



**FACULTAD DE FARMACIA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE**

TRABAJO FIN DE GRADO

TÍTULO:

Immune checkpoints inhibitors for cancer treatment

Inhibidores de la coestimulación inmune en cáncer

Autor: Leticia Cuarental Pérez

Tutor: Luis Miguel Bedoya del Olmo

Convocatoria: Febrero 2017

Índice

Resumen /Abstract	1
Palabras clave	1
1. Introducción y antecedentes	2
· 1.1. Papel de la coestimulación en la respuesta inmune frente al cáncer.	3
· 1.2. Inmunoterapia y anticuerpos monoclonales.	4
· 1.3. Inhibidores de la coestimulación inmune (ICI) en cáncer.	4
2. Objetivos	5
3. Metodología	5
4. Resultados y discusión	6
· 4.1. Dianas moleculares de los inhibidores de la coestimulación.	6
· 4.2. Ruta de transducción de señales	7
· 4.3. Inmunoterapia con ICI: terapéutica basada en casos clínicos.	10
· 4.4. Futuro de los immune checkpoints inhibitors.	15
5. Conclusiones	17
6. Bibliografía	18

Resumen / Abstract.

El cáncer consigue escapar a la respuesta inmune de nuestro organismo gracias a las denominadas señales coinhibidoras. Las células cancerosas, tras ser detectadas por los linfocitos, son capaces de expresar en su superficie receptores de membrana que interactúan con otros receptores en las células T desencadenando la inhibición de la respuesta inmune.

Con el fin de evitar esto, se han desarrollado los inhibidores de la coestimulación inmune, anticuerpos monoclonales que bloquean dichas moléculas de superficie impidiendo su interacción y pudiéndose entonces desarrollar una respuesta inmune completa.

El objetivo de este trabajo es analizar las dianas moleculares de estos fármacos, las rutas coinhibitorias, el estado actual de la terapéutica de los mismos y las diferentes vías de investigación que presumen el descubrimiento de nuevos inhibidores de la coestimulación.

Cancer is able to escape from the immune response because of signals called coinhibitory signals. After cancer's cells are detected by lymphocytes, they modulate the expression of surface receptors which interact with T cells spreading the inhibition of the immune response.

To avoid that, immune checkpoints inhibitors have been developed. They are monoclonal antibodies that try to blockage these surface receptors, resulting on no inhibitory interaction between T cells and cancer cells and developing a complete immune response.

The aim of this review is to analyse molecular targets, coinhibition pathways, the therapeutic usage of these drugs and the new research lines that promise the finding of new immune checkpoints inhibitors.

Palabras Clave / Keywords.

Immunoterapia	Cancer	Anticuerpos monoclonales	CTLA-4	PD-1
PD-L1	Coestimulación	Coinhibición	Inhibidores de la coestimulación	
<i>Immunotherapy</i>	<i>Monoclonal antibodies</i>	<i>Pathways</i>	<i>Costimulation</i>	
<i>Coinhibition</i>	<i>Immune checkpoint inhibitors</i>			

1. Introducción y antecedentes.

El cáncer se puede definir como un conjunto de enfermedades relacionadas donde ciertas células del cuerpo comienzan a dividirse de forma incontrolada, malignizándose e invadiendo al resto del organismo¹. Se trata de una de las enfermedades más prevalentes e incidentes en nuestra sociedad, estimándose que aumentará a 22 millones (70%) de casos nuevos en las siguientes dos décadas², siendo el cáncer de pulmón el que registra mayor número de casos. Es por ello, además de por su impacto social y económico, por lo que se han destinado, en España, más de 32 millones de euros en proyectos de investigación³.

El cáncer está estrechamente relacionado con la inmunidad, por ello se han desarrollado equipos multidisciplinares de inmuno-oncología, dedicados a estudiar la respuesta desarrollada por el sistema inmunitario (S.I.) frente a las células cancerosas.

Sabemos que las células cancerosas difieren de las normales en varios puntos: se dividen incontroladamente, no suelen diferenciarse y especializarse, ignoran señales de muerte celular programada, son capaces de influir en otras células cercanas y propiciar la angiogénesis y un microambiente tumoral apto para el crecimiento del tumor y, lo que nos concierne, son capaces de engañar o esconderse del sistema inmunitario¹.

Desde el comienzo de la inmunología como disciplina científica, se sospechó que existía una “vigilancia inmunológica” del cáncer, es decir, que el S.I. de los individuos inmunocompetentes era potencialmente capaz de desarrollar inmunidad específica frente a las células cancerosas (Erllich 1909 y Brunet 1957)⁴. Se deduce, con esto, que los tumores pueden inducir inmunidad. Si esto es así, es porque existen antígenos específicos de tumor. Estos antígenos tumorales son codificados por los genes MAGE, BAGE y GAGE^{5,6} y pertenecen a la familia de proteínas de choque térmico (HSP) las cuales, se unen a células presentadoras de antígeno (CPA) como macrófagos y células dendríticas mediante receptores para HSP (como el CD91). Tras ser introducidos en las CPA son procesados presentándose –mediante mecanismo de presentación cruzada- sobre las moléculas del complejo de histocompatibilidad I y II (MHC-I y MHC-II) pudiendo producir una respuesta CD8 o CD4. Sin embargo, tras este mecanismo de presentación antigénica, la respuesta inmunitaria (R.I.) es incompleta o demasiado débil para eliminar al tumor. ¿Por qué? ¿Qué es lo que ocurre cuando los linfocitos T (LT) interactúan con la CPA? ¿Por qué no se desarrolla una respuesta completa? ¿Cómo podemos conseguir que el S.I. sea suficientemente eficaz en la eliminación de tumores?

● 1.1. Papel de la coestimulación en la respuesta inmune frente al cáncer.

El sistema inmunitario es capaz de mantener un equilibrio, reconociendo las células o moléculas propias de nuestro organismo, desarrollando tolerancia inmunológica (con el fin de evitar enfermedades autoinmunes); y las extrañas, frente a las que se activa la R.I..

Cuando los linfocitos T CD4⁺, interaccionan con la CPA que presenta en una MCH-II el antígeno tumoral, ocurren diferentes procesos que regulan la respuesta esperada por el S.I. Los LT CD4⁺ helpers, deben acompañar a los LT CD8⁺ citotóxicos y de memoria a desarrollarse, y tienen un papel estimulante en la respuesta inmunológica^{4,7,8}. Sin embargo, los linfocitos Treg reguladores, son capaces de suprimir la R.I., produciendo autotolerancia. Ciertas moléculas se consideran marcadores de la presencia de Treg, como la CD25⁺, GIRT y el antígeno 4 de los linfocitos T citotóxicos (CTLA-4)^{9,4}. Estas células tienen una función de inmunosupresión directa, mediante el contacto célula-célula (en la cual nos centraremos) o indirecto por la secreción de mediadores antiinflamatorios IL-10, IL-4, TFG-β. La finalidad de estas células, es encontrar un equilibrio entre las señales activadoras e inhibitorias, de modo que se obtenga una respuesta óptima, suficientemente activa para ser funcional pero controlada mediante las vías inhibitorias para tolerar al propio organismo y no producir daños autoinmunes. Se han estudiado modelos animales transgénicos donde se han eliminado estas Treg, de modo que se ha incrementado la respuesta inmune antitumoral, lo cual demuestra la implicación de las Treg en la supresión de la respuesta inmunitaria frente al cáncer⁹.

