunológica normal. Al producirse una mayor expresión de CTLA-4 en la superficie se evita la interacción de CD28 con su ligando B7 y por lo tanto se evita una sobre-activación de las células T. El sistema inmunitario intenta mantener un equilibrio, por eso la presencia de CTLA-4 ejerce un papel esencial en situaciones fisiológicas, tal como se ha podido demostrar en estudios realizados con ratones, en los que al provocar una deficiencia de la molécula CTLA-4 las células T no pueden ser inactivadas y por lo tanto el ciclo celular no se detiene provocando una enfermedad fatal linfoproliferativa.<sup>10</sup>

No obstante, las células cancerígenas utilizan estos mecanismos para hacerse resistentes al ataque del sistema inmunitario. Por lo tanto consiguen mantener su proliferación, mediante su capacidad de sobreexpresar de manera descontrolada CTLA-4 en su superficie, de manera que al competir por el ligando B7 con CD28, evitan la acción de las células T y por tanto su función. Es por eso que gracias a la gran cantidad de experimentos llevados a cabo en los últimos años, se usan en la clínica como terapia los anticuerpos anti-CTLA. Al bloquear el efecto de CTLA-4 mediante anticuerpos anti-CTLA4 se da lugar a una disminución en la activación de células T y por tanto permite que más clones puedan participar en la respuesta antitumoral debido a la unión del ligando con la molécula CD28 **(Figura 6)**. Los dos Ac más utilizados en la clínica como anti-CTLA4 son **el Ipilimumab**, anticuerpo cuya función reguladora fue aprobada en base a dos ensayos clínicos, y **Tremelimumab** o también conocido por **CP-675,206**.

Sin embargo, el uso de estos inhibidores no son eficientes para todo tipo de cánceres, ya que según estudios, el crecimiento de tumores como melanoma B16 y carcinoma mamario no muestran mejoras con la administración de este anti-CTLA-4.<sup>14</sup>



**Figura 6. Acción de Ac anti-CTLA-4 sobre la activación de células T.** **A)** Para darse una activación de las células T, además de darse la unión del Ag presentado por el CMH y el TCR de las células T, se requiere la unión entre la proteína CD28, presente en la superficie de la célula T con su ligando B7, presente en la CPA. **B)** Aunque se de una unión entre el Ag presentado por el CMH y el TCR, al haber presencia de la proteína CTLA-4, al ser homóloga de CD28, compite por su ligando B7, sin embargo la unión de CTLA-4 con B7 causa una inactivación de las células T haciendo que no puedan actuar contra las células cancerígenas. **C)** El uso de un Ac anti-CTLA4 como puede ser el **ipilimumab**, actúa como inhibidor del punto del control, ya que al darse su unión con la proteína CTLA-4, evita que este compita con CD28 por el ligando y permite que se dé una correcta unión entre CD28 y B7 para poder darse la activación de las células T. *Adaptado de Egen, J. G., Kuhns, M. S. & Allison, J. P. CTLA-4: new insights into its biological function and use in tumor immunotherapy*

El anticuerpo monoclonal **Tremelimumab** completamente humano de subtipo IgG2, se usa en la clínica para tratar tumores desde 2002, obteniendo respuestas duraderas con un tiempo de infusión muy prolongado. Su largo tiempo de infusión es un motivo de estudio para varios investigadores y continúa en desarrollo clínico para conseguir disminuir el tiempo de infusión haciéndolo más seguro.

### Ensayo clínico

Uno de ellos es el **ensayo clínico de fase I (NCT00585000)**, cuya finalidad es la de observar la seguridad y eficacia del tratamiento al reducir el tiempo de administración del fármaco Tremelimumab a una hora para conseguir una mayor comodidad del paciente. En este ensayo clínico participaron un total de 41 pacientes, de los cuales 4 tuvieron que suspender el tratamiento debido a una trombocitopenia autoinmune, encefalitis alérgica y diarrea de grado 3 como efectos adversos que aparecieron más allá del momento de infusión. Sin embargo no se obtuvieron efectos adversos relacionados con la tercera infusión o infusiones posteriores, a pesar de haber existido efectos adversos de tipo 1 o 2 durante el primer ciclo. Por lo tanto, tras la ausencia de efectos

adversos después de la tercera infusión se llega a la conclusión de que la infusión del anticuerpo en una hora es tolerable por los pacientes y adecuada para su uso en la clínica para tratar pacientes con cáncer.<sup>15</sup>

### **5.2.2 TRANSFERENCIA ADOPTIVA CELULAR**

Otro de los tratamientos utilizados actualmente son los de transferencia celular adoptiva, un tipo de terapia con la capacidad de aumentar la función de las células T mediante ingeniería en el laboratorio, haciendo que puedan actuar de manera más agresiva frente al cáncer. Entre ellas se encuentra el uso de la terapia con las **células CAR-T**, en las que se introducen receptores específicos contra el tumor **y los linfocitos de infiltración tumoral (TIL)** que actúan de manera más robusta contra el tumor.

#### **○ TIL ( células T infiltrante de tumor)**

Una de las posibles estrategias usada para el tratamiento del cáncer es la preparación de los linfocitos del propio tumor *ex vivo*, para después volver a reintroducir en el propio paciente que lo presenta. En los años 1863 Rudolf Virchow habló por primera vez de la presencia de las células linfoides en el tejido neoplásico y estableció una posible relación entre la inflamación y el cáncer. A partir de estos estudios, se han ido estableciendo una serie de experimentos en los que se observaron la presencia de linfocitos en los tumores, y no fue hasta los años 70 que el Dr. Steven Rosenberg junto con sus compañeros, empezaron a hablar sobre el cultivo de los linfocitos infiltrantes de tumores en múltiples tumores, los denominados TIL y el posible efecto antitumoral de estos.<sup>16</sup>

