

**UNIVERSIDAD DE CHILE**  
**FACULTAD DE MEDICINA**  
**Escuela de Tecnología Médica**



## **REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA**

**“Inmunología Tumoral e Inmunoterapias en melanoma:  
Una actualización”**

**Para optar al título profesional de Tecnólogo Médico con mención  
Bioanálisis Clínico Molecular, Hematología y Medicina Transfusional**

**Daniel Abner Sepúlveda Díaz**

**Tutora: Mercedes Natalia López**

**Programa de inmunología, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.**

Una firma manuscrita en tinta negra, que parece ser la del autor, Daniel Abner Sepúlveda Díaz. La firma es fluida y se extiende sobre una línea horizontal que sirve como base para el texto "Firma".

**Firma**

**Fecha: 24 de agosto de 2022**

**UNIVERSIDAD DE CHILE**  
**FACULTAD DE MEDICINA**  
**Escuela de Tecnología Médica**



## **REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA**

**“Inmunología Tumoral e Inmunoterapias en melanoma:  
Una actualización”**

**Para optar al título profesional de Tecnólogo Médico con mención  
Bioanálisis Clínico Molecular, Hematología y Medicina Transfusional**

**Daniel Abner Sepúlveda Díaz**

**Tutora: Mercedes Natalia López**

**Programa de inmunología, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.**

Una firma manuscrita en tinta negra, que parece ser la del autor, Daniel Abner Sepúlveda Díaz. La firma es fluida y se extiende horizontalmente.

---

**Firma**

**Fecha: 24 de agosto de 2022**

## ACTA CURSO TRABAJO DE INVESTIGACIÓN

El **Sr. Daniel Abner Sepúlveda Díaz**, estudiante de Tecnología Médica con Mención en Bioanálisis Clínico Molecular, Hematología y Medicina Transfusional, cumpliendo con los requisitos establecidos en el plan de estudio, realizó durante el noveno semestre de la carrera, la Revisión Bibliográfica titulada: **“Inmunología Tumoral e Inmunoterapias en melanoma: Una actualización”**, dirigida por la **Profa. Mercedes López**, académica del Programa de Inmunología, Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina de la Universidad de Chile.

La Escuela de Tecnología Médica designó para su corrección a la **Profa. Carolina Hager Ribeiro**, académica del Programa de Inmunología, Instituto de Ciencias Biomédicas Facultad de Medicina de la Universidad de Chile.

La calificación obtenida se detalla a continuación:

<b>Correctora Carolina Hager Ribeiro</b>	<b>7.0</b>	<b>50%</b>
--	------------	------------

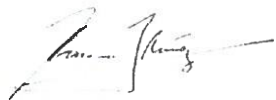
**Tutor(es) Guía:**

<b>Evaluación intermedia</b>	<b>5.70</b>	<b>25%</b>
------------------------------	-------------	------------

<b>Nota final tutor</b>	<b>6.33</b>	<b>25%</b>
-------------------------	-------------	------------

<b>Nota final tesis profesional</b>	<b>6.51</b>	
-------------------------------------	-------------	--

En consecuencia el estudiante **Daniel Abner Sepúlveda Díaz** aprueba satisfactoriamente la asignatura.



**Profa. Rosana Muñoz Videla**  
Coordinador(a) curso  
Trabajo de Investigación



**Prof. Hernán Torres.**  
PEC curso  
Trabajo de Investigación

## Dedicatoria

*A mi madre, que soporta mi desorden a diario, que me ama como ninguna persona más puede. A mi padre, que sin su apoyo y constante ayuda no habría logrado terminar mi carrera. A mis hermanos, por aguantar los traspasos diarios leyendo, escribiendo y estudiando con música fuerte.*

*A mis amigos Deyanira y Matías, que me acompañaron estos 6 años de universidad. A mis amigos de toda la vida, que siempre preguntaban cómo estaba, que me apoyaron y dieron los ánimos tan necesarios para seguir enfocado, por darme los momentos de distensión necesarios para no morir en el intento.*

*A mi tutora Mercedes López, por ayudarme a llevar a cabo mi tesis. A Fabián, por enseñarme desinteresadamente todo lo que aprendí en el laboratorio. A Camilo por ayudarme, enseñarme, y ser un amigo en el transcurso de mi tesis.*

*Por último, y no por ello menos relevante, a mi perrita Maya, quien se quedó noche a noche durmiendo a mi lado en pleno invierno, otorgándome su cariño más sincero.*

*Gracias a todos por su apoyo y desinteresado cariño en el transcurso de mis estudios, me dieron los ánimos necesarios para finalizar esta linda carrera.*

# Índice

1. Tabla de abreviaturas .....	6
2. Resumen .....	7
3. Epidemiología del cáncer y melanoma .....	8
4. Melanoma.....	10
4.1 Clasificación clínica de melanoma .....	10
4.2 Etapificación clínica de melanoma.....	11
4.3 Factores de riesgo para melanoma .....	12
5. Respuesta Inmune Antitumoral.....	15
6. Inmunoterapias.....	23
6.1 Primeros avances en inmunoterapia.....	23
6.2 Citoquinas .....	23
6.3 Terapia Celular Adoptiva (ACT).....	26
6.4 Terapia de anticuerpos .....	27
6.5 Bloqueadores de punto de control .....	29
6.6 Vacunas antitumorales .....	36
7. Metodología.....	43
8. Discusión y conclusión.....	44
9. Bibliografía.....	48

## 1. Tabla de abreviaturas

Abreviatura	Significado
<i>ENT</i>	Enfermedades no transmisibles
<i>ASR</i>	Tasa estandarizada por edad
<i>AJCC</i>	Comité Conjunto Estadounidense sobre el Cáncer
<i>PKO</i>	<i>Knockout</i> a Perforina
<i>APC</i>	Célula Presentadora de Antígeno
<i>DAMP</i>	Patrones moleculares asociados a daño
<i>DC</i>	Célula dendrítica
<i>PRR</i>	Receptor de reconocimiento de patrones
<i>CTL</i>	Linfocito T Citotóxico
<i>MHC</i>	Complejo mayor de histocompatibilidad
<i>TCR</i>	Receptor de linfocitos T
<i>IL-2</i>	Interleucina 2
<i>NK</i>	<i>Natural Killer</i>
<i>Treg</i>	T reguladores
<i>MDSC</i>	Células supresoras derivadas de mieloides
<i>GM-CSF</i>	Factor estimulante de colonias de granulocitos y macrófagos
<i>ACT</i>	Terapia celular adoptiva
<i>TIL</i>	Linfocitos infiltrantes de tumores
<i>ADCC</i>	Citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos
<i>ADCP</i>	Fagocitosis celular dependiente de anticuerpos
<i>CDC</i>	Citotoxicidad dependiente de complemento
<i>FDA</i>	Administración de alimentos y medicamentos
<i>CTLA-4</i>	Antígeno 4 del linfocito T citotóxico
<i>PD1, PD-L1 y PD-L2</i>	Vía de muerte programada 1, ligando 1 y 2 de muerte programada
<i>ITIM</i>	Motivo inhibidor basado en tirosina de inmunoreceptor
<i>ITSM</i>	Motivo de cambio basado en tirosina de inmunoreceptor

## 2. Resumen

El melanoma es un cáncer de piel que afecta a los melanocitos y es el de mayor mortalidad entre todos los cánceres cutáneos. La incidencia de melanoma es variable y se relaciona principalmente con los índices de radiación UV y los fototipos cutáneos poblacionales.