Así pues, para generar una respuesta inmune completa no es suficiente el simple contacto entre los LT y las CPA, si no que se requieren moléculas coactivadoras y coinhibidoras que regulen la respuesta¹⁰. Las células cancerosas tienen la capacidad escapar de la respuesta inmunitaria interfiriendo en este proceso de coestimulación/coinhibición, activando las vías inhibitorias de las células T, mediante la sobreexpresión de moléculas mediadoras de la inhibición sobre los linfocitos T, como el antígeno 4 de los linfocitos T citotóxicos (CTLA-4), el receptor de muerte programada 1 (PD-1), PD-2, mucina-3-inmunoglobulina del LT (TIM3) o el antígeno linfocitario del gen 3 (LAG-3), las cuales van a inducir disfunción/inactivación de las células T¹¹. En esta revisión analizaremos el papel del cáncer en estas vías inhibitorias. Sin embargo, existen otros métodos de escape, como inhibir las vías activadoras de la respuesta en las células T, modulando la actividad o expresión de las moléculas que actúan en las mismas (GIRT, CD40, OX-40, etc); o, suprimir la actividad de las natural killer (NK)⁴.

● 1.2. Inmunoterapia y anticuerpos monoclonales.

La inmunoterapia consiste, básicamente, en el uso de ciertas partes, acciones o componentes del sistema inmunitario con fines terapéuticos. El objetivo de la inmunoterapia en el cáncer es conseguir que el S.I. desarrolle una R.I. efectiva frente al tumor. Para ello se usan anticuerpos monoclonales (mAb), moléculas proteicas específicas para un antígeno diseñadas en los laboratorios, pudiendo diferenciar entre mAb puros y mAb conjugados a otras moléculas (químico o radioterápicos). El uso de mAb en la inmunoterapia para el tratamiento del cáncer comenzó hace 15 años y se ha convertido en uno de los métodos más efectivos. Existen múltiples mecanismos por los cuales los mAb producen la muerte de una célula tumoral: teniendo como diana antígenos del tumor, actuando sobre el microambiente tumoral y el estroma o componentes vasculares que rodean al tumor o mediando la R.I. frente al tumor (fagocitosis o activación de las células T)^{4,12,13, 14}.

● 1.3. Inhibidores de la coestimulación inmune (ICI) en cáncer.

Los immune checkpoints inhibitors o inhibidores de la coestimulación inmune (ICI) son anticuerpos monoclonales que tratan de modular la actividad de los LT en su respuesta frente al cáncer. Se unen específicamente a las moléculas coinhibitorias como CTLA-4 o PD-1 en la célula T o a sus ligandos PD-L1 en las células tumorales, de modo que impiden la interacción entre los mismos, bloqueando la activación de las vías inhibitorias a nivel de los LT en la R.I.¹⁵. Actualmente, existen cuatro ICI autorizados:

- Ipilimumab (Yervoy®). Autorizado en el año 2011 por la AEMPS y desarrollado por Bristol Myers Squibb, es un mAb anti CTLA-4.¹⁶
- Nivolumab (Opdivo®). Autorizado en 2015 por la AEMPS y desarrollado por Bristol Myers Squibb, es un mAb anti PD-1.¹⁷
- Pembrolizumab (Keytruda®). Autorizado en 2015 por la AEMPS y desarrollado por Merck Sharp & Dohme Corp (MSD), es un mAb anti PD-1.¹⁸
- Atezolizumab (Tecentriq®). Autorizado en 2016 en EE.UU. por la FDA y desarrollado por Genentech Oncology es un mAb anti PD-L1.¹⁹

La inmunoterapia y los ICI han supuesto una revolución en el tratamiento contra el cáncer, desde que se propusieron en 1990. Hasta hoy, existen tres principales dianas farmacológicas que son bloqueadas por estos ICI, el antígeno 4 asociado a los linfocitos T citotóxicos (CTLA-4), el receptor de muerte programada 1 (PD-1) y su respectivo ligando (PD-L1). Mediante diferentes mecanismos, todos ellos regulan la homeostasis inmunológica durante la respuesta inmune desarrollada por las células T. Hasta la fecha, ipilimumab (anti CTLA-4), nivolumab y pembrolizumab (anti PD-1) están aprobados en España para el tratamiento del melanoma avanzado, y los dos últimos en cáncer de pulmón no microcítico avanzado^{4,20,21}.

2. Objetivos.

- 2.1. Revisar el mecanismo de activación de los linfocitos T mediante su interacción inmunológica con células tumorales, así como las vías de transducción de señales a las que da lugar en el LT.
- 2.2. Estudiar el mecanismo de acción de los ICI utilizados en terapéutica, así como sus aspectos clínicos (dosis, pauta, indicación, reacciones adversas...), basándonos en experiencia clínica y ensayos clínicos.
- 2.3. Analizar el estado actual y futuro respecto a la investigación de los ICI.

3. Metodología.

Revisión de fuentes bibliográficas primarias, secundarias y terciarias (PubMed, ToxNet, Medline, British Journal of Cancer, Journal of Immunology, Journal of Pharmacology, Nature Reviews, OMS, NCI, AECC...) así como revisiones de ensayos clínicos, análisis directo de los EC llevados a cabo en el Hospital General Universitario Gregorio Marañón y asistencia a reuniones comerciales con empresas farmacéuticas como MSD.

4. Resultados y discusión.

● 4.1. Dianas moleculares de los inhibidores de la coestimulación.

Cuando una CPA presenta antígenos sobre una MHC-II, estos se unen al receptor de las células T (TCR) en los linfocitos T, comenzando así la respuesta inmune. Sin embargo requiere señales de coestimulación para su activación completa, uniéndose CD28 presente en la superficie de las células T con CD80 (conocido también como B7.1) y CD86 (B7.2) en las CPA. Las señales coestimuladoras son fundamentales para el desarrollo completo de la respuesta inmune, impidiendo que las células T entren en un estado de anergia⁸. Las diferentes moléculas coinhibidoras actúan en diferentes etapas de este proceso, suprimiendo la actividad de las células T y atenuando la respuesta inmune. Por ello, tienen un papel indispensable en la prevención de autoinmunidad y en el desarrollo de auto-tolerancia²⁰. La familia B7:CD28 es el principal grupo de receptores/moléculas involucradas en procesos de coestimulación y coinhibición en los linfocitos T⁸.

CTLA-4 (o CD152) es una proteína transmembrana expresada en la superficie de las Treg y se encarga de regular la amplitud de la respuesta inmune por parte de las células T. Como vemos en la figura 1, CTLA-4 compite con CD28 por su unión a CD80 y CD86 de las CPA, suponiendo esta unión la inhibición de la activación de la R.I.^{7,20}. El rol definitivo de CTLA-4 en la coinhibición inmune se confirmó en 1995 cuando se diseñó un ratón CTLA-4^{-/-} que presentaba una hiperproliferación linfocitaria y graves problemas de autotolerancia^{10,22}. La unión de CTLA-4 con CD80 supone la regulación negativa de la activación de las células T mediante dos mecanismos: por un lado, un mecanismo intracelular y por otro, mediante la inducción de la secreción del factor de crecimiento TFGβ y la indoleamina 2,3-dioxigenasa (IDO)²³.