Para realizar la técnica de la infiltración de linfocitos tumorales, primero se necesita llevar a cabo una metastasectomía del tumor presente en el paciente y a partir de este, de manera *ex vivo*, llevar a cabo una selección de la subpoblación de células T citotóxicas que produzcan una gran cantidad de interferón gamma (**IFN-gamma**) para así conseguir un mejor ataque hacia el tumor y estimular la expansión de estos mediante el uso del anticuerpo monoclonal anti-CD3, es decir elegir aquellas células que contengan una reactividad específica contra los Ag asociados al tumor. Una vez obtenidas, se reintroducen en el tumor del paciente, previamente sometido a agentes citotóxicos para así conseguir obtener una reducción parcial de los linfocitos propios, en presencia de factores de crecimiento adecuados, linfoquinas y concentraciones adecuadas de IL-2. La presencia de IL-2 es un elemento imprescindible para poder activar la mayoría de la población de las NK y proporcionar una gran capacidad a las células T para atacar a células tumorales autólogas.<sup>17</sup> Sin embargo, según datos experimentales, la concentración de IL-2 interfiere en la correcta respuesta al tratamiento, ya que cuando la administración de

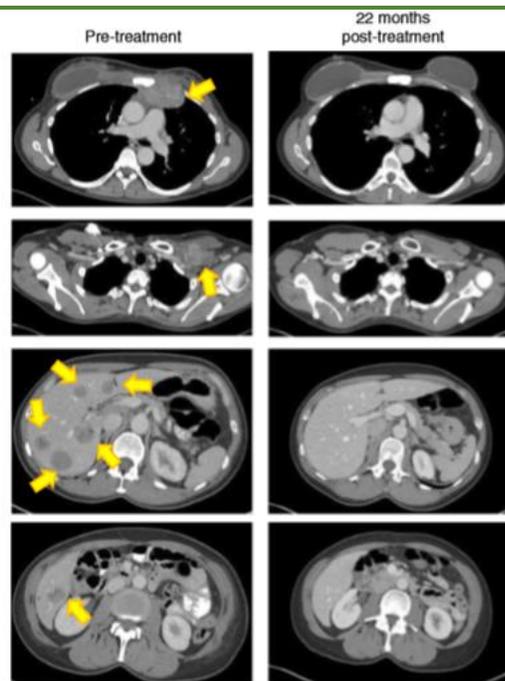
esta IL-2 es extremadamente elevada la tasa de toxicidad aumenta en comparación con el uso de las bajas e intermedias dosis de IL-2. Estos datos se han corroborado actualmente por el centro de inmunoterapia del cáncer en la Universidad de Copenhage, donde se estableció un ensayo clínico basado en TIL con bajas e intermedias concentraciones de IL-2, en el que dos de los seis pacientes que participaron en el ensayo lograron respuestas completas y duraderas al tratamiento, a pesar de que experimentaron una recurrencia metastásica 1 y 3 años después que se consiguió extirpar quirúrgicamente, actualmente se encuentran totalmente libres de la enfermedad. Sin embargo, se continúa estudiando más a fondo la reducción en la dosis de la IL-2, ya que según datos experimentales se están consiguiendo resultados objetivos sin el uso de esta.

Tras la realización de diferentes experimentos, se ha demostrado que el entorno inmunitario del huésped afecta a la eficacia de la terapia, es por eso que se utiliza la quimioterapia consistente en **ciclofosfamida y fludarabina** o la irradiación corporal total (**TBI**) para conseguir una correcta linfodepleción. Uno de los principales beneficios de la linfodepleción, es la denominada **expansión homeostática**, en el que tras inducir la linfopenia en el huésped, los linfocitos periféricos reestablecen la función de los linfocitos originales y por tanto ayuda a que los linfocitos que se re-infunden en el paciente se propaguen. Otro de los beneficios de esta linfodepleción, es reducir e incluso llegar a evitar la competencia de las células T transferidas con las células T endógenas a la hora de interactuar con las células presentadoras de antígenos y asimismo prevenir que las NK del propio huésped puedan competir por las citoquinas homeostáticas, IL-15 y IL-7, con las células T transferidas. Las principales funciones de estas citoquinas homeostáticas es la de mejorar la funcionalidad de las células T como es el caso de la IL-15 y mejorar la supervivencia de estas células y su proliferación como hace la IL-7.

A pesar de que este tipo de terapia demuestra resultados exitosos en casos de pacientes con melanoma, actualmente se está intentando explorar su efecto en otros tipos de cáncer, como pueden ser el cáncer de ovario, cáncer cervical, cáncer de riñón e incluso cáncer gastrointestinal.<sup>16</sup>

### Ensayo clínico

Esta técnica ha sido utilizada como terapia en una gran cantidad de cánceres con una gran cantidad de mutaciones somáticas, como el melanoma. Un ejemplo es el ensayo clínico al que se incluyó una mujer de 49 años con cáncer de mama metastásico positivo para el receptor de la hormona quimiorrefractaria (HR), el **ensayo clínico (NCT01174121)**, al que se le trató con los linfocitos infiltrantes de tumores (TIL) con reactividad contra 4 de las mutaciones diferentes. El ensayo al que se supuso consistía en una primera extracción de linfocitos derivados del tumor de la paciente para posteriormente cultivar en altas dosis de IL-2 y seleccionar aquellas células T con mayor reactividad contra el neo antígeno y con mayor producción de IFN-gamma. Tras el aislamiento de los linfocitos, se volvieron a infundir en la paciente aquellos de mayor interés y, gracias a la rápida expresión de las células T a partir de las 6 semanas del tratamiento, se empezó a observar una regresión del tumor a la mitad y un año después de la realización del tratamiento una regresión completa. Incluso pasado 22 meses de la transferencia realizada, se observa una respuesta completa a la terapia. Tal como se puede observar en las radiografías realizadas a la paciente antes y después de someterse al tratamiento, se observa una respuesta completa al tratamiento.<sup>18</sup>



**Figura 7. Radiografías realizadas a paciente participante en el ensayo clínico (NCT01174121) sometida a infiltración de linfocitos infiltrantes (TIL).** En la siguiente imagen se representa las imágenes del corte transversal de la paciente sometida al ensayo clínico, en la parte izquierda las radiografías realizadas antes a ser sometida al tratamiento, donde se señala con flechas las lesiones tumorales localizados en diferentes zonas y en la parte derecha las imágenes obtenidas 22 meses después a ser sometida al tratamiento, donde se puede apreciar fácilmente la respuesta completa al tratamiento ya que hay una regresión total de los tumores localizados. *Adaptado de Zacharakis, N. et al. Immune recognition of somatic mutations leading to complete durable regression in metastatic breast cancer.*