La inmunoterapia como tratamiento para el cáncer, desde la toxina de Coley hasta los anticuerpos monoclonales inhibidores de punto de control, ha significado grandes avances en la supervivencia de los pacientes con cáncer. En melanoma, se han estudiado diferentes inmunoterapias como citoquinas, terapia celular adoptiva y el uso de anticuerpos monoclonales. Esta última inmunoterapia es la que ha obtenido mayor eficacia contra el melanoma. Sin embargo, la toxicidad asociada sigue siendo relevante y un porcentaje importante de los pacientes presenta refractariedad primaria o secundaria por lo que es necesario buscar nuevas estrategias terapéuticas que puedan ser usadas en conjunto con las terapias actuales. En los últimos años se ha estudiado el uso de lisados tumorales y/o compuestos derivados de tumor, para la activación de una respuesta antitumoral eficaz. Actualmente, este tipo de inmunoterapias están siendo evaluadas en pacientes con melanoma en un ensayo clínico de fase I que se desarrolla en el Hospital del Salvador, Santiago de Chile.

La presente revisión bibliográfica tiene por objetivo realizar una exhaustiva investigación sobre las principales inmunoterapias para cáncer y melanoma, desde los inicios hasta las nuevas terapias en estudio. Conjuntamente, se describe la inmunología del cáncer. De esta manera, la revisión proporciona una bibliografía detallada sobre inmunología del cáncer e inmunoterapias para melanoma, haciendo énfasis en la relevancia de generar nuevas terapias, y continuar trabajando desde los diferentes enfoques investigativos.

### 3. Epidemiología del cáncer y melanoma

La mayor parte de la población mundial tiene una esperanza de vida igual o superior a los 60 años de vida. Este aumento en la esperanza de vida conlleva un cambio del perfil epidemiológico, pasando del predominio de muertes por enfermedades infecciosas a principio del siglo XX, a una mezcla de patologías transmisibles y no transmisibles, con un predominio cada vez mayor de estas últimas (1). El cambio en la estructura poblacional sumado a las conductas y hábitos de vida han influido en el aumento de la morbimortalidad por enfermedades no transmisibles (ENT), tanto agudas como crónicas. En comparación con los avances y esfuerzos en la lucha contra las enfermedades transmisibles que se observaron durante el siglo XX, numerosos estudios indican que no hay un evidente progreso en la prevención (en todos sus niveles) y control de muertes prematuras por ENT. En 2016, las ENT representaron el 71% de las defunciones mundiales, y el 85% de 15 millones de defunciones prematuras (entre los 30 y los 70 años) se produjeron en países de ingresos bajos o medianos (2).

Dentro de las ENT, el cáncer es una de las principales causas de muerte. Para el año 2018 se diagnosticaron 18,1 millones de personas con cáncer y 9,6 millones murieron a causa de la enfermedad (3).

En Chile, el año 2019, el cáncer se transformó en la primera causa de muerte luego de las afecciones al sistema circulatorio y cardiovascular, a pesar de que el Plan Nacional del Cáncer (PNC) estimaba que esto ocurriría el año 2023 (4). Concordante con esto, Chile ha mostrado un aumento rápido y constante de la tasa de mortalidad por esta causa, de 115 muertes por cáncer por cada 100.000 habitantes el año 1997, a 143 muertes por cáncer cada 100.000 habitantes al 2015 (5).

Al comparar los datos de Chile con otros países de América del sur, nuestro país ocupa el tercer lugar de las muertes causadas por cáncer, después de Argentina (tasa de mortalidad



de 155 por 100.000 habitantes) y Uruguay (tasa de mortalidad de 246,9 por 100.000 habitantes) (6).

El melanoma representa del 4 al 5% de todos los cánceres de piel, sin embargo, entre ellos es el que más mortalidad posee (7). A nivel mundial, Para el año 2020 el melanoma tuvo 324.635 de casos nuevos con 57.043 muertes, una tasa de incidencia estandarizada por edad (ASR: Age Standardized Rate) de 3,4 por 100.000 habitantes y una tasa de mortalidad estandarizada por edad de 0.56 por 100.000 habitantes (8). Las tasas de incidencia y mortalidad estandarizadas por edad para el melanoma varían enormemente según la región y la población analizada. A manera de ejemplo, Australia y Nueva Zelanda tienen un porcentaje importante de la población con fototipos cutáneos muy claros y soportan índices de radiación UV elevados, y poseen las ASR de incidencia y mortalidad más altas del mundo, de 35,8 y 2,7 por 100.000 habitantes, respectivamente (8). En cambio, regiones asiáticas, caribeñas y africanas poseen ASR de incidencia y mortalidad menores a las mundiales, por ejemplo, Asia del sur posee ASR de incidencia y mortalidad de 0.45 y 0,20 por 100.000 habitantes (8).

En Chile hay escasas cifras que puedan revelar la realidad nacional del melanoma ya que no existe un sistema de registro nacional de cáncer. Existen dos registros poblacionales integrados a la International Agency for Research on Cancer (IARC, Institución parte de la OMS que investiga y coordina información sobre cáncer), los registros de la región de los Ríos y de la región de Antofagasta. Dichos registros muestran que para el año 2008 hubo una tasa de incidencia de 2,6 casos por 100.000 habitantes con una tasa de mortalidad estandarizada promedio de 0,77 muertes por 100.000 habitantes (9).

Alonso y colaboradores estudiaron la epidemiología del melanoma cutáneo en Chile entre los años 1983 a 2008, basado en una revisión de la literatura y del análisis de las bases datos oficiales de mortalidad del Ministerio de Salud de Chile. En este trabajo publicado el 2011, estimaron una tasa de incidencia estandarizada estimada para el año 2008 de 2,2 y una tasa

de mortalidad estandarizada de 0,65 por 100.000 habitantes. Además, al realizar el análisis de la mortalidad por melanoma estandarizadas por edad y sexo según regiones entre 1990 a 2008, se observan tasas más altas en la región de Magallanes y la Antártica Chilena y la región del Biobío (1,01 y 0,95 muertes por 100.000 habitantes respectivamente). Mientras que la región de Aysén y la antigua región de Tarapacá (actualmente, región de Arica y Parinacota y región de Tarapacá) registraron las menores tasas de mortalidad (0,38 y 0,46 muertes por 100.000 habitantes) (9).

Adicionalmente, Szot Meza y cols., muestran que la Región Metropolitana posee la mayor mortalidad, seguido de la zona sur que concentra entre el 25 y el 29% del total de muertes por melanoma en Chile. Si bien, por localización geográfica la zona sur no es la que posee mayor radiación UV del país, tiene la mayor parte de la población de inmigrantes europeos y descendientes que poseen fototipos claros, lo que explicaría la mortalidad por melanoma en dicha zona (10).

## 4. Melanoma

El melanoma es un tipo de cáncer de piel que afecta a los melanocitos, células pigmentarias de la piel. Se produce por el crecimiento y la multiplicación descontrolada de estas células que invaden la piel y tejidos adyacentes y metastatizan hacia órganos a distancia (11).