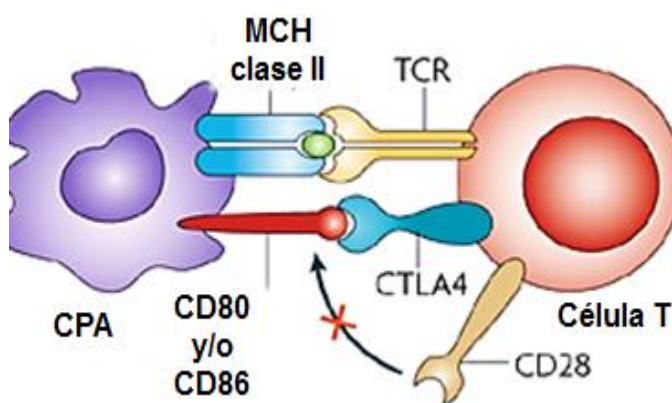


Figura 1. Competición entre CTLA4 y CD28 por sus ligandos en la CPA (CD80/CD86).²³

PD-1 también es un regulador negativo de la R.I. mediada por las células T, y su función fisiológica consiste en impedir daños causados por la activación excesiva de LT en tejidos periféricos. PD-1 se expresa en células T, linfocitos B e incluso natural killers. Pertenece a la familia B7, igual que su ligando PD-L1 (B7-H1 ó CD274) presente principalmente en CPA y

células tumorales²⁰. Su función se confirmó también mediante ratones knock-out. Las células cancerosas expresan un alto porcentaje de PD-L1 en su superficie, siendo esta la forma de protegerse frente a la respuesta inmune, pues la unión de PD-1 y PD-L1 se traduce en la inhibición de la coestimulación inmune (FIG.2), y por tanto, la R.I. no se desarrollaría al completo²⁰.

PD-L1 se expresa en células cancerosas como las de melanoma, glioblastoma, cáncer de cabeza y cuello, pulmón, ovario, colon, estómago, riñón y mama¹⁰.

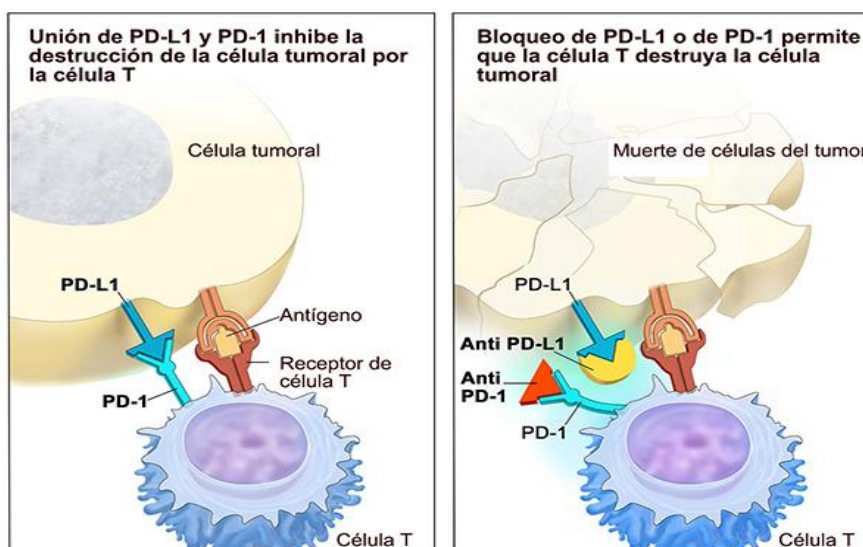


Figura 2. Interacción entre PD-1 y PD-L1 ¹

La elevada expresión de esta molécula implica un comportamiento más agresivo del tumor, así como más riesgo de muerte. PD-L1 puede estar constitutivamente expresado en las células tumorales o no. Sin embargo, aquellas que no lo expresan de forma constitutiva, adquieren la capacidad de presentarlo de forma adaptativa frente al ataque de las células T y las señales inflamatorias antitumorales¹⁵.

● **4.2. Ruta de transducción de señales:** mecanismo de activación de respuestas coinhibitorias producidas por las células del S.I. al interactuar con una célula tumoral.

El mecanismo de acción de estos fármacos, ocurre pues, en el ambiente extracelular, mediante la interrupción de la “sinapsis inmunológica” entre los receptores de membrana de los LT y sus ligandos en las CPA o células tumorales. Sin embargo, su expresión y la respuesta generada tras la unión ligando-receptor están determinadas por complejas rutas intracelulares.

Tras la unión del CD4 de la célula T a la MHC-II en la CPA se produce la activación de una tirosin-quinasa anclada a la región intracelular de CD4, que fosforila a los ITAM (motivos de activación del inmunoreceptor basados en tirosina) presentes en CD3 y en las cadenas Z. Las tirosinas fosforiladas en las cadenas Z van a actuar como sitios de anclaje de moléculas ZAP-70 (tirosin-quinasa asociadas a cadenas Z) encargadas de activar múltiples cascadas de señales

intracelulares como las mediadas por la fosfolipasa C o el diacilglicerol (DAG) y el inositol trifosfato (IP3)²². Este último induce la liberación de calcio endoplásmico y aumenta la expresión de canales de membrana de calcio, incrementando este ion en el interior celular lo que conlleva la formación de un complejo intracitoplasmático con la calmodulina, induciendo así la activación de la calcineurina que es una serin-treonin-fosfatasa que elimina grupos fosfato del factor de transcripción citoplasmático NFAT, que es capaz de trasladarse al núcleo e inducir la transcripción de genes de interleukinas (IL-2, IL-4...) ^{7,24}. Además, el DAG junto con el calcio estimula a la proteína quinasa C que estimula a otro factor de transcripción denominado factor nuclear Kappa-B (NF-kB) que activa la expresión de genes de citoquinas y sus receptores. Se expresan así moléculas de adhesión como LFA1 en la célula T que facilita la ligación TCR con los receptores de la CPA²³. La activación de estas vías de señalización contribuye a la expresión de genes que codifican proteínas necesarias para la expansión clonal, la diferenciación y las funciones efectoras de los LT, pero para su activación completa son necesarias señales coestimuladoras, ya que sin estas se induce el estado de anergia^{8,10,23}.

Las señales coestimuladoras y coinhibidoras se encuentran en un equilibrio constante, que permite la adecuada respuesta inmune frente al tumor. El primer contacto celular explicado anteriormente, se traduce en la expresión de estas moléculas coestimuladoras y coinhibidoras. El gen de CTLA-4 se encuentra en el cromosoma 2q33 y contiene cuatro exones, siendo los dos primeros los codificantes de la región extracelular; el tercero, de la transmembranal y; el último, de la intracelular^{7,22}. Este último dominio tiene un alto grado de conservación en mamíferos, lo que indica que la señalización intracelular a partir del mismo es definida.