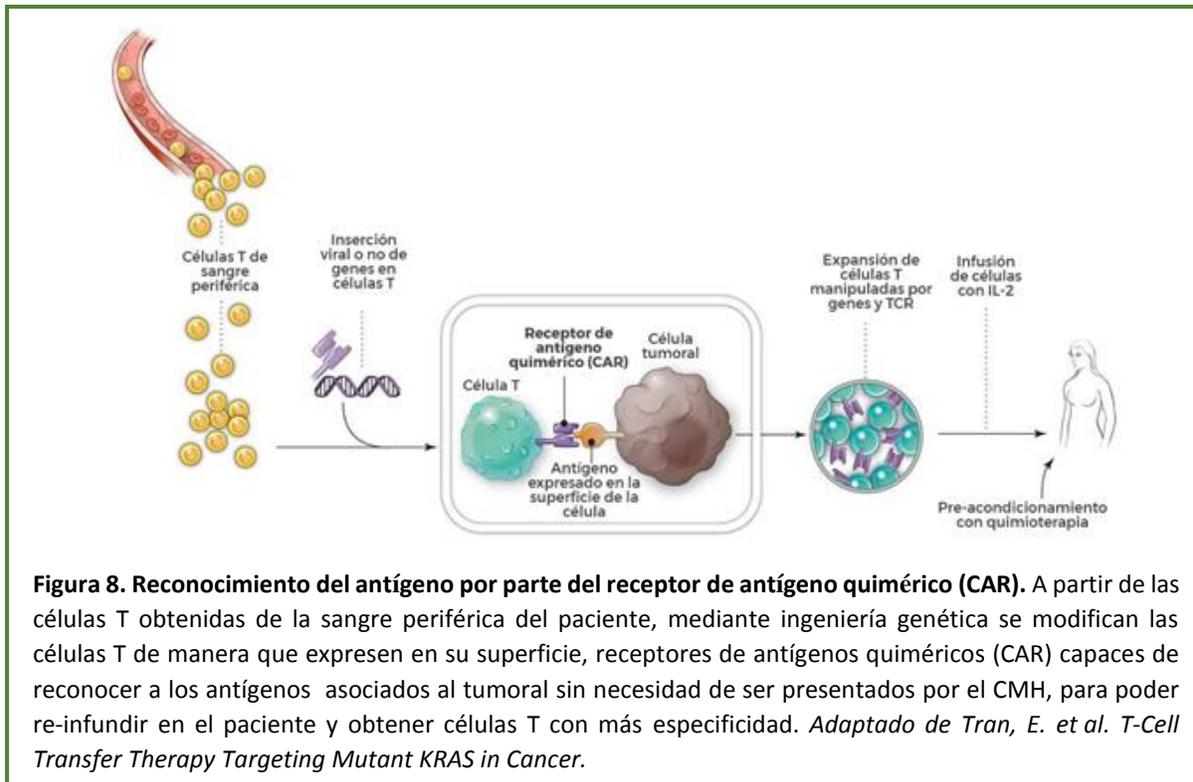
- **Células CAR-T**

Gracias a la capacidad de las células T citotóxicas, tanto CD4+ como CD8+, de reconocer los antígenos peptídicos presentados por el CMHII o CMHI, adquieren una gran importancia a la hora de provocar la destrucción de células cancerosas debido al reconocimiento de los antígenos asociados al tumor (TAA).

Primero de todo, al darse la activación de las células T mediante la interacción del antígeno peptídico, presentado por el Complejo Mayor de Histocompatibilidad (CMH) con el complejo TCR-CD3, se activa una cascada de acontecimientos entre los cuales participan tanto quinasas como fosfatasa que provocan la activación y la expresión de genes, entre los cuales se encuentra la Interleuquina-2 (IL-2) de secreción autocrina, cuya función principal es la de originar una progresión del ciclo celular y por lo tanto provoca la proliferación de las células T y su diferenciación hacia células T efectoras y células T de memoria.

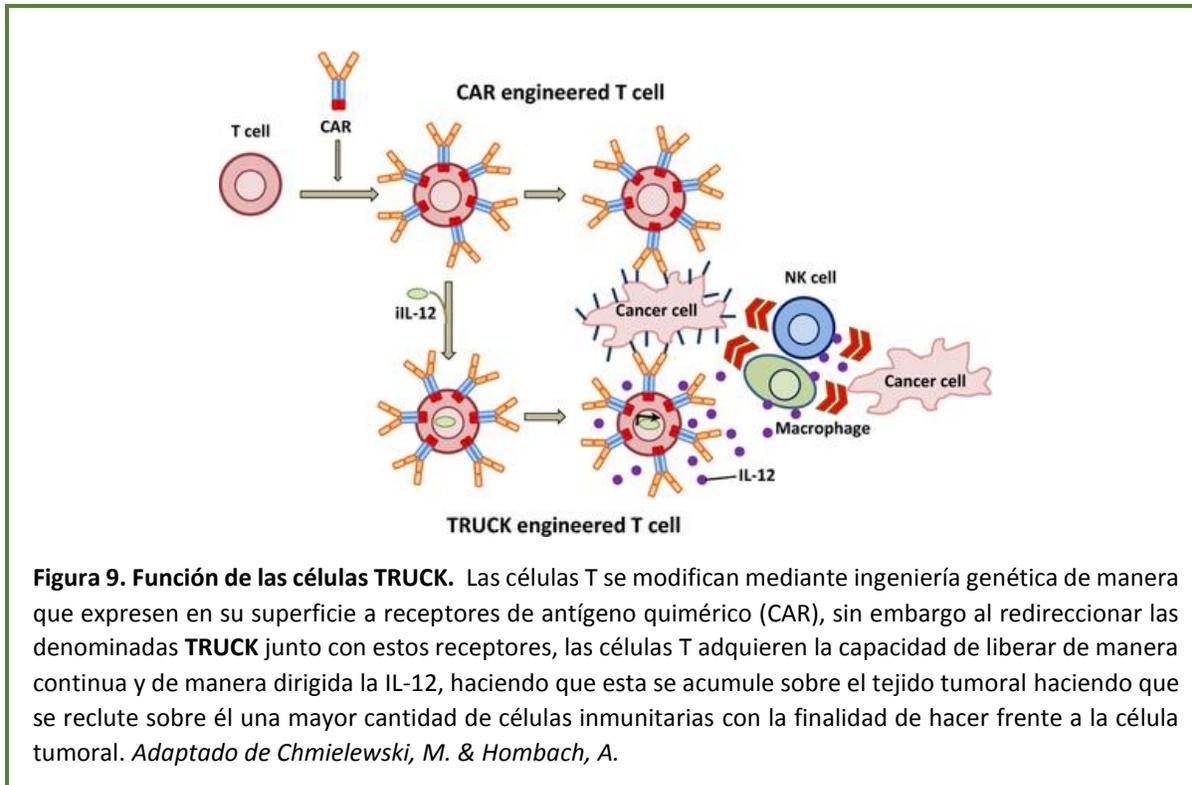
Sin embargo, en las células tumorales el reconocimiento de los antígenos peptídicos, asociados al tumor, por las células T se dificulta debido a la baja expresión de estos antígenos, causando una disminución en su interacción con el complejo TCR-CD3 y por lo tanto la acción de las células T se ve comprometida haciendo que los TAA puedan escapar a la acción de estas, evitando la muerte de la célula cancerosa.