### 4.1 Clasificación clínica de melanoma

Clínicamente, se puede clasificar los tumores primarios de melanoma en:

- Melanoma de extensión superficial (SSM): Es el tipo más común de melanoma (70% de los casos). Pueden surgir de novo o en asociación con un nevo melanocítico, cambiando su forma, color y tamaño (12). Experimenta un crecimiento inicial horizontal y tiende a elevarse cuando entra en fase de crecimiento vertical. El criterio clínico más importante es la asimetría y el cambio de color de la piel (13).

- Melanoma nodular (NM): Representa entre 15 a 30% de los melanomas. Posee una fase de crecimiento horizontal relativamente corta antes de entrar en crecimiento vertical y formar un tumor nodular, puede desarrollarse en nevus o de novo. La mayoría de los NM representan nódulos relativamente homogéneos, de color negro, negro azulado o marrón, de superficie lisa. Es frecuente la ulceración y sangrado (13).
- Melanoma lentigo maligno (LMM): Es un tumor común en personas mayores caucásicas con piel expuesta al sol de manera crónica. Por lo general se encuentra en la cara. El LMM tiene múltiples colores, incluida áreas blancas ocasionales de regresión, así como varios tonos oscuros, sus bordes suelen ser irregulares (13).
- Melanoma Lentiginoso acral (ALM): Se desarrollan principalmente en los dedos, con frecuencia en el primer orjejo del pie o el pulgar. Suele surgir de la matriz ungueal, y menos frecuente del lecho o el pliegue ungueal. También puede aparecer en las palmas y las plantas. Una mácula irregularmente pigmentada se presenta por un largo tiempo, para eventualmente formar un componente nodular. Cuando se localiza en el pliegue ungueal se produce una decoloración de la uña (13).

## 4.2 Etapificación clínica de melanoma

La etapificación del cáncer es el proceso que determina dónde se encuentra y hasta donde se ha propagado el cáncer, permite estimar un pronóstico preciso y determinar el tratamiento y el seguimiento del paciente (14). En 2017, se publicó la octava edición del sistema de etapificación del melanoma del American Joint Committee on Cancer (AJCC). El sistema de la AJCC determina el estadio del melanoma a través de varios factores, como el Índice de Breslow (medida de la profundidad hasta la que crece el melanoma), la presencia o ausencia de ulceración del tumor primario, la presencia o número de ganglios linfáticos regionales afectados, la presencia o ausencia de metástasis *in tránsito*, metástasis satélite y/o

microsatélite, y la presencia de metástasis en órganos a distancia (14, 15). La etapificación clínica se divide en 4 etapas:

Etapa I: La enfermedad se encuentra localizada y el tumor no ha atravesado la membrana basal de la piel. Etapa II: La enfermedad permanece localizada o aparentemente localizada, pero células neoplásicas ya atravesaron la membrana basal de la piel. Etapa III: La enfermedad es regional y se define por la presencia de metástasis en ganglios linfáticos regionales y/o metástasis en tránsito, metástasis satélite y metástasis microsatélite. Etapa IV: La enfermedad metastásica a distancia, esta etapa incluye metástasis a distancia en pulmón, sistema nervioso central y otros órganos (14, 15).

### 4.3 Factores de riesgo para melanoma

Existen múltiples factores de riesgo que contribuyen a la aparición y progresión del melanoma. Se pueden clasificar en factores de riesgo modificables y factores de riesgo no modificables.

Entre los factores de riesgo modificables está la exposición a radiación ultravioleta. Este es el factor de riesgo exógeno más conocido e investigado que contribuye al desarrollo de melanoma (16). La radiación UV ha sido clasificada como carcinógena y es reconocida por su capacidad para dañar el ADN de manera directa e indirecta, ya sea a través de la exposición a la luz solar como a la utilización de camas solares (las que por este motivo su uso ha sido prohibido) (16). El principal factor de riesgo para sufrir melanoma es el antecedente de quemaduras solares en la niñez (17).

Los dos principales tipos de radiación UV responsables de causar daños cancerígenos son el UVA (315-400 nm) y la UVB (280-315 nm), siendo la UVA la más abundante en la radiación solar (95%) pudiendo alcanzar la dermis de la piel. Por el contrario, la radiación UVB representa una pequeña fracción de la radiación solar que llega a la piel, pero su efecto es

muy dañino (18, 19). El daño directo al ADN es generado principalmente por la radiación UVB, por la formación de fotoproductos generados entre las bases de pirimidina. Si bien el organismo posee mecanismos de reparación, llamado reparación por escisión de nucleótidos (NER), cuando no es posible reparar, el daño del ADN por radiación UVB conduce a la acumulación de mutaciones, lo que predispone a la carcinogénesis y el envejecimiento prematuro de la piel (18-20). A su vez, el UVA puede generar daño directo en el ADN, pero además puede dificultar la eliminación de los fotoproductos UV del ADN a través de la generación de especies reactivas de oxígeno (estrés oxidativo) que daña tanto al ADN como a las proteínas de reparación de ADN, que en última instancia promueve los eventos mutagénicos que dan paso a la carcinogénesis de la piel (19-21).

Dentro de los factores de riesgo no modificables está la raza, el fenotipo cutáneo, la edad, el sexo, el historial familiar, el número de nevos melanocíticos y la susceptibilidad genética. Los nevos melanocíticos son acumulaciones benignas de melanocitos o células nevos, de origen congénito o adquirido (12). El número de nevos comunes es un factor de riesgo importante para melanoma, con un riesgo relativo sustancialmente mayor asociado a la presencia de 100 o más nevos en comparación con menos de 15 (22). Asimismo, cerca de un 30% de los melanomas se encuentran histopatológicamente asociados a un nevo melanocítico previo (23).

El melanoma, a diferencia de otros tumores, es más frecuente en personas de mediana edad, con una mediana de edad en el diagnóstico de 57 años (24). Según Markovic y cols, los hombres serían 1,5 veces más propensos a desarrollar melanoma versus las mujeres (25). Interesantemente, la prevalencia de melanoma varía según la edad. La tasa de incidencia de melanoma es mayor en mujeres hasta llegar a los 40 años, mientras que en edades más avanzadas la incidencia de melanoma es casi 3 veces mayor en hombres que mujeres (12). En cuanto a las características fenotípicas, el metaanálisis realizado por Gandini y cols. demostró que las personas de tez clara y cabello rubio o rojo con muchas pecas, y las

personas de piel y cabello más oscuro con recuento alto de nevos melanocíticos, son dos grupos de alto riesgo a melanoma. Además, las personas de tez oscura son menos fotosensibles que los grupos mencionados anteriormente, por lo que poseen un menor riesgo (26).

En relación con los antecedentes familiares y los factores genéticos, los individuos con historial familiar de melanoma poseen un mayor riesgo para la enfermedad (27). Alrededor del 10% de los melanomas ocurren en grupos familiares, que se asocia principalmente con la alteración de genes reguladores del ciclo celular. El gen supresor de tumores inhibidor de la cinasa dependiente de ciclina 2A (CDKN2A) se encuentra mutado en gran parte de los casos de melanoma familiar, este gen codifica las proteínas p16INK4A que regula la transición de la fase G1 a S en el ciclo celular. Y la proteína p14ARF que inhibe la desintegración del supresor de tumores p53, incluido en el contexto de daño celular inducido por UV (28).