La molécula coestimuladora CD28, y CTLA-4 presentan gran homología en sus secuencias génicas, lo que justifica su competición por los mismos ligandos (B7-1 y B7-2). Sin embargo, la mayor afinidad del receptor coinhibidor por dichos ligandos se debe a su estructura homodimérica y unión bivalente a los mismos. CD28 se expresa de forma constitutiva en los LT mientras que CTLA-4 se encuentra expresada a bajos niveles y compartimentalizada en la célula, siendo tras la activación primera de los linfocitos cuando se trasloca a la membrana desde el aparato de Golgi, donde se almacena, siendo este proceso más rápido en los linfocitos de memoria y en Treg. Esto ocurre ya que ZAP70 activada fosforila activa varias vías de MAP-quinasas, siendo las más importantes la de la cinasa del receptor extracelular activado (ERK), que estimula la transcripción de Fos, un componente del factor de transcripción de la proteína de activación 1 (AP-1). La siguiente, es la de la kinasa aminoterminal de c-Jun (JNK) que fosforila a c-Jun, el segundo componente del factor de

transcripción AP-1. Ambos componentes de AP-1 se unen entre sí mediante la "cremallera" de leucinas, entran al núcleo de los LT y en combinación con el NFAT participan en la transcripción de genes de citocinas y en la síntesis y translocación de CTLA-4 a la membrana. Una vez en la membrana, el dominio intracelular de CTLA-4 debe fosforilarse, de modo que se impide su interacción con AP-2 que es el factor que inicia su degradación o almacenaje en los lisosomas del aparato de Golgi²². Además, los motivos intracelulares con tirosinas de CTLA-4 reclutan proteínas que contienen dominios SH-2 lo que facilita su mantenimiento en la superficie celular^{11,15}. La unión de CTLA-4 a CD80/CD86 frenará esta vía de activación de la respuesta inmune al reducir la fosforilación de ZAP70, lo que conllevará la inmovilización del calcio y la finalización de la secreción de citoquinas. Así se reduce la eficiencia de activación de los LT y entran en un estado de anergia, de modo que la R.I. no se completa²³. También se postula, que la asociación de la subunidad A de la serina/treonina fosfatasa 2A (PP2A) con residuos de lisina de CTLA-4 inactiva a CTLA-4. Se podría considerar un regulador de la molécula coinhibitoria, de modo que hasta que esta no se une a sus ligandos de tirosina, se encuentra expresada pero afuncional, debido a su unión a PP2A. Además, se cree que PP2A es transferible entre CTLA-4 y CD28, lo que indica que CTLA-4 al activarse, transfiere PP2A a la molécula coestimuladora, impidiendo su función⁷ (véase FIG.3).

A diferencia de CTLA-4, PD-1 se expresa como monómero y es un receptor inhibitor que participa en la finalización de las respuestas inmunitarias.⁸ PD-1 al unirse a su ligando PD-L1 en CPA o células tumorales, es fosforilado en sus residuos intracelulares de tirosina: el inmunoreceptor de tirosina basado en motivos inhibitorios (ITIM) o basado en motivos intercambiables (ITSM). Esto hace que proteínas fosfatasas como SHP-1 y SHP-2 sean reclutadas, desfosforilando la cadena CD3 e inhibiendo los TCR próximos^{10,11,25}. Además, la unión de PD-1/PD-L1 y fosforilación de ITIM suprime la cascada intracelular del PI3K y la vía de señalización de Akt. CTLA-4 también es capaz de inhibir dicha vía de forma independiente de PI3K pero usando PP2A.^{11,26}

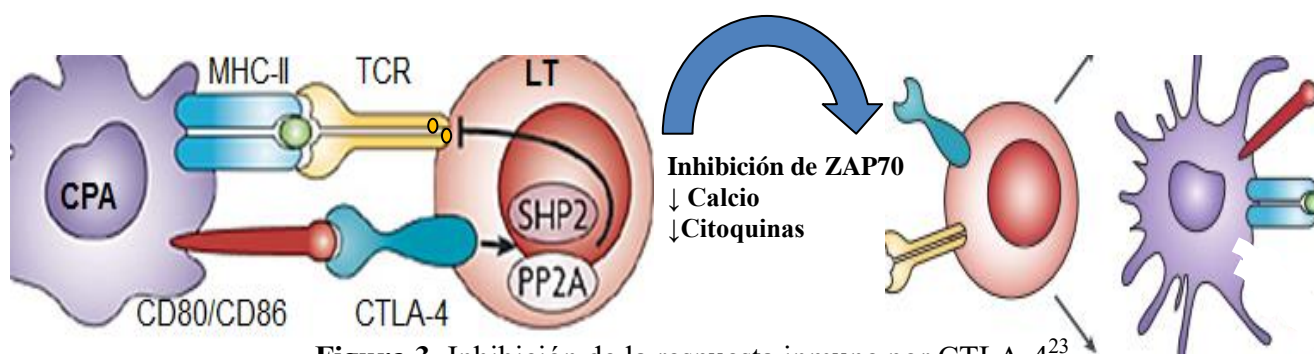


Figura 3. Inhibición de la respuesta inmune por CTLA-4²³

Se cree que la expresión de PD-L1 viene inducida por presencia de mediadores inflamatorios como el $\text{INF}\gamma$ y por la activación de STAT3 (transductor de señalización y activador de la transcripción 3), mediante cascadas intracelulares relacionadas con PI3K-Akt¹⁵ (véase FIG.4).

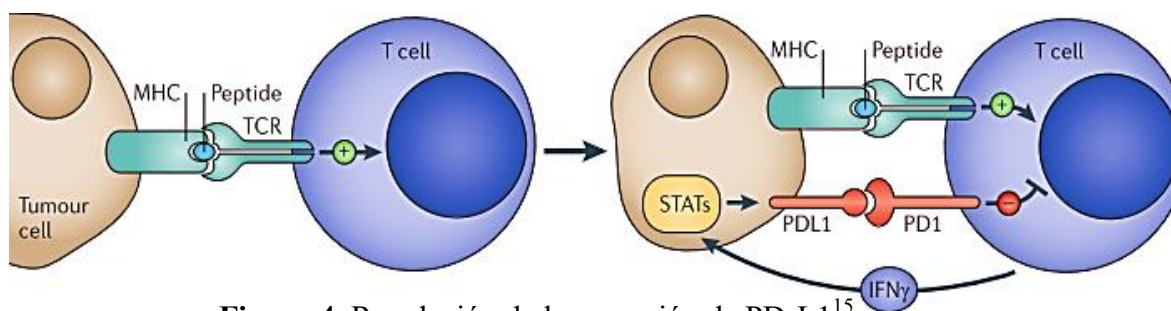


Figura 4. Regulación de la expresión de PD-L1¹⁵.

Así pues, los ICI interrumpen la unión de CTLA-4, PD-1 y PD-L1 con sus respectivos ligandos, de modo que la respuesta inmune no se inhibe, sino que se completa ya que las moléculas coinhibidoras se encuentran bloqueadas.

● 4.3. Inmunoterapia con ICI: terapéutica basada en casos clínicos.

La inmunoterapia utilizando ICI indicados en diferentes tipos de cáncer, no es algo sencillo, debido no sólo a la novedad de estas formulaciones sino también a la propia idiosincrasia y situación clínica de los individuos. La mayor parte de la evidencia científica y clínica existente, está basada en ensayos clínicos, pues estos fármacos han sido recientemente aprobados y no existe suficiente experiencia clínica²⁷.

En las siguientes tablas, intentamos elucidar las diferentes indicaciones, dosificaciones y reacciones adversas que corresponden a cada ICI comercializado alrededor del mundo.