El uso de las células CAR-T es una técnica que consiste en aislar linfocitos de la sangre periférica del propio paciente para dotarlo con la suficiente capacidad de reconocer los antígenos presentes en las células tumorales sin que necesariamente tengan que ser presentados por el Complejo Mayor de Histocompatibilidad (CMH). Al darse el aislamiento de los linfocitos T del paciente, mediante ingeniería genética se lleva a cabo una modificación de las células T manteniendo una estructura similar a las células T convencionales, es decir manteniendo los tres dominios, un **dominio extracelular**, un **fragmento variable de cadena única**, perteneciente a un anticuerpo monoclonal denominado **scFv**, que permite identificar a los antígenos tumorales independientemente de que sean presentados por el CMH, y un **dominio intracelular** con un componente de transducción de señal del receptor de las células T como el CD3 CD3 $\zeta$ , que por si solo tiene la capacidad de activar las células T. Además, para hacer que las células T modificadas tengan la capacidad de ser más específica contra las células tumorales al ser introducidas en el paciente, se crean receptores de señalización de los linfocitos T, los denominados receptores de **antígenos quiméricos (CAR)**, cuya función principal es la de reconocer a los antígenos asociados a los tumores (TAA) independientemente de CMH (**Figura 8**). Al darse la interacción entre estos receptores de antígenos y el propio antígeno del tumor se liberan una gran cantidad de citoquinas transgénicas, que provoca un mayor reclutamiento de células inmunitarias para poder hacer frente a las células tumorales. <sup>19</sup>



El uso de estos receptores de antígenos quiméricos, proporcionan una gran ventaja para utilizarlos como inmunoterapia contra el cáncer, ya que además de aumentar la tolerancia inmunitaria y evitar los principales mecanismos de escape de las células tumorales, ayuda a que las células T presenten más resistencia contra el medio inmunosupresor en el tumor y además si se introducen dominios de diferentes receptores inmunitarios en un solo CAR, permite que se dé lugar a una mayor proliferación de las células T y supervivencia. Sin embargo, una de las limitaciones de esta técnica es la capacidad de las células tumorales de adquirir una gran variedad fenotípica y funcional a lo largo del tiempo, provocando que los antígenos antes reconocidos por las células T, pasen a ser imperceptibles para estas, por lo tanto disminuye la capacidad de las células CAR-T de reconocer a un gran número de células cancerosas. Como solución al problema, actualmente se han estudiado las denominadas **TRUCKS**, células T que se re-direccionan junto con CAR y se utilizan para que se produzca una liberación continua y de manera dirigida de citoquinas transgénicas. Uno de los beneficios de estas citoquinas transgénicas es la capacidad que tiene de acumularse sobre el tejido tumoral, siempre y cuando las células T se mantengan activadas, sin la necesidad de producir nuevas administraciones. La citoquina que se produce es la IL-12, que se obtiene después de que CAR active las células T en el tejido tumoral, de manera que al darse el reconocimiento del antígeno por las células CAR-T, se deposita y se acumula la IL-12, dando lugar a un

reclutamiento de más células inmunitarias, de manera que células que antes no podían ser reconocidas por las células CAR-T, puedan ser reconocidas, atacadas y eliminadas por el sistema inmunitario (**Figura 9**).<sup>20</sup>



**Figura 9. Función de las células TRUCK.** Las células T se modifican mediante ingeniería genética de manera que expresen en su superficie a receptores de antígeno quimérico (CAR), sin embargo al redireccionar las denominadas **TRUCK** junto con estos receptores, las células T adquieren la capacidad de liberar de manera continua y de manera dirigida la IL-12, haciendo que esta se acumule sobre el tejido tumoral haciendo que se reclute sobre él una mayor cantidad de células inmunitarias con la finalidad de hacer frente a la célula tumoral. *Adaptado de Chmielewski, M. & Hombach, A.*

Se ha demostrado clínicamente que la liberación y deposición de IL-12 sobre células tumorales beneficia la destrucción del tumor, sin embargo la deposición de una gran cantidad de IL-12 no presenta el mismo beneficio. Una sobreexpresión de IL-12 ajusta en gran manera la expansión de las células T ya que se da una apoptosis mediada por la unión de Fas a su ligando FasL, además la liberación de la citoquina IL-12 fuera del objetivo conlleva a efectos adversos graves. Por lo tanto la acumulación de la IL-12 debe ser localmente controlada y sostenida sobre la lesión para que adquiera una función beneficiosa para el ataque de las células tumorales.

### Ensayo clínico

Se han llevado a cabo muchos estudios para observar la eficacia de esta terapia, entre ellos se realizó un **ensayo clínico en fase I (NCT02349724)**, en el que se utiliza una terapia con CAR-T en pacientes con cáncer de colon (CCR) y antígeno carcino-embriionario (CEA), un biomarcador tumoral que se expresa en el tejido y suero del cáncer colorrectal . El principal objetivo de este ensayo clínico es el uso de las células CAR-T dirigidas a CEA, evaluando su seguridad y eficacia en el que participaron 10 pacientes con cáncer de colon refractarios con metástasis hepática a los que se les aplicaron 5 niveles de dosis de CAR-

T. En los resultados obtenidos, 7 de los 10 pacientes que presentaban una enfermedad progresiva por tratamientos previos, mostraron una estabilidad en la enfermedad después del uso de CAR-T, de los cuales 2 consiguieron mantener la enfermedad estable durante más de 30 semanas y otros 2 pacientes obtuvieron una reducción del tumor. Además, los niveles de CEA en suero se vieron disminuidos en la mayoría de los pacientes y no se observaron efectos adversos graves relacionados con el tratamiento.