El otro 90% de los melanomas son esporádicos. La transformación maligna del melanoma sigue un modelo secuencial que resulta en la activación constitutiva de transducciones de señales oncogénicas (28). El genoma del melanoma posee la mayor carga de mutaciones de todos los tipos de cáncer, el estudio realizado por The Cancer Genome Atlas Network (TCGA) en 333 melanomas primarios y/o metastásicos reveló una tasa de mutación media de 16,8 mutaciones por megabase. La mayoría de los melanomas mostraron una alta fracción de transiciones C>T en las dipirimidinas, atribuibles a la radiación UV, y mutaciones CC>TT (29). Los principales genes significativamente mutados están dominados por mutaciones en las vías de la proteína quinasa activada por mitógeno (MAPK) (29). Las vías MAPK son vías de señalización clave en la regulación de una gran cantidad de procesos celulares como la proliferación, diferenciación y la apoptosis (30).

Dentro de las alteraciones genómicas en melanoma, el subtipo genético más grande se define por la presencia de mutaciones en BRAF, con un 52% (n=166) de mutaciones somáticas BRAF en el total de melanomas en estudio. De ellos, la gran mayoría se dirigen al residuo de

aminoácido V600 (29). El V600E BRAF es una mutación de ganancia de función con una actividad quinasa 10 veces mayor que el BRAF wild type y está presente en un 70 a 90% de los melanomas mutantes de BRAF (31). La mutación activadora BRAF v600 es una característica típica de la formación de nevo benigno, sin embargo, la progresión hacia melanoma requiere de otras mutaciones adicionales (32). El segundo subtipo genómico principal se da por la presencia de mutaciones de RAS, con cambios de aminoácidos con consecuencias funcionales, en los tres miembros de la familia RAS (NRAS, KRAS, y HRAS) (29). El tercer gen significativamente mutado con mayor frecuencia fue NF1, perteneciente a la vía MAPK, con un 14% de las muestras (29). Por último, el cuarto subtipo fue Triple-WT (n=46), definido como un subgrupo heterogéneo que se caracteriza por la falta de mutaciones de punto crítico BRAF, N/H/K-RAS o NF1 (29).

En un contexto clínico, estos genes significativamente mutados se utilizan como apoyo diagnóstico cuando las tinciones inmunohistoquímicas no son concluyentes. Además, el estudio de mutaciones está indicado en melanomas en etapa III y IV, ya que la presencia de la mutación BRAF aporta información valiosa y sugiere que el paciente es candidato para terapia sistémica dirigida (33).

## 5. Respuesta Inmune Antitumoral

A mediados del siglo XX, Frank Macfarlane Burnet y Lewis Thomas postulan el concepto de vigilancia inmune, donde el sistema inmunitario es capaz de inspeccionar, reconocer y eliminar células tumorales (34, 35). Esta hipótesis fue abandonada transitoriamente, ya que no se encontraron diferencias en el desarrollo de tumores entre ratones atímicos y ratones singénicos (36, 37). Posteriormente, se descubrió que los ratones atímicos tienen linfocitos T funcionales remanentes (38), por lo que los modelos utilizados no eran adecuados para estudiar la validez de esta teoría.

En la década de 1990, la disponibilidad de nuevos modelos de ratones inmunosuprimidos sumado a varios otros hallazgos, pudieron reafirmar la hipótesis de la inmunovigilancia.

En 1994, Dighe y cols demostraron que el interferón- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) protege al huésped contra el crecimiento de tumores trasplantados y la formación de tumores primarios inducidos por carcinogénicos (39). Además, se describió el papel de la perforina, proteína presente en los gránulos citotóxicos presentes en los linfocitos T citotóxicos y las células Natural Killer. En estos estudios, se utilizaron ratones deficientes de perforina (PKO) para estudiar la participación de la perforina en la vigilancia de tumores *in vivo*, a los cuales se les indujo la formación de tumores con metilcolantreno (MCA). En este modelo se observó que los ratones PKO eran más propensos a la formación de tumores en comparación a los ratones wild type, demostrando que la citotoxicidad directa mediada por CTL y NK era fundamental en las funciones efectoras antitumorales (40, 41).

La inmunovigilancia tumoral se desarrolla en cuatro etapas principales, inicia con la detección de señales de peligro endógenas y la internalización de antígenos tumor específicos o asociados a tumor por parte de las células presentadoras de antígeno (APC, del inglés *Antigen Presenting Cells*). Los patrones moleculares asociados a daño (DAMP, del inglés *Danger Associated Molecular Patterns*) son moléculas que son secretadas, liberadas o expuestas a la superficie por células moribundas, estresadas o dañadas. Los DAMPs pueden funcionar como adyuvantes o señales de peligro para el sistema inmune. En el contexto tumoral, los DAMPs como la calreticulina expuesta en la superficie, el ATP secretado y la proteína del grupo de alta movilidad B1 (HMGB1) liberada pasivamente, son vitales para la muerte celular inmunogénica de las células tumorales (42). De esta manera, el estrés celular, la liberación de DAMPs y la introducción de noxas al tumor (como el uso de radioterapias o quimioterapias), permitirán mantener el contexto inflamatorio, promoviendo la adecuada activación de las células dendríticas (43).



Los antígenos asociados a tumores (TAA, del inglés Tumor-Associated Antigen) son proteínas propias que muestran diferentes perfiles de expresión entre las células normales y las células tumorales. La desregulación de las vías genéticas dada por mutaciones en las células tumorales da como resultado la expresión atípica de proteínas, que en un contexto normal se expresan en niveles más bajos, o no se expresan (44, 45). Los TAA se pueden clasificar en varias categorías según su patrón de expresión en tejidos normales:

- Antígenos de línea germinal: son antígenos que normalmente se expresan en células de la línea germinal y células trofoblásticas, y que pueden expresarse en una fracción sustancial de una amplia gama de tumores, incluido melanoma (e.g., MAGE-A1, MAGE-A3, y NY-ESO-1) (46). La expresión de antígenos de línea germinal en células cancerosas puede contribuir con rasgos característicos al fenotipo neoplásico como lo es el crecimiento descontrolado, resistencia a la muerte celular, potencial de migración y crecimiento en sitios distantes (invasión y metástasis) y la capacidad de inducir el crecimiento de nuevos vasos sanguíneos (angiogénesis) (47). En 1991, Van der Bruggen y colabs. identifican el primer antígeno tumoral, un gen que dirigía la expresión del antígeno MZ2-E, actualmente denominado MAGE-A1, en una línea celular de melanoma humano. Los investigadores observaron que el gen se expresaba en células de melanoma y por algunas células tumorales de otros tipos histológicos, sin expresión en el panel de tejidos normales (48). En la actualidad, se conocen los genes de línea germinal tumoral que comprenden MAGE (25 genes funcionales ubicados en tres grupos MAGE-A, MAGE-B y MAGE-C en el cromosoma X) y los genes BAGE, GAGE, LAGE/NY-ESO-1 y SSX, que son una fuente importante de antígenos en melanoma y otros cánceres (49, 50).
- Antígenos de diferenciación: Se derivan de proteínas que se expresan tanto en células tumorales como en células sanas. La mayoría de las investigaciones sobre el potencial inmunogénico de los antígenos de diferenciación provienen del estudio del melanoma.

Los antígenos de diferenciación de melanoma se expresan en todas las etapas de la progresión del tumor a partir del melanocito, y la mayoría está involucrado en el proceso de producción del pigmento de melanina, como lo son gp100, tirosinasa y MART-1/melan-A (44, 45).