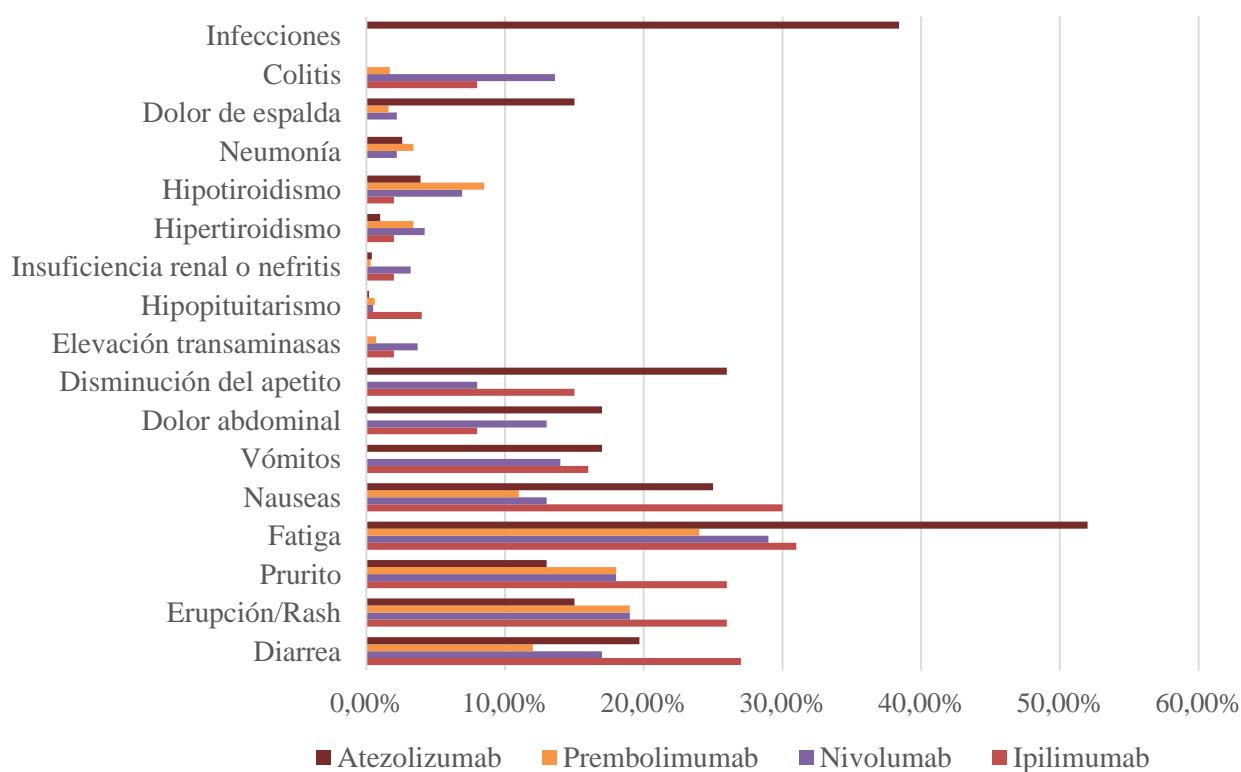
ICI	DOSIS	INDICACIÓN PRINCIPAL	MECANISMO DE ACCIÓN
Ipilimumab (Yervoy®) ²⁸	3 mg/ kg	Tratamiento del melanoma irreseccable o metastásico	anti-CTLA-4
Pembrolizumab (Keytruda®) ²⁹	2 mg/kg	Tratamiento del melanoma irreseccable o metastásico Cáncer de pulmón no microcítico (CPNM) localmente avanzado o metastásico en adultos cuyos tumores expresen PD-L1 y que hayan recibido al menos un tratamiento de quimioterapia previo *	anti-PD-1

Este trabajo tiene una finalidad docente. La Facultad de Farmacia no se hace responsable de la información contenida en el mismo.

Nivolumab (Opdivo®) ³⁰	3 mg/kg	Tratamiento del melanoma irresecable o metastásico	anti-PD-1
		Carcinoma de células renales avanzado después de tratamiento previo *	
Atezolizumab (Tecentriq®). *	1200 mg	Cáncer de Pulmón No Microcítico de histología escamosa, localmente avanzado o metastásico después de quimioterapia previa	anti PD-L1
		Cáncer urotelial avanzado o metastásico en progresión tras el tratamiento quimioterápico/platino ³¹ .	
TABLA 1. Immune Checkpoints Inhibitors		* Medicamento o indicación no autorizada en España	

Basándonos en los informes de posicionamiento terapéutico^{17,16,18,32}, así como en los informes EPAR^{33,28-30,34} de la EMA, fichas técnicas, artículos^{35,36,37} e informes de la FDA^{19,31}, se han estudiado los diferentes ensayos clínicos realizados con los ICI, pudiendo resumir la incidencia de reacciones adversas en el siguiente gráfico (véase Gráfico 1).

Gráfico 1. Reacciones adversas de los ICI



Otros datos de gran importancia a la hora de decidir en la aprobación y qué línea de tratamiento posicionamos a los immune checkpoints inhibitors, corresponden con el porcentaje de interrupciones del tratamiento (véase Gráfico 2) y muertes relacionadas con reacciones adversas en el transcurso de los ensayos clínicos (véase Gráfico 3).

Gráfico 2. Interrupciones del tratamiento debido a RAM

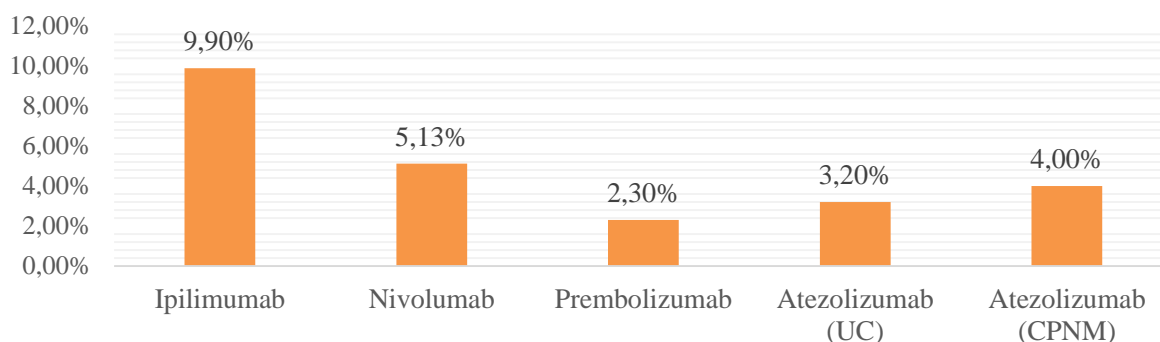
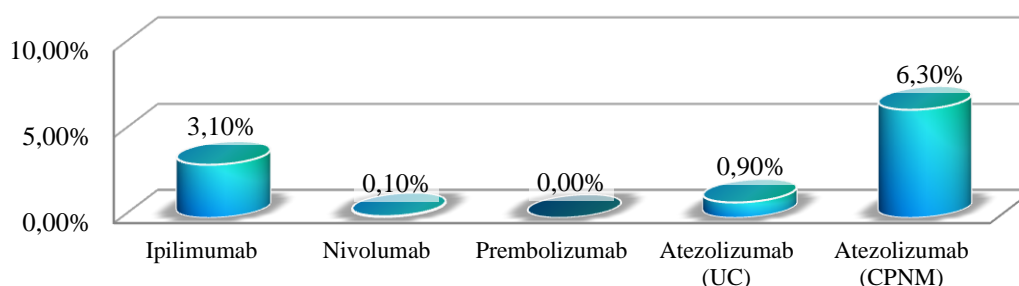


Gráfico 3. Muertes relacionadas con el tratamiento



Según las características de seguridad observadas en los diferentes ensayos clínicos, así como la medida de la eficacia a través de la supervivencia global (SG) y supervivencia libre de progresión (SLP) y el precio del ICI, se ha propuesto un posicionamiento terapéutico para los siguientes inhibidores de la coestimulación inmune:

◦ 4.3.1. Ipilimumab¹⁶.