En conclusión, mediante los resultados obtenidos en el ensayo se consiguió observar una buena tolerancia a las altas dosis de CAR-T a la terapia y además una gran eficacia a la hora de disminuir los niveles del antígeno presente en el tumor y por lo tanto una reducción tumoral.<sup>21</sup>

### **5.2.3 ANTICUERPOS MONOCLONALES**

El uso de los anticuerpos monoclonales como inmunoterapia contra el cáncer, presenta una gran ventaja respecto a otras terapias como pueden ser la quimioterapia o la radioterapia, ya que el uso de los mAb, permite el ataque específico a las células cancerosas preservando el tejido normal, por lo tanto uno de los requisitos de este tipo de terapia es conseguir una máxima respuesta consiguiendo una mínima antigenicidad y máxima efectividad citotóxica.<sup>22</sup>

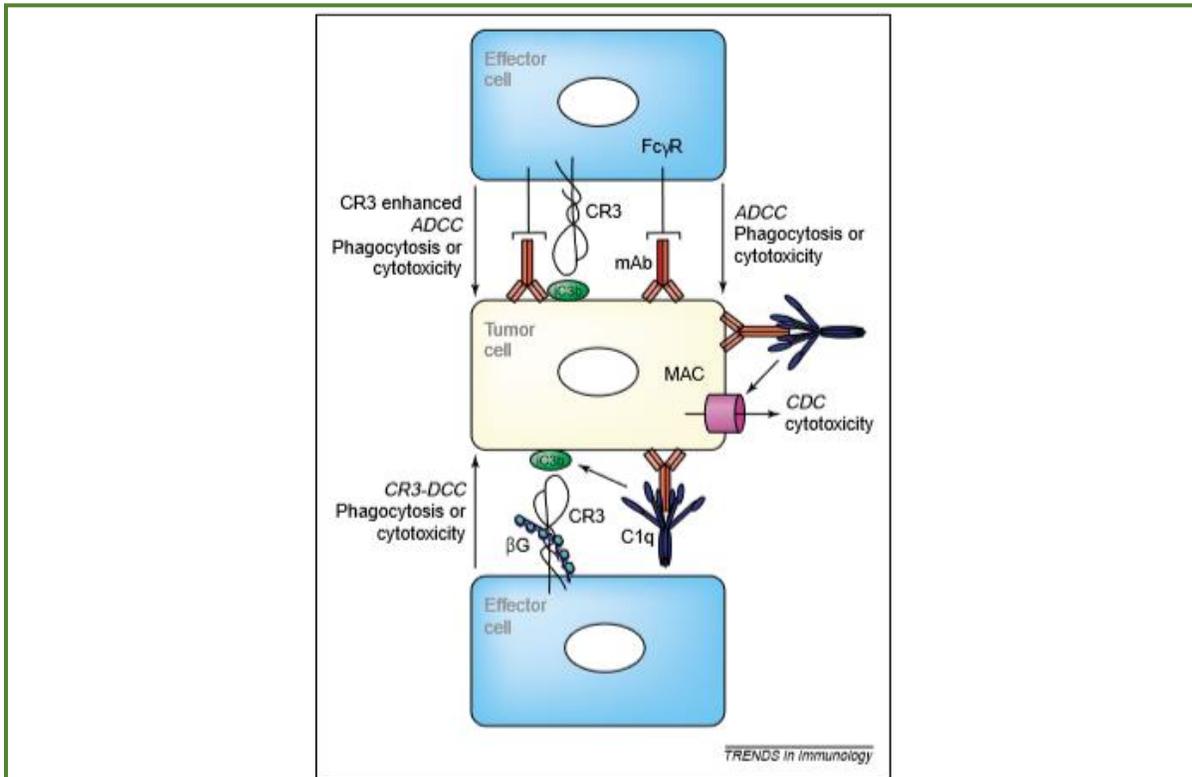
En los años 1975, se estableció por primera vez la producción de Ac monoclonales en ratones y ratas. El primer mAb murino actuó contra el gangliósido GD3 para el melanoma, sin embargo se observó que en humanos con cáncer no presentaba la misma efectividad, debido a la inmunogenicidad que presentaban debido a la procedencia del Ac y la corta vida media de este. Fue por eso que se empezó a realizar anticuerpos quiméricos y humanizados mediante el reemplazamiento de los dominios constantes del ratón por dominios constantes de humanos y no fue hasta el año 1995 cuando se empezaron a usar como terapia en pacientes con cáncer. Una de las principales características de los Ac es su gran especificidad por los antígenos específicos presentes en células cancerosas y por lo tanto la capacidad de evitar los efectos secundarios que las propias quimioterapias citotóxicas producen. Además, gracias a las modificaciones generadas por ingeniería genética, los Ac adquieren propiedades que favorecen su función, como el aumento del tamaño molecular, una mejora en su especificidad y afinidad por el antígeno y un aumento en su vida media.<sup>23,24</sup>

Los anticuerpos monoclonales tienen diferentes capacidades de actuar sobre las células cancerosas, entre ellas la capacidad de bloquear a los receptores del crecimiento celular esencial provocando la apoptosis de la célula y debido a su gran afinidad por las células

diana de las células tumorales, permiten el reclutamiento de células del sistema inmunitario para poder atacarlas.