Por otro lado, los antígenos específicos de tumor (TSA del inglés, *Tumor-Specific Antigens*) se generan producto de mutaciones y son específicos para el paciente que porta ese tumor.

En esta categoría encontramos los neoantígenos y los antígenos virales (51).

- Neoantígenos: son proteínas que surgen a partir de mutaciones no sinónimas en el genoma de la célula tumoral (45). Su expresión es específica de células tumorales de cada individuo y no se encuentran en células normales, por lo que son altamente inmunogénicos pudiendo activar al sistema inmune, que los reconoce como extraños y genera una robusta respuesta inmune (52). Además de poseer una inmunogenicidad más fuerte que los TAA, no se ven afectados por la tolerancia inmunológica central (53). El desarrollo de la tecnología de secuenciación de alto rendimiento ha llevado a la generación de datos de secuenciación y la identificación de miles de genes asociados a tumores.
- Antígenos virales: Están presentes únicamente en las células tumorales infectadas y se derivan de virus oncogénicos (45, 49). Los oncovirus expresan sus proteínas usando la maquinaria de transcripción y transducción de las células tumorales, por lo que sus péptidos antigénicos pueden procesarse y presentarse en MHC clase I, induciendo una respuesta inmune mediada por células T CD8+ (49). Ejemplos de oncovirus son los subtipos del Virus del papiloma Humano (VPH), especialmente el VPH 16 y el VPH 18, una de las principales causas del cáncer de cuello uterino y contribuyen a otros tipos de cáncer. Asimismo, la infección crónica por Virus de la hepatitis B (VHB) es uno de los principales contribuyentes del carcinoma

hepatocelular. También se ha demostrado el papel oncogénico del virus de Epstein-Barr (VEB) en varios cánceres (45, 54).

Las células dendríticas (DC, del inglés *Dendritic cell*) son células presentadoras de antígenos que se encuentran en los tejidos, sangre y órganos linfoides. Dentro de las DC existen múltiples subpoblaciones, cada una con propiedades fenotípicas y funcionales distintas y juntas forman una red celular compleja capaz de integrar múltiples señales ambientales y determinar la inmunidad o la tolerancia (55). En el contexto de la inmunovigilancia, las DC continuamente internalizan y procesan antígenos tumorales y detectan DAMPs a través de receptores de reconocimiento de patrones (PRR, del inglés *Pattern Recognition Receptor*). Al detectar las señales apropiadas, las DC maduran y expresan receptores de quimiocinas y moléculas coestimuladoras, necesarias para inducir una inmunidad antitumoral efectiva (56, 57). Las DC presentan antígenos tumorales a través fundamentalmente de presentación cruzada en moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad (MHC, del inglés *Major Histocompatibility Complex*) de clase a linfocitos TCD8+, generando la primera señal de activación (56). Además, las DC poseen la capacidad de generar la diferenciación de linfocitos T CD4+ a linfocitos T helper 1 (Linfocitos Th1) tras la secreción de la citocina interleucina 12 (IL-2). Los linfocitos Th1 son capaces de secretar IFN- $\gamma$ , citocina que promueve la respuesta inmune celular mediada por CTL y aumenta la expresión de MHC clase I y II. A su vez, los linfocitos Th1 estimulan la actividad de las células fagocíticas, como los macrófagos proinflamatorios tipo M1, y la citotoxicidad mediada por células NK (del inglés *Natural Killer*) (58).

Las DC proveerán de señales coestimuladoras necesarias para la activación de las células TCD8+, como los ligandos CD70 y CD80/CD86 de las DC unidos a sus respectivos receptores CD27 y CD28 expresados en células T CD8+. Otras vías coestimuladoras involucradas en el

activación de células T mediadas por DC son los ejes de señalización CD40–CD40L, CD137–CD137L, OX40–OX40L, GITR–GITRL y CD70–CD27 (56).

La migración efectiva de los linfocitos activados al tejido tumoral, y su extravasación para interactuar con las células transformadas, constituye la tercera etapa de la vigilancia inmunológica tumoral. Esta etapa es limitante en tanto los vasos de neoformación que nutren a los tumores son resistentes en general a la extravasación de células inmunes hacia el tejido tumoral (43).

Por último, en la cuarta etapa se ejecutan los mecanismos efectores de la inmunidad que deben conducir a la eliminación de las células transformadas. Los CTL destruyen a las células tumorales que expresan el antígeno asociado a la clase I del MHC que ellos reconocen. El principal mecanismo de muerte de la célula tumoral mediada por CTL es la exocitosis de proteínas citotóxicas (almacenadas en gránulos citoplasmáticos), desencadenando la apoptosis de la célula transformada. Las principales proteínas contenidas en los gránulos del CTL son las granzimas A y B y la perforina. La perforina facilita la liberación de las granzimas en el citosol mediante la formación de poros en la membrana de la célula diana. Una vez ingresadas las granzimas en el citosol, escinden varios sustratos, como caspasas, e inician la muerte apoptótica de la célula (59).

La otra vía utilizada por los CTL para eliminar las células diana, independiente de gránulos, es mediada por las interacciones de moléculas de membrana en el CTL y en la célula tumoral. Los CTL ya activados expresan ligando de FAS (FasL) que se une al receptor mortal Fas presente en la célula diana. Esta interacción da a lugar a la activación de las caspasas y a la apoptosis del objetivo que expresa Fas (59).

No solo la inmunidad adaptativa contribuye a la vigilancia inmunitaria. Las células NK son células efectoras del sistema inmune innato, perteneciente a la familia de células linfoides innatas (ILC, del inglés *Innate Lymphoid Cell*). Son células asesinas profesionales que reconocen y destruyen rápidamente las células peligrosas, como las células estresadas,

extrañas, infectadas o transformadas (60). Las células NK, a diferencia de las células B y T, no expresan receptores de antígenos, sino combinaciones de receptores activadores e inhibidores. El balance neto de señales estimulantes versus supresoras a través de los diversos receptores resulta en una respuesta inmune o la tolerancia a la célula diana. La activación de las células NK es suprimida por la unión de receptores inhibitorios a moléculas MHC de clase I (61).

Las células NK liberan proteínas citotóxicas como la perforina y granzima, que provocan la apoptosis en las células dianas (62). Además, poseen otros mecanismos para inducir la apoptosis de la célula diana, como la activación vía ligando FAS o el ligando inductor de apoptosis relacionado con TNF (TRAIL) expresados por las células NK. Asimismo, las células NK poseen la capacidad de regular otras células, como las células dendríticas, a través de la secreción de citoquinas y factores de crecimiento (IFN- $\gamma$  y TNF) (63).

Las células NK pueden reclutarse al sitio de tumorigénesis por quimiocinas proinflamatorias producidas en el microambiente tumoral (TME). Muchas células neoplásicas disminuyen la expresión de moléculas MHC I para evadir la detección por CTL, y para evadir a las células NK expresan moléculas de histocompatibilidad no clásicas (61).