Fue el primer ICI autorizado en España, el 19/07/2011. Demuestra su eficacia en el ‘Estudio CA184024’ que compara Ipilimumab+DTIC frente a placebo+DTIC ha arrojado cifras de SG de 20,8% vs. el 12,2% y ha demostrado una mayor duración en la respuesta terapéutica 19,3% vs. 8,1%. En otro estudio ‘Estudio MDX010-08’ se compara el ipilimumab en monoterapia frente al ipilimumab+dacarbazina siendo las tasas de respuesta objetiva y SG mayores en la terapia combinada. Los estudios anteriores intentan demostrar la eficacia de Ipilimumab para posicionarlo como tratamiento de primera línea. Respecto al uso como 2ª línea, disponemos

del Estudio MDX010-20 que compara ipilimumab en monoterapia, vacuna gp100 en inmunoterapia y terapia combinada de los dos anteriores, observando una SG de 10,12 meses (IC 95% 8,02-13,80) en el grupo de ipilimumab frente a 6,44 y 9,95 en el grupo de la vacuna gp100 y en la combinación. En conclusión, el Ipilimumab es eficaz en el tratamiento del melanoma irresecable o metastásico tanto en pacientes con o sin tratamiento previo con quimioterapia^{4,38}.

En aquellos pacientes con mutación BRAFV600 positiva y con signos y/ o síntomas que indiquen una rápida progresión del tumor, se comenzaría con un inhibidor BRAF como vemurafenib y dabrafenib, siendo en ese caso Ipilimumab tratamiento de 2ª línea.

En pacientes con ausencia de mutación BRAFV600 y susceptibles de recibir un tratamiento completo, se recomienda ipilimumab como 1ª línea. Además, será altamente recomendable en aquellos pacientes con buen estado funcional (ECOG 0-1) en los que no esté indicada una rápida progresión del tumor. Deberán tener bajo volumen metastásico, LDH por debajo de dos veces el límite superior de la normalidad y una expectativa de vida de al menos 4 meses. En aquellos pacientes que no cumplen estos requisitos, se han mostrado datos de supervivencia similares a corto plazo entre el ipilimumab y el carboplatino-paclitaxel, aunque la SG a largo plazo es el doble con el mAb por lo que también podría considerarse de 1ª línea.

Cabe destacar los elevados gastos que suponen los tratamientos con ICI, por ejemplo, en el HGUGM invierten en un vial 200 mg de Ipilimumab 9.729,30 € , ascendiendo el tratamiento completo en un paciente de 70 kg a 48.646,48€³⁹.

◦ 4.3.2. Nivolumab ^{17,32,38,40}

La eficacia ha sido demostrada en el ‘Estudio CheckMate066’ donde los pacientes recibían nivolumab o dacarbazina (DTIC) y la SG a un año fue de 73% en el brazo de nivolumab y 42% para DTIC. También el ‘Estudio CheckMate037’, aun en curso, donde los pacientes han recibido nivolumab o carboplatino/paclitaxel, muestra TRO de 25,7% vs 10,8%. En el estudio Larkin, todavía en proceso, se compara nivolumab y ipilimumab, ambos en monoterapia, nivolumab obtiene mayores valores de TRO (43,7% vs 19%), respuestas completas (8,9% vs. 2,2%) y respuestas parciales (34,8% vs. 16,8%) lo que se traduce en una mayor SLP para la monoterapia con nivolumab respecto a la monoterapia con ipilimumab (mediana de SLP 6,9 meses vs. 2,9 meses). Además, como hemos visto e los gráficos anteriores el Nivolumab presenta menor porcentaje de interrupciones y muertes relacionadas con el tratamiento, por lo

que este anti-PD1 se está convirtiendo en un medicamento de referencia para el tratamiento del melanoma metastásico o avanzado, desde su comercialización en Julio del 2015³².

Nivolumab en pacientes sin tratamiento previo con ipilimumab y con ausencia de mutaciones en BRAF podría ofrecer una actividad similar a pembrolizumab. Ambos medicamentos se consideran superiores a la quimioterapia e ipilimumab.

En pacientes con mutación positiva BRAFV600 serán tratados con iBRAF pero si no presentan signos y/o síntomas de rápida progresión tumoral, se decidirá entre anti-PD1 e iBRAF según las características del paciente.

El Opdivo® también se encuentra autorizado para el tratamiento de CPNM avanzado tratado con quimioterapia previa³⁰. El tratamiento estándar, se ha basado en una 1ª línea de quimioterapia con derivados del platino, utilizando como 2ª línea en progresión tumoral el docetaxel. El Nivolumab pretende sustituir al docetaxel como tratamiento de 2ª línea y basa su eficacia en estudios como el ‘CheckMate CA209017’ donde La SG, respuesta objetiva y SLP fueron significativamente mayores en el grupo tratado con nivolumab. El ‘Estudio CheckMate CA209063’ el tratamiento con nivolumab 3mg/kg demostró una tasa de respuesta global de 14,5%, una mediana de SG de 8,21 meses (estimada a un año en 41%) y una mediana de SLP de 1,87. La dosis terapéutica de 3 mg/kg se definió en el Estudio CA2090003 de fase I¹⁷.

◦ 4.3.3. Pembrolizumab.

Los EC de fase III KEYNOTE-002 y KEYNOTE-006 han posicionado este ICI como prioridad para el tratamiento del melanoma metastásico, independientemente de su línea de tratamiento. En el primero, un 21-25% de los pacientes tratados experimentó una reducción del tamaño del tumor, frente a un 4% para los tratados con quimioterapia. En el estudio 006, este porcentaje fue de un 33-34% frente a un 12% en tratamiento con ipilimumab. Por ello se considera que Pembrolizumab (también autorizado en Julio del 2015), se encuentra en un posicionamiento similar a Nivolumab, siendo decisión médica el uso de qué anti-PD1^{18,38}

◦ 4.3.4. Atezolizumab.

ICI no comercializado en Europa pero sí en EE.UU. en mayo de 2016 bajo la autorización de la FDA, demostrando una TRO de un 26% en aquellos pacientes que muestran una elevada expresión de PD-L1, en cáncer urotelial avanzado³¹. También ha sido aprobado en el tratamiento de CPNM en Octubre del 2016, pues muestra un porcentaje menor de muertes durante el tratamiento que el docetaxel¹⁹.

● 4.4. Futuro de los immune check points inhibitors.

Debido su uso creciente, múltiples empresas farmacéuticas están desarrollando nuevos ICI, basándose en la búsqueda de nuevas dianas o moléculas inhibidoras (immune checkpoints) tanto en las células tumorales como en las células T, combinando los ya existentes, o éstos con otros fármacos. Así mismo, se estudian nuevas indicaciones en diferentes tipos de cáncer.

Ensayos clínicos llevados a cabo en la unidad de EC del Hospital General Universitario Gregorio Marañón, revelan nuevas indicaciones para los ICI ya existentes en la tabla 2.