Utilizan diferentes mecanismos para atacar a las células tumorales, entre ellos la **citotoxicidad mediada por células dependientes de anticuerpos**, el denominado **ADCC**, mecanismo mediante el cual los anticuerpos se encargan de reconocer el antígeno que se encuentra presente en las células cancerosas y reclutar a las células efectoras inmunitarias para que lleven a cabo la destrucción de las células. Además, la **mayoría de los mAbs con capacidad de activar la citotoxicidad dependiente de Ac (ADCC)**, tienen capacidad de activar el sistema del complemento el denominado **citotoxicidad dependiente del complemento (CDC)** que conlleva a tres mecanismos de ataque contra la célula tumoral revestida de Anticuerpos monoclonales:

- **Citotoxicidad dependiente del complemento (CAM)**, basado en una destrucción directa de la célula tumoral por el complejo del ataque a la membrana (CAM).
- **Mejorar el receptor del complemento de ADCC**, haciendo que el receptor CR3 se una a iC3b (producto resultante de la deposición de 3b al haberse activado el complemento) que recubre las células tumorales, de manera que se dé una mejora en la capacidad de unión de las células inmunitarias gracias a sus receptores de Fc (FcγR) de las células inmunitarias capaces de atacar.<sup>25</sup>
- **Activación del mecanismo de citotoxicidad celular dependiente de CR3 (CR3-DCC)**. Para que se active, se requiere la unión de CR3 tanto con el β-glucano presente en la pared celular, como con iC3b, sin embargo, las células tumorales dificultan que se establezca esta unión, ya que en su superficie el β-glucano no se encuentra presente y a pesar de que se encuentren bien recubiertas por iC3b, no se puede dar lugar a la activación de CR3-DCC. Por lo tanto para llevar a cabo esta técnica, se requiere una previa solubilización del β-glucano e inyección intravenosa de este en células tumorales recubiertas por iC3b. Las células tumorales son previamente atacadas por los anticuerpos monoclonales que se encargan de activar el complemento de manera que la célula tumoral quede bien recubierta iC3b. Al darse la unión de estos dos factores al CR3, se permite al receptor actuar sobre los tumores y por tanto desencadenar una desgranulación citotóxica.



**Figura 9. Mecanismo de acción de los anticuerpos monoclonales (mAbs).** Los anticuerpos monoclonales pueden provocar la muerte de las células tumorales mediante diferentes mecanismos, uno de ellos la **citotoxicidad celular dependiente de los anticuerpos(ADCC)**, gracias al reconocimiento de la región Fc del anticuerpo que se encuentra unido al antígeno diana por parte de los receptores Fc (FcR) de las células inmunitarias. Otro de los mecanismos la **citotoxicidad dependiente del complemento**, debido a la activación del sistema del complemento, al darse la unión de C1q a la región Fc del anticuerpo unido al antígeno diana. La activación del complemento provoca que se deposite C3B sobre la célula tumoral que se convierte iC3B, conduciendo a la formación del complejo de ataque citolítico (CAM). Otra de las capacidades es mejorar la **citotoxicidad dependiente del complemento**. Adaptado de Gelderman, K. A., Tomlinson, S., Ross, G. D. & Gorter, A. *Complement function in mAb-mediated cancer immunotherapy*.

A pesar de que no todos los anticuerpos monoclonales están aprobados por la FDA, se lleva a cabo una serie de investigaciones y ensayos clínicos para demostrar su mecanismo de acción y especificidad por los Ag presentes en las células tumorales. Entre los anticuerpos actualmente más utilizados para el tratamiento del cáncer se encuentran: **Rituximab (Rituxan), Trastuzumab (Herceptin), Alemtuzumab (Campath-1H), Cetuximab (Erbix), Endrecolomab, Tositumomab, Ibritumomab Tiuxetan y Gemtuzumab Ozogamicina.**<sup>26</sup>

- **RITUXIMAB**

Anticuerpo monoclonal quimérico dirigido contra el CD-20, Ag presente en las células B. Este tipo de Ag tiene la capacidad de regular la diferenciación y el desarrollo de las células B y desaparece al diferenciarse a células plasmáticas, sin embargo se expresa en la mayoría de los linfomas de las células B y es por eso que actualmente se utiliza para el tratamiento de pacientes con linfoma no Hodgkin (LNH) y está aprobado por la FDA para usarlo en la clínica. <sup>26</sup>

- **TRASTUZUMAB**

Se trata de un anticuerpo monoclonal humanizado específico para el dominio extracelular de HER-2, implicado en el control del crecimiento y la división celular. Las células cancerosas sobreexpresan el receptor HER-2 y por tanto adquieren una resistencia a la acción inhibitoria de la proliferación tumoral de los macrófagos por lo tanto evitan ser atacadas, sin embargo al darse la unión del trastuzumab a estos receptores presentes en la célula se da lugar a una inhibición del crecimiento. Este anticuerpo aún no se encuentra aprobado por la FDA para tratar el cáncer. <sup>26</sup>

- **ALEMTUZUMAB**

Este tipo de anticuerpo monoclonal humanizado actúa contra el Ag CD-52, expresado de manera abundante en linfocitos B, linfocitos T y monocitos humanos. Sin embargo anteriormente existía el Campath-1H con un efecto similar a este actual sin embargo originaba de ratón, por lo tanto presentaba más toxicidad y era menos eficaz que el actual. Se ha aprobado recientemente por la FDA su uso como terapia. <sup>26</sup>

- **CETUXIMAB**

Anticuerpo monoclonal quimérico cuya diana principal es el receptor del factor de crecimiento epidérmico, el conocido como EGF, expresado en una gran cantidad de tumores epiteliales. Por lo tanto al actuar sobre su receptor, el Ac tiene la capacidad de inhibir el crecimiento de las células tumorales que sobreexpresan este receptor en la superficie. <sup>26</sup>

- **EDRECOLOMAB**

Se trata de un anticuerpo monoclonal de tipo murino que tiene afinidad por el antígeno que se expresa en grandes cantidades en tumores gastrointestinales y en menor proporción en la mucosa gastrointestinal, el CO17-1A. Sin embargo, a pesar de que se puede usar como terapia adyuvante postoperatoria en el carcinoma colorrectal, no está aprobado por la FDA para tratar el cáncer. <sup>26</sup>

- **TOSITUMOMAB**

Anticuerpo monoclonal anti-B1 que actúa contra el CD-20, al igual que sucede con el anticuerpo rituximab, por lo tanto llevan a cabo funciones similares induciendo citotoxicidad dependiente del Ac y apoptosis. Sin embargo aún no está aprobado por la FDA. <sup>26</sup>

- **IBRITUMOMAB TIUXETAN**

Se trata de un fármaco formado por un Ac monoclonal IgG1 kappa murino con la capacidad de unirse a tiuxetan, una molécula responsable de quelar el radioisótopo itrio-90. Este Ac tiene especificidad por el Ag CD-20 al igual que el rituximab. Este anticuerpo se está investigando sobre todo para el tratamiento del linfoma no Hodgkin (LNH) de las células B. <sup>26</sup>