Si el sistema inmune es capaz de reconocer y destruir células transformadas o neoplásicas, ¿por qué entonces los cánceres ocurren en personas inmunocompetentes? Dunn y cols. propusieron un concepto más amplio y refinado de la inmunovigilancia que daba respuesta a la formación de tumores en pacientes inmunocompetentes; la inmunoedición del cáncer, donde se describe más apropiadamente las acciones duales del sistema inmune que protegen al huésped y esculpen el tumor, que no sólo previene sino también dan forma a la enfermedad neoplásica (64). Este proceso se describe en tres fases:

- Eliminación: Corresponde a la inmunovigilancia, donde se elimina de manera exitosa el tumor en desarrollo, representa el proceso de edición completo sin progresión a las fases posteriores (64).

- Equilibrio: Representa el proceso por el cual el sistema inmunitario del huésped y la célula neoplásica que haya sobrevivido al primer proceso de eliminación entran en un estado de equilibrio dinámico. Existiría un proceso de selección donde muchas de las variantes de la célula tumoral se destruyen, pero surgen nuevas variantes que portan diferentes mutaciones que le otorgan una mayor resistencia al ataque inmunitario (64).
- Escape: Es el proceso en el cual las variantes tumorales sobrevivientes que adquirieron resistencia a la detección y/o eliminación inmunológica a través de cambios genéticos o epigenéticos se expanden descontroladamente, resultando en progresión de la enfermedad clínicamente observable, que provoca la muerte del paciente (64).

A pesar de la gran maquinaria inmunológica empleada en la eliminación de las células transformadas, la inmunovigilancia tumoral se ve alterada debido a que las células tumorales provienen de la transformación neoplásica de células propias, para las cuales existen diversos mecanismos de tolerancia y evasión inmune. La evasión inmune de los tumores está mediada por células como; células T reguladoras (Treg), principales responsables de la supresión inmunitaria en el microambiente tumoral; células mieloides, especialmente las "células supresoras derivadas de mieloides" (MDSC); DC supresoras y macrófagos M2 y M1 que, activados alternativamente, infiltran el tumor y producen factores que promueven su crecimiento. Por otra parte, el medio ambiente tumoral va a generar las condiciones para la progresión tumoral, la generación de nuevos vasos sanguíneos (angiogénesis) alrededor del tumor y la invasión tisular al favorecer la extravasación celular y la transformación mesénquimo-epitelial, lo que facilita el desarrollo de metástasis(65, 66).

## 6. Inmunoterapias

La capacidad del sistema inmunitario de reconocer y eliminar las células tumorales generó que en las últimas décadas la comunidad científica se enfocara en la inmunoterapia como un nuevo pilar de tratamiento contra el cáncer.

### 6.1 Primeros avances en inmunoterapia

Los primeros orígenes de la inmunoterapia se remontan al siglo XIX, cuando Wilhelm Busch y Friedrich Fehleisen, independientemente, describieron una asociación entre el estado inmune y el cáncer al notar una regresión en los tumores de pacientes con cáncer luego de infecciones por erisipela (infección superficial de la piel causada comúnmente por *Streptococcus pyogenes*) (67). William Coley, reconocido como el padre de la inmunoterapia contra el cáncer, al observar estos antecedentes, trabajó en pacientes con cáncer inoculándolos con estreptococos causantes de erisipela, una versión primitiva de la llamada toxina de Coley. Si bien este método funcionaba y se lograba la reducción e incluso la regresión completa del tumor, los pacientes podían morir por la infección. Luego de varias preparaciones diferentes, llega a la creación de la *toxina de Coley*, una mezcla de *Streptococcus pyogenes* y *Bacillus prodigiosus* (actualmente *Serratia marcescens*) muertos por calor, que obtuvo altas tasas de éxito en el tratamiento de pacientes con sarcoma y cimentó las bases de la inmunoterapia (68). La toxina de Coley, es dejada de lado cuando la radioterapia comienza a ser utilizada como tratamiento del cáncer.

### 6.2 Citoquinas

Más tarde, es identificada la interleucina 2 en los sobrenadantes de cultivo de leucocitos activados por antígenos o mitógenos. Estos sobrenadantes contenían un factor de crecimiento capaz de estimular el crecimiento selectivo de linfocitos (69). Tras el aislamiento

definitivo y producción en grandes cantidades de la IL-2, comenzó su utilización en ensayos clínicos.

La IL-2 es una citocina secretada principalmente por linfocitos que estimula su proliferación (70). Los estudios iniciales concluían que la IL-2 cumplía un rol meramente inmunoestimulador en el desarrollo de los linfocitos T efectores. Sin embargo, estudios en ratones que carecían de IL-2/IL-2R mostraron signos de autoinmunidad y la proliferación descontrolada de células T activadas (71). Dichas observaciones revelaron el rol fundamental de la IL-2 en mecanismos inmunoregulatorios. En 1985, Lotze y cols. administraron interleucina 2 recombinante derivada de *Escherichia coli* a 20 pacientes con una variedad de tumores malignos, y demostraron la expansión de células linfoides en sangre periférica, pero sin observar respuestas antitumorales (72). Una vía alternativa fue la combinación de la inmunoterapia adoptiva con células NK activadas por linfocinas (LAK) más IL-2, lograron mostrar la regresión de metástasis pulmonares y hepáticas en modelos murinos (73). Se realizaron ensayos clínicos en 25 pacientes con cáncer metastásico, donde se observó una regresión objetiva del cáncer (superior al 50% del volumen tumoral) en 11 de los 25 pacientes (74). Estos resultados fueron la primera demostración de que la administración de IL-2 era capaz de mediar la regresión tumoral en humanos.

El mismo grupo de investigadores, realizó los primeros ensayos clínicos en pacientes con melanoma. En 10 pacientes con diferentes tumores, se les administró varios ciclos de altas dosis de IL-2 recombinante. Tres de seis pacientes con melanoma experimentaron una regresión objetiva del tumor, con una disminución superior al 50% del volumen (75). Con este hallazgo, se comenzaron a realizar ensayos clínicos para el tratamiento de IL-2 en pacientes con melanoma metastásico.

El análisis de los estudios multicéntricos de 270 pacientes con melanoma metastásico tratados con dosis altas de IL-2 recombinante demostró una tasa de respuesta objetiva general del 16%, de 17 pacientes con respuesta completa y 26 pacientes con respuestas



parciales. La mediana de duración de la respuesta para pacientes con respuesta completa no se alcanzó, y en pacientes con respuesta parcial fue de 5,9 meses (76). Con base en la eficacia y durabilidad de las respuestas de estos ensayos, en 1998 la Administración de Drogas y Alimentos aprobó la IL-2 como tratamiento de pacientes con melanoma metastásico (77). Sin embargo, el uso de IL-2 está limitado por la alta toxicidad sistémica y la expansión de las células T reguladoras (78, 79).

A raíz de la inmunoterapia con IL-2, surgieron estudios de otras citoquinas para la inmunoterapia contra el cáncer, como el interferón alfa (IFN- $\alpha$ ), y el factor estimulante de colonias de granulocitos y macrófagos (GM-CSF).

El interferón alfa (IFN- $\alpha$ ), descrito por primera vez en 1947, en el contexto de su actividad antiviral (80). Años más tarde, Gresser y cols. describen la actividad antitumoral de IFN-alfa en ratones con tumores espontáneos, ratones inyectados con oncovirus o células tumorales trasplantadas, demostrando que la citocina podría inhibir el crecimiento de tumores primarios así como el desarrollo de metástasis (81, 82). Los interferones de tipo I se producen principalmente en las células dendríticas plasmocitoides, son inductores de apoptosis de las células tumorales y poseen un efecto anti-angiogénesis en el tumor. El interferón de tipo I también puede activar directamente células del sistema inmune, como las células dendríticas y las células T CD4 y CD8. Además, puede aumentar la presentación de antígenos de las células tumorales para ser reconocidas por los linfocitos T (83).