TABLA 2. Ensayos clínicos con ICI para nuevas indicaciones.	
Atezolizumab (próximo a su comercialización en España)	- Cáncer de pulmón no microcítico (2 EC) - Cáncer renal - Cáncer urotelial (2 EC) - Cáncer colorectal
Nivolumab	- Cáncer renal - Melanoma (3 EC) - Linfoma (2 EC) - Glioblastoma (3 EC) - Cáncer urotelial (2 EC) - Cáncer de estómago
Nivolumab + Ipilimumab	- Carcinoma hepatocelular - Cáncer de colon - Melanoma (2 EC)
Pembrolizumab	- Cáncer gástrico - Cáncer de mama - Cáncer de cabeza y cuello - Cáncer urotelial - Melanoma

Además, alrededor de todo el mundo se aprueban nuevos ICI o nuevas combinaciones de ambos, y continúan realizándose EC al respecto^{4,20}. Se investigan nuevas líneas de tratamiento como, por ejemplo, la terapia combinada de Ipilimumab + Nivolumab. La actividad anti-PD-1 y anti CTLA-4 es sinérgica en modelos tumorales murinos (estudio MDX-1106-010-002R 930036349). La fase clínica se desarrolló en diferentes ensayos clínicos como CA209067, CA209069 y CA209004, enfocados al tratamiento de melanoma metastásico. La dosis de ipilimumab 3 mg/kg y nivolumab 1 mg/kg se ha basado en la totalidad de todos los datos disponibles incluyendo actividad antitumoral y datos de seguridad en el estudio CA209004. Además, se ha comprobado que no interfieren en la secreción de citoquinas por parte de las células sanguíneas periféricas, tanto solos como en combinación, incluso en concentraciones de 100 µg/mL. Además no activan de forma inespecífica los linfocitos. Estos hechos demuestran su especificidad sobre células tumorales o linfocitos T que expresan específicamente moléculas o ligandos cohinibidores. Aun así, no todo son aspectos positivos,

pues podrían desarrollarse anticuerpos anti ICI durante el tratamiento frente a ipilimumab (6,1%), nivolumab (12,3%) o frente a la terapia combinada. Aún existen cuestiones sin resolver, pero resulta una línea de investigación primordial en el avance de los ICI³³.

Además se continúan explotando nuevas regiones intracelulares que podrían permitir la modulación de la respuesta inmune mediada por los linfocitos T, actuando en la unión de las lisinas presentes en el dominio intracitoplasmático de CTLA-4 y CD28 con la enzima PP2A.⁷

También se pretenden abrir nuevos campos como el de la inmunofarmacogenómica, que consiste en el análisis de secuencias génicas de infiltrado de linfocitos de pacientes enfermos, con el fin de determinar los niveles de expresión de moléculas de superficie de las células T de los mismos, y así enfocar su tratamiento con un ICI determinado²⁰.

Además se proponen nuevas dianas sobre las que desarrollar ICI (FIG. 5), como el gen 3 de activación linfocitaria (LAG3), el receptor de natural killers (KIR), 4-1BB y OX40 (de la superfamilia de receptores del factor de necrosis tumoral), etc.^{4,10, 15,21,26,38}

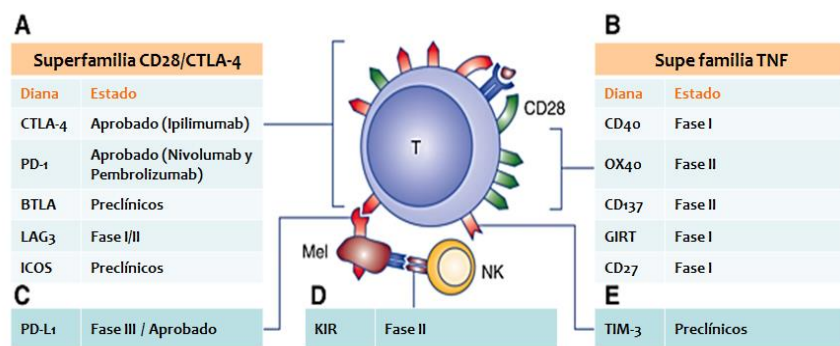


Figura 5. Posibles dianas para el desarrollo de mAAb moduladores de la inmunidad. A) Miembros de la superfamilia CD28/CTLA-4. B) Miembros de la familia TNF. C) PD-L1. D) Recetor de las NK. E) TIM-3. Basado en²⁶

Otra técnica que permiten optimizar la terapia inmuno-monoclonal, es el análisis fenotípico del infiltrado linfocitario del tumor (TIL) con el fin de averiguar los ligandos con especificidad tumoral que expresa cada paciente⁹.

También se propone actuar sobre otros procesos como la fagocitosis mediada por macrófagos, respuesta regulada también por señales inhibitoras y coestimuladoras (calreticulina). La molécula CD47, expresada sobre células cancerosas, actúa como una señal inhibitora al unirse a la proteína reguladora de la fagocitosis SIRP α presente en los macrófagos, frenando dicho proceso. Existen numerosos ensayos clínicos donde se están testando anticuerpos monoclonales anti-CD47 destinados a ser nuevos ICI⁴¹.

Por otro lado, actualmente se estudian los mecanismos de resistencia y mutaciones que suponen la ineficacia de los anti-PD1 en la terapia del melanoma avanzado⁴². Aunque inicialmente el tratamiento con anti PD-1/PD-L1 es prometedor y supone una regresión de la

enfermedad, años después, los pacientes adquieren mecanismos de resistencia que se traducen en una progresión de la misma. Mediante la secuenciación del exogenoma se han detectado resistencias que responden a mutaciones en JAK1 y JAK2 (Janus Kinase 1 and 2), así como en el gen que codifica para una proteína de presentación antigénica llamada BM2. Estos genes, codifican para proteínas implicadas en la ruta de señalización celular (señalización mediada por el interferón gamma) o en la presentación antigénica en la que participan los PD-1, y de ahí la aparición de resistencias⁴². Debido a este hecho de resistencia adaptativa, se sobreexpresan otro tipo de moléculas en las células T, como TIM3 (proteína transmembrana 3 de las células T), únicamente en pacientes que han adquirido resistencia. Se ha demostrado experimentalmente que los mAb anti-TIM3 administrados conjuntamente con anti-PD1 juegan un papel fundamental en la prevención de resistencias frente a los anti-PD1⁴³.

5. Conclusiones.

La inmunoterapia basada en el uso de ICI es un área terapéutica esencial en el tratamiento del cáncer, siendo estos anticuerpos monoclonales los encargados de modular las vías coinhibitorias que permiten a las células tumorales escapar del sistema inmunitario.

Las vías coinhibitorias se basan en un primer contacto célula-célula, donde CPA o células tumorales interaccionan mediante sus receptores de membrana con los LT. CTLA-4 es una molécula inhibitoria regulada por complejas rutas intracelulares donde intervienen residuos tirosina, NFAT y factores como PPA2 y AP-1 y AP-2 sobre los que aún hay que investigar. También se debe elucidar más claramente la regulación intracelular de PD-1 y PD-L1.

La terapéutica y los ensayos clínicos hasta ahora realizados, indican la superioridad en eficacia y seguridad de los anti PD-1 como Nivolumab y Pembrolizumab frente a Ipilimumab.