- **GEMTUZUMAB OZOGAMICINA**

Se trata de un Ac monoclonal humanizado anti-CD33, conjugado junto con **la calicheamicina** fármaco con gran capacidad citotóxica sobre el ADN, ya que causa tiene la capacidad de unirse a las hebras del ADN y causar la escisión y el daño de estas. Este Ac se utiliza para pacientes con leucemia mieloide aguda (LAM), ya que expresan en su superficie gran cantidad de CD-33, por lo tanto el Ac al reconocer el Ag lo internaliza y tras un aumento del pH dentro de la célula, la **calicheamicina** se consigue desprender del Ac y actuar sobre el ADN, dañándolo y causando por lo tanto la muerte celular. Es uno de los anticuerpos monoclonales aprobados por la FDA para el tratamiento de LAM. <sup>26</sup>

### Ensayo clínico

Tras la observación de resultados no muy favorables al usar la quimioterapia con ciclofosfamida, doxorubicina, vincristina y prednisona, la **denominada CHOP**, se ha decidido comprobar su eficacia al combinar la quimioterapia con el anticuerpo monoclonal rituximab, uno de los anticuerpos monoclonales más utilizados y aprobado

para tratar el linfoma folicular. Se realizó un **ensayo clínico** aleatorio con un total de 632 pacientes con linfoma difuso de células B grande, entre los cuales un total de 318 recibieron la combinación de rituximab con CHOP (R-CHOP) y 314 solo CHOP, de los cuales un total de 415 de los pacientes que mostraron una respuesta al tratamiento, se les administró una segunda asignación aleatoria de rituximab de mantenimiento o de observación. Tras tres años de observación se muestra una mejoría tanto en los pacientes que recibieron R-CHOP como los que recibieron rituximab de mantenimiento como segunda asignación, en comparación con aquellos que solo se les administraba la quimioterapia sola. Por lo tanto, se demuestra la efectividad del anticuerpo monoclonal rituximab, ya que los resultados obtenidos en el ensayo demuestran el aumento significativo de la supervivencia de los pacientes con cáncer.<sup>27</sup>

### 5.3. Efectos adversos provocados por el uso de estos tipos de inmunoterapias

Como se puede observar, el uso de terapias antitumorales puede inducir un gran beneficio para el tratamiento contra el cáncer, sin embargo puede producir efectos adversos sobre los pacientes sometidos a estas, debido a una activación inmunológica no específica.

Como puede pasar con el uso de los inhibidores del punto de control, los Ac anti-CTLA-4 y Ac anti-PD-1, que a pesar de ejercer un efecto positivo a la hora de atacar en contra del tumor, gracias a la activación de las células T citotóxicas, a su vez puede dar lugar a un desequilibrio en la tolerancia inmunológica debido a una respuesta inmunitaria no controlada, y por lo tanto conllevar a efectos secundarios auto inmunitarios que pueden afectar a tejidos y órganos no afectados, estos efectos adversos se denomina irAE, ya que afectan al sistema inmunitario.

Los principales irAE comunes de las terapias con anti CTLA-4 y anti-PD-1 son las **toxicidades dermatológicas** que aunque pueden ser tratadas con los corticosteroides tópicos, pueden provocar otro efecto de gran relevancia, que presenta más incidencia en pacientes que reciben anti-CTLA-4 que pacientes que reciben anti-PD-1, la diarrea o la colitis que suele aparecer incluso 6 semanas después de la aplicación del tratamiento.

Otro de los posibles efectos es la **elevación en el suero de los niveles de las enzimas hepáticas como ALT y AST**. Las inmunosupresiones prolongadas que se llevan a cabo para tratar a los diferentes irAE también pueden conllevar a efectos negativos, ya que predispone a que los pacientes se encuentren con un mayor riesgo de padecer de infecciones oportunistas.<sup>10</sup>

En cuanto al uso de la terapia adoptiva celular, a pesar de que la intolerancia inmunitaria disminuye, debido a que las células proceden del propio paciente, uno de los posibles efectos adversos es la incapacidad de controlar la actividad de las células T y los Ag asociados al tumor, presentes tanto en tejidos sanos como tejidos afectados. Además, con el uso de la técnica de las células CAR-T y los TIL, las células T adquieren gran capacidad de atacar a las células tumorales y se produce una activación del sistema inmunitario contra estas provocando una liberación excesiva de citoquinas autocrinas contra el microambiente tumoral, que puede desencadenar en el **síndrome de liberación de citoquinas (CRS)**, una respuesta inflamatoria sistémica. Por lo tanto los pacientes que reciben esta terapia adoptiva con células T presentan niveles de citoquinas mucho más altas que el nivel de referencia, provocando síntomas como hipotensión, fiebre e incluso cambios neurológicos. Una de las posibilidades para conseguir llevar un control de estos efectos es **reducir la cantidad de células T activas**, sin embargo es un trabajo difícil de conseguir. A pesar de que hasta la actualidad no se ha dado lugar a ninguna transformación maligna de las células T modificadas mediante ingeniería, se puede dar lugar a daños en un tejido normal debido a la incapacidad de reconocer correctamente las células normales y las células cancerosas.<sup>11,28</sup>

## 6. CONCLUSIÓN

El uso de la inmunoterapia para el tratamiento del cáncer es una rama bastante amplia que ha ido evolucionando a lo largo de los años, debido a su gran efectividad a la hora de hacer frente a las células cancerígenas. Este tipo de terapia empezó a adquirir importancia a partir del año 1965, sin embargo no fue hasta el año 1990 en el que el número de publicaciones empezó a elevarse considerablemente de manera exponencial hasta el día de hoy.

A lo largo de este trabajo se han destacado 5 tipos de técnicas inmunoterapéuticas: los Anticuerpos monoclonales, las células CAR-T, los TIL, los anti-CTLA-4 y anti-PD1/PD-L1 que han ido evolucionando y demostrando sus diferentes capacidades para hacer frente a las células cancerígenas. No obstante, a pesar de que todas las técnicas proporcionan resultados esperanzadores y favorables a la hora de combatir el cáncer, a lo largo de los años se ha podido observar una diferencia en el número de estudios realizados sobre cada una de estas técnicas, tal como se ha podido ver en la **Figura 2**, donde se puede observar que el uso de los inhibidores del punto de control, anti-CTLA-4 y anti-PD1/PD-L1, son las dos técnicas más estudiadas y sobre las cuales hasta el día de hoy, se están llevando a cabo una gran cantidad de ensayos clínicos y experimentos para conocer mejor su mecanismo, debido a su gran efectividad demostrada en el tratamiento de diferentes tipos de cáncer.