En 2011, la FDA aprobó el uso de peginterferón alfa-2b (PEG-IFN, una variante modificada del IFN- $\alpha$  que aumenta su vida media en circulación) para el tratamiento adyuvante de pacientes con melanoma con compromiso linfonodal post resección quirúrgica definitiva. Su aprobación se basó en el ensayo multicéntrico abierto con 1256 pacientes. Los pacientes, una vez realizada la resección, fueron aleatorizados a PEG-IFN por 5 años. El intervalo de supervivencia libre de recaídas fue significativamente más largo en pacientes tratados con PEG-IFN. Sin embargo, los pacientes presentaban reacciones adversas graves como fatiga,

aumento de las enzimas transaminasas y pirexia. El 33% de los pacientes debieron interrumpir el tratamiento por las reacciones adversas (84).

El uso de citocinas como terapia contra el cáncer marcó las bases de la inmunoterapia, ya que fueron las primeras demostraciones tácitas de que la inmunoterapia puede inclinar la balanza entre la respuesta antitumoral y el cáncer a través de respuestas objetivas duraderas. Aun así, su baja efectividad y alta toxicidad provocó que esta inmunoterapia quede relegada a otras inmunoterapias más eficientes y menos tóxicas.

### 6.3 Terapia Celular Adoptiva (ACT)

En 1988, el grupo liderado por Steven A. Rosenberg describió por primera vez la terapia celular adoptiva (ACT), un tratamiento que utiliza los linfocitos T autólogos con actividad antitumoral, expandidos *in vitro* y reinfundidos al paciente, frecuentemente acompañado de factores de crecimiento apropiados para estimular su supervivencia y expansión *in vivo* (85).

Los primeros ensayos clínicos se realizaron en pacientes con melanoma metastásico, que fueron tratados con transferencia adoptiva de TIL e IL-2, después de recibir una dosis única de ciclofosfamida. Se observó una regresión objetiva del cáncer en 9 de 15 pacientes sin tratamiento previo de IL-2 y en 2 de 5 pacientes que experimentaron un fracaso frente al tratamiento con IL-2 previo. La regresión tumoral ocurrió en diferentes sitios anatómicos y duró de 2 a más de 13 meses (86). Estos resultados abrieron una nueva línea de investigación en la inmunoterapia contra el cáncer.

El análisis retrospectivo de 86 pacientes con melanoma metastásico tratados con TIL autólogos más IL-2 mostró una tasa de respuesta objetiva general del 34% y fue similar en pacientes tratados con TIL e IL-2 solos (31%) o junto con ciclofosfamida (35%). Los efectos secundarios del tratamiento fueron transitorios en la mayoría de los pacientes (87). A pesar de lo prometedor de los resultados, la persistencia de las células transferidas *in vivo* fue breve,

en estudios adicionales se observó que, a la primera semana, solo el 0,01% de las células en circulación eran células transferidas (85). Este problema se explicaba principalmente por el rol de las células T reguladoras al inhibir la función de las células T CD4+ autorreactivas y las células T CD8+ efectoras (88). Además, los linfocitos endógenos normales competían con las células transferidas por las citoquinas homeostáticas, como la IL-7 y la IL-15 (89). Por lo que la linfodepleción previa al ACT sería un componente clave para el tratamiento ya que elimina las células T reguladoras y los linfocitos que compiten por citocinas. Es así como años más tarde y con el auge del conocimiento de los antígenos tumorales, Dudley y cols. elaboraron una ACT para pacientes con melanoma metastásico a partir de células T reactivas tumorales altamente seleccionadas dirigidas contra antígenos de diferenciación sobreexpresados (MART-1), tratados con quimioterapia inmunodepletora previa (ciclofosfamida y fludarabina). Este nuevo enfoque de la ACT resultó en el rápido crecimiento *in vivo* de poblaciones clonales de células T específicas para el antígeno MART-1, lo que condujo a la regresión del melanoma metastásico (90).

El principal problema con la aplicación de ACT, que el mismo Rosenberg expone, es que consiste en un tratamiento altamente personalizado, con importantes reacciones adversas, laborioso y que requiere experiencia de laboratorio, lo que dificulta su comercialización (85).

## 6.4 Terapia de anticuerpos

La inmunoterapia basada en anticuerpos representa una de las estrategias más eficaces entre las inmunoterapias contra el cáncer, se basa en la afinidad de la región Fv por un objetivo antigénico específico, así como la capacidad de la región Fc para involucrar componentes del sistema inmune del huésped (91). Los mecanismos de acción de los anticuerpos monoclonales pueden ser por el bloqueo de una señal favorable a la supervivencia del tumor, y la facilitación de la destrucción de células tumorales posterior al

reconocimiento de un blanco en la superficie de las células tumorales, en las que se incluye la citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos (ADCC), la fagocitosis celular dependiente de anticuerpos (ADCP) y la citotoxicidad dependiente del complemento (CDC) (91, 92).

Rituximab fue el primer anticuerpo aprobado por la FDA y la Agencia Europea de Medicamentos para el tratamiento de una neoplasia. Consiste en un anticuerpo monoclonal quimérico anti-CD20 humano/murino con una eficiencia establecida y un perfil de seguridad favorable y definido en pacientes con diversas neoplasias linfoides que expresan CD20, como el 90% de los linfomas no hodgkin (93). La eliminación de células CD20+ por rituximab es mediada principalmente por ADCC, en menor proporción por CDC, y también hay un efecto directo de activación de vías de señalización y las membranas celulares luego de la unión a CD20 (94).

Otro anticuerpo relevante que media su accionar través de ADCC es trastuzumab, aprobado por la FDA en 1998, consiste en un anticuerpo monoclonal utilizado como tratamiento estándar en cáncer gástrico metastásico y cáncer de mama, cuando las células tumorales sobreexpresan el receptor HER2 (95). Además de la eliminación de células HER2 positivas mediante ADCC, la unión trastuzumab con el dominio extracelular del receptor de transmembrana HER2 induce la internalización y degradación del receptor HER2 a través de ubiquitina ligasa c-CBL. Por último, la unión extracelular del anticuerpo y el epítipo conduce a la inhibición de la señalización posterior a través de las vías RAS/MAPK y PI3K/AKT, lo que finalmente suprimiría la señalización de crecimiento y proliferación celular (96).

Los primeros ensayos clínicos mostraron respuestas objetivas en el 21% de un total de 213 pacientes, con 7% de pacientes con respuestas menores y 30% con enfermedad estable. Además, al usar trastuzumab en combinación con quimioterapia aumentaba las tasas de respuestas a 49%, con una mediana de tiempo mayor hasta la progresión de la enfermedad, una tasa de supervivencia al año más alta y un aumento significativo de supervivencia global (97).

Estudios más recientes demuestran que usar trastuzumab junto a la quimioterapia en pacientes con cáncer de mama HER2 positivo en estadio temprano reduce la recurrencia y mortalidad en un tercio de los pacientes (95, 98).

El cáncer de mama HER2/neu+ se caracterizaba por una evolución agresiva y de peor pronóstico sin tratamiento. El manejo en base a quimioterapia y los agentes anti-HER2 ha cambiado su evolución, mejorando la sobrevida libre de enfermedad, así como la supervivencia general (99).

## 6.5 Bloqueadores de punto de control

En 1987, se identificó el antígeno 4 de linfocitos T citotóxicos (CTLA-4), una proteína de 223 aminoácidos perteneciente a la superfamilia de inmunoglobulinas, cuya expresión se daba principalmente en linfocitos activados (100). Más tarde, se observó que CD28 y CTLA-4 eran similares en estructura, secuencia, y ubicación de genes (101). Sin embargo, los niveles de expresión en linfocitos eran distintos, mientras que la expresión de CD28 basal en las células T era alta, CTLA-4 se expresa a niveles basales bajo y aumentaba su expresión fuertemente luego de la activación del linfocito. La similitud de secuencia entre CD28 y CTLA-4 era mayor en el dominio extracelular, por lo que se unían a los mismos ligandos, CD80 y CD86, no obstante CTLA-4 se une con mayor avidéz y afinidad (102, 103). Las moléculas CD28 y CTLA-4 transducen señales opuestas a los linfocitos, mientras que CD28 emite señales coestimuladoras, CTLA-4 genera señales inhibitoras al interactuar con el receptor de antígeno de la célula T, inhibiendo la proliferación y la secreción de IL-2 (104). Los experimentos en ratones knockout para CTLA-4 desarrollaban trastornos linfoproliferativos autoinmunes, por lo que la regulación negativa de células T activadas es vital para la homeostasis de los linfocitos.

Hoy en día, CTLA-4 es bien reconocido como un punto de control inmunitario clave y ha cobrado relevancia significativa como diana terapéutica en el campo de la autoinmunidad y el

cáncer. CTLA-4 se expresa constitutivamente en la superficie celular de linfocitos T reguladores, a diferencia de las células T CD4+ y CD8+ que expresan CTLA-4 en su superficie después de la activación. Los mecanismos por los que CTLA-4 regula negativamente la activación de linfocitos se basan en funciones de tipo intrínseco en la célula, es decir, afectan a las células T que expresan CTLA-4, o extrínseco a la célula, afectando células secundarias (105).

La señalización intrínseca de CTLA-4 regula su localización celular y tiene la capacidad de aumentar la motilidad de las células T y anula la señal de para inducida por TCR requerida para la formación de conjugados estables entre las células T y APC, lo que reduce el tiempo que dura la interacción entre células (105, 106).

La función inhibitoria de células T se da de manera extrínseca, principalmente porque CTLA-4 compite antagónicamente con CD28 por los ligandos coestimuladores de la APC (105). Además, CTLA-4 es capaz de eliminar los ligandos CD86 y CD80 de la superficie celular de las APC privándoles de su capacidad activadora. La captura y degradación de los ligandos ocurre en las células que expresan CTLA-4, a través de un proceso llamado trans-endocitosis (107). Por último, CTLA-4 afecta la señalización intrínseca de la APC al interactuar con sus ligandos CD80 y CD86 (105).

En un comienzo, el descubrimiento de CTLA-4 como regulador negativo de la activación de los linfocitos T se estudió en autoinmunidad. No fue hasta 1996, cuando Allison y cols. demostraron que la administración *in vivo* de anticuerpos anti-CTLA-4 en ratones resulta en disminución de tumores de carcinoma de colon y fibrosarcoma trasplantados y establecidos. Además, esta respuesta resultó en protección a una exposición secundaria a células tumorales. Estos resultados sugerían que el bloquear los efectos inhibidores de CTLA-4 permitiría potenciar respuestas inmunes eficaces contra tumores, lo que generó el interés en la terapia dirigida a CTLA-4 en el contexto del cáncer (108).

El bloqueo de CTLA-4 se estudió en numerosos modelos preclínicos de tumores sólidos y hematológicos, como tumores malignos de vejiga, sangre, cerebro, mama, colon, fibrosarcoma, pulmón, ovario, próstata, piel, linfomas y plasmocitomas. La eficacia variaba según la línea celular y tumor utilizado, siendo más eficaz en tumores más inmunogénicos (109).

Los anticuerpos monoclonales dirigidos a CTLA-4 demostraron ser efectivos en los ensayos clínicos de melanoma. Ipilimumab es un anticuerpo monoclonal IgG1 de origen humano, se fija a CTLA-4 y bloquea la interacción con los ligandos CD80/CD86. Los primeros ensayos clínicos se realizaron en 14 pacientes con melanoma metastásico mediante la administración de ipilimumab junto a péptidos gp100. El bloqueo de CTLA-4 indujo reacciones adversas autoinmunes de grado III/IV en seis pacientes, como dermatitis, enterocolitis, hepatitis e hipofisitis, y medió la regresión objetiva del cáncer en tres pacientes (2 respuestas completas y una parcial) (110).

En 2010, se realizó el primer ensayo clínico de fase 3 para determinar la seguridad y eficacia de ipilimumab en combinación o no de la administración de gp100 como vacuna, en un total de 676 pacientes con melanoma irreseccable en estadio III o IV, aleatorizados para recibir tratamiento de ipilimumab+gp100, ipilimumab solo o gp100 solo. Se obtuvo una mediana de supervivencia general de 10 meses entre pacientes tratados con ipilimumab+gp100 y 10,1 meses con ipilimumab solo, en comparación con 6,4 meses entre pacientes que solo recibieron gp100. Se produjeron eventos adversos relacionados al sistema inmune de grado 3 o 4 entre el 10 al 15% de los pacientes tratados con ipilimumab (111). Además, 474 y 259 pacientes tuvieron al menos 2 o 3 años de seguimiento potencial. Entre estos, 94 (20%) y 42 (16%) sobrevivieron  $\geq 2$  y  $\geq 3$  años, respectivamente. Las tasas de supervivencia a los 2 y 3 años fueron del 25 % (24 de 95) y del 25 % (13 de 53) con ipilimumab solo y del 19 % (54 de 284) y del 15 % (24 de 156) con ipilimumab más gp100 (112). Ipilimumab fue la primera terapia

que demostró un beneficio de supervivencia para pacientes con melanoma metastásico, por lo que fue aprobado por la FDA para su uso en pacientes con melanoma metastásico en 2011. El análisis combinado de los datos más actuales de supervivencia a largo plazo de los ensayos de fase II y III de ipilimumab en melanoma no resecable o metastásico agrupó a 1861 pacientes, con una mediana de supervivencia general de 11,4 meses, con una tasa de supervivencia a 3 años del 26% si no recibió tratamiento previo, y del 20% si había recibido tratamiento previo (113).

Otro punto de control inmunitario que ha sido ampliamente caracterizado es la vía de muerte programada 1 (PD-1) y sus ligandos, PD-L1 (B7-H1) y PD-L2 (B7-H2).

En 1992, se aisló por primera vez el gen PD-1, un nuevo miembro de la superfamilia de las inmunoglobulinas que se expresa en células apoptóticas (114). Al utilizar anticuerpos monoclonales contra el producto del gen PD-1 *in vivo*, se identificó una población significativa de PD-1 en timocitos y en células T del bazo y los ganglios linfáticos (115).

El estudio en ratones deficientes en PD-1 mostraban una esplenomegalia leve y proliferación de linfocitos B en comparación a los ratones wild type (116). Además, la mitad de los ratones *Pdcd1*<sup>