En un futuro no muy lejano, se están desarrollando múltiples ICI, basados en nuevas dianas moleculares como anti-PD-L1, LAG3, TIM-3, etc. Sobre las que se esperan menores resistencias y una mayor seguridad y especificidad. Además, la inmunoterapia con ICI estará cada vez más dirigida y personalizada a un único paciente, gracias a técnicas inmunofarmacogenómicas y el análisis de infiltrados de linfocitos.

Aún queda mucho por conocer pero, como podemos ver, se trata de un futuro prometedor en la lucha contra el cáncer.

6. Bibliografía.

1. INSTITUTE NC. Understanding cancer. *Science*. 1983;219(4589):1170, 1172.
2. OMS. Centro de prensa y estadísticas de la OMS. 2016.
3. Informe Anual de la AECC. Investigación, la única forma de avanzar contra el cáncer. 2015.
4. PENNOCK GK, CHOW LQM. The Evolving Role of Immune Checkpoint Inhibitors in Cancer Treatment. *Oncologist*. 2015;8:12-822.
5. BOON BT, BRUGGEN P Van Der. Human Tumor Antigens Recognized by T Lymphocytes. 1996;183(March).
6. Lyerly, Paul F Robbins. Tumor Antigens. 2007:17-31.
7. FERNANDEZ-PONCE C et al. CTLA-4. A Molecule that inhibits activation of T lymphocytes. *Rev Científica Salud Uninorte*. 2011;22(2).
8. HERNANDEZ DS. La molécula CD28 y su función en la activación de células T. *Rev Cuba Hematol, Inmunol y Hemoter*. 2013.
9. WANG HY, LEE DA, PENG G. Tumor-Specific Human CD4 Regulatory T Cells and Their Ligands : Implications for Immunotherapy. 2004;20:107-118.
10. DRIESSENS G, KLINE J, GAJEWESY T. Costimulatory and coinhibitory receptors in anti-tumor immunity. *Immunol Rev*. 2009;229(1):126-144.
11. ITO A, KONDO S, TADA K, KITANO S. Clinical Development of Immune Checkpoint Inhibitors. *Biomed Res Int*. 2015.
12. SCOTT AM, WOLCHOK JD, OLD LJ. Antibody therapy of cancer. *Nat Rev Cancer*. 2012;12(April):278-287.
13. SCOTT AM, ALLISON JP, WOLCHOK JD. Monoclonal antibodies in cancer therapy. *Cancer Immun*. 2012;12(14):1-8.
14. WEINER LM, DHODAPKAR M V., FERRONE S. Monoclonal Antibodies for Cancer Immunotherapy. *Lancet*. 2009;373:1033-1040.
15. PARDOLL DM. The blockade of immune checkpoints in cancer immunotherapy. 2012;12(April).
16. AEMPS. Informe de Posicionamiento Terapéutico de Ipilimumab. *AGENCIA ESPAÑOLA Medicam Y Prod Sanit*. 2015;1(4):1-7.
17. AEMPS. Informe de Posicionamiento Terapéutico de nivolumab (Opdivo ®) en el tratamiento de cáncer de pulmón no microcítico de histología escamosa. *AGENCIA ESPAÑOLA Medicam Y Prod Sanit*. 2016:6-11.
18. Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios. Informe de Posicionamiento Terapéutico de pembrolizumab (Keytruda®) en melanoma. 2016:1-6.
19. FDA. Highlights of prescribing information. Metastatic non-small cell lung cancer TECENTRIQ (atezolizumab). *Food Drug Adm*. 2016.
20. CHOUDHURY N, NAKAMURA Y. Importance of immunopharmacogenomics in cancer treatment : Patient selection and monitoring for immune checkpoint antibodies. *Cancer Sci JCA*. 2016.
21. WEBSTER M. The immune checkpoint inhibitors : where are we now ? *Nat Rev Drug Discov*. 2014;(October).
22. RUDD CE, TAYLOR A, SCHNEIDER H. CD28 and CTLA-4 coreceptor expression and signal transduction. *Immunol Rev*. 2009;229(1):12-26.
23. RUDD C. The reverse stop-signal model for CTLA4 function. *Nat Rev*

- Immunol.* 2008;8(2):153-160.
24. STEGEN SJC Van Der, HAMIEH M, SADELAIN M. The pharmacology of second- generation chimeric antigen receptors. *Nat Publ Gr.* 2015;14(7):499-509.
 25. NIRSCHL CJ, DRAKE CG. Molecular Pathways: Co-Expression of Immune Checkpoint Molecules: Signaling Pathways and Implications for Cancer Immunotherapy. *Clin Cancer Res.* 4917–4924.
 26. NAIDOO J, PAGE DB, WOLCHOK JD. Immune modulation for cancer therapy. *Br J Cancer.* 2014;111(12):2214-2219.
 27. ESMO. Immune Checkpoint Inhibitors Provide Antitumour Activity Across Malignant Diseases. 2015;6:1-6.
 28. EMA. Anexo I: Ficha técnica o resumen de las características del producto. Ipilimumab (Yervoy). *Agencia Eur Medicam.* 2014:1-33.
 29. EMA. Anexo I: Ficha técnica o resumen de las características del producto. Pembrolizumab (Keytruda). *Agencia Eur Medicam.* 2014:1-33.
 30. EMA. Anexo I: Ficha técnica o resumen de las características del producto. Nivolumab (Opdivo). *Agencia Eur Medicam.* 2014:1-33.
 31. FDA. Highlights of prescribing information. Urothelial carcinoma. Atezolizumab. *Food Drug Adm.* 2016:1-17.
 32. EPAR. Informe de Posicionamiento Terapéutico de nivolumab (Opdivo ®) en melanoma. 4:4-11.
 33. EMA. Committee for Medicinal Products for Human Use. Opdivo, Assessment report - nivolumab. EMA/CHMP/215704/2016. 2016;44(April):1-104.
 34. EMA. Committee for Medicinal Products for Human Use. Assessment Report For Yervoy (ipilimumab). Procedure No .: EMEA/H/C/002213. 2011;44(Mayo):1-71.
 35. CHEN TW, RAZAK AR. A systematic review of immune-related adverse event reporting in clinical trials of immune checkpoint. 2015;(April):1824-1829.
 36. POSTOW MA. Managing Immune Checkpoint-Blocking Antibody Side Effects. 2015.
 37. DRAKE CG, LIPSON EJ, BRAHMER JR. Breathing new life into immunotherapy: review of melanoma, lung and kidney cancer Charles. *Nat Rev Clin Onco.* 2014;11(1):24-37.
 38. SUZUKI S, ISHIDA T, YOSHIKAWA K, UEDA R. Current status of immunotherapy. 2016;46(January):191-203.
 39. HGUGM. IPILIMUMAB Melanoma metastático. (*Informe para la Com Farm y Ter del Hosp Gen Univ Gregor Marañón.* 2015:1-27.
 40. CHUSTECKA Z. Nivolumab in Lung Cancer Shows ' Unprecedented ' Survival. 2015:29-31.
 41. VONDERHEIDE H. CD47 blockade as another immune checkpoint therapy for cancer. *Nat Med.* 21.
 42. ZARETSKY, M. GARCÍA-DÍAZ A et al. Mutations Associated with Acquired Resistance to PD-1 Blockade in Melanoma. *new Engl J Med.* 375.
 43. KOYAMA S et al. Adaptive resistance to therapeutic PD-1 blockade is associated with upregulation of alternative immune checkpoints. *Nat Rev Clin Oncol.*