A pesar de haber obtenido resultados favorables y observar un gran beneficio sobre los pacientes tratados con este tipo de vía terapéutica, tal como ocurre con otros tipos de terapias contra el cáncer, la presencia de efectos secundarios adversos está presente y es por eso que aún queda mucha investigación sobre los mecanismos de acción de estas técnicas, con el fin de conseguir mejorar las técnicas y disminuir al máximo los efectos adversos.

## 7. REFERENCIAS

1. Médica, C. Inmunoterapia contra el cáncer. 2017 (2014).
2. Oiseth, S. J. & Aziz, M. S. Cancer immunotherapy: a brief review of the history, possibilities, and challenges ahead. *J. Cancer Metastasis Treat.* **3**, 250 (2017).
3. Qué es la inmunoterapia | Cancer.Net. Available at: <https://www.cancer.net/es/desplazarse-por-atención-del-cáncer/cómo-se-trata-el-cáncer/inmunoterapia/qué-es-la-inmunoterapia>. (Accessed: 21st January 2019)
4. Papel del NCI en la investigación de inmunoterapia - National Cancer Institute. Available at: <https://www.cancer.gov/espanol/investigacion/iniciativas-clave/inmunoterapia>. (Accessed: 21st January 2019)
5. Premio Nobel de Medicina de 2018 a la inmunoterapia en cáncer - Diariomedico.com. Available at: <https://www.diariomedico.com/salud/nobel-a-la-inmunoterapia-en-cancer.html>. (Accessed: 21st January 2019)
6. LaFleur, M. W., Muroyama, Y., Drake, C. G. & Sharpe, A. H. Inhibitors of the PD-1 Pathway in Tumor Therapy. *J. Immunol.* **200**, 375–383 (2018).
7. Alsaab, H. O. *et al.* PD-1 and PD-L1 Checkpoint Signaling Inhibition for Cancer Immunotherapy: Mechanism, Combinations, and Clinical Outcome. *Front. Pharmacol.* **8**, 561 (2017).
8. Anticuerpos anti PD-1 y PD-L1 e Inmunoterapia - Abyntek Biopharma. Available at: <http://www.abynetek.com/anticuerpos-anti-pd-1-y-pd-l1-e-inmunoterapia/>. (Accessed: 21st January 2019)
9. Buchbinder, E. I. & Desai, A. CTLA-4 and PD-1 Pathways: Similarities, Differences, and Implications of Their Inhibition. *Am. J. Clin. Oncol.* **39**, 98–106 (2016).
10. Postow, M. A., Callahan, M. K. & Wolchok, J. D. Immune Checkpoint Blockade in Cancer Therapy. *J. Clin. Oncol.* **33**, 1974–82 (2015).
11. Zhang, E. & Xu, H. A new insight in chimeric antigen receptor-engineered T cells for cancer immunotherapy. *J. Hematol. Oncol.* **10**, 1 (2017).
12. Brahmer, J. R. *et al.* Phase I study of single-agent anti-programmed death-1 (MDX-1106) in refractory solid tumors: safety, clinical activity, pharmacodynamics, and immunologic

- correlates. *J. Clin. Oncol.* **28**, 3167–75 (2010).
13. Fife, B. T. & Bluestone, J. A. Control of peripheral T-cell tolerance and autoimmunity via the CTLA-4 and PD-1 pathways. *Immunol. Rev.* **224**, 166–182 (2008).
  14. Egen, J. G., Kuhns, M. S. & Allison, J. P. CTLA-4: new insights into its biological function and use in tumor immunotherapy. *Nat. Immunol.* **3**, 611–618 (2002).
  15. Ribas, A. *et al.* Safety profile and pharmacokinetic analyses of the anti-CTLA4 antibody tremelimumab administered as a one hour infusion. *J. Transl. Med.* **10**, 236 (2012).
  16. Geukes Foppen, M. H., Donia, M., Svane, I. M. & Haanen, J. B. A. G. Tumor-infiltrating lymphocytes for the treatment of metastatic cancer. *Mol. Oncol.* **9**, 1918–35 (2015).
  17. The biology of cancer. Robert A Weinberg. Editorial Garland Science 2007 ISBN:0-8153-4078-8. *No Title*.
  18. Zacharakis, N. *et al.* Immune recognition of somatic mutations leading to complete durable regression in metastatic breast cancer. *Nat. Med.* **24**, 724–730 (2018).
  19. Cartellieri, M. *et al.* Chimeric antigen receptor-engineered T cells for immunotherapy of cancer. *J. Biomed. Biotechnol.* **2010**, 956304 (2010).
  20. Chmielewski, M. & Hombach, A. A. Truck Review. 83–90 (2014).
  21. Zhang, C. *et al.* Phase I Escalating-Dose Trial of CAR-T Therapy Targeting CEA+ Metastatic Colorectal Cancers. *Mol. Ther.* **25**, 1248–1258 (2017).
  22. Gelderman, K. A., Tomlinson, S., Ross, G. D. & Gorter, A. Complement function in mAb-mediated cancer immunotherapy. *Trends Immunol.* **25**, 158–164 (2004).
  23. Iannello, A. & Ahmad, A. Role of antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity in the efficacy of therapeutic anti-cancer monoclonal antibodies. *Cancer Metastasis Rev.* **24**, 487–499 (2005).
  24. Pandey, M. & Mahadevan, D. Monoclonal antibodies as therapeutics in human malignancies. *Futur. Oncol.* **10**, 609–636 (2014).
  25. Weiner, L. M., Surana, R. & Wang, S. Monoclonal antibodies: versatile platforms for cancer immunotherapy. *Nat. Rev. Immunol.* **10**, 317–27 (2010).
  26. Creus, N., Massó, J., Codina, C. & Ribas, J. Anticuerpos monoclonales en Oncología. *Farm. Hosp.* **26**, 28–43 (2002).
  27. Habermann, T. M. *et al.* Rituximab-CHOP Versus CHOP Alone or With Maintenance Rituximab in Older Patients With Diffuse Large B-Cell Lymphoma. *J. Clin. Oncol.* **24**, 3121–3127 (2006).
  28. June, C. H. Adoptive T cell therapy for cancer in the clinic. *J. Clin. Invest.* **117**, 1466–76 (2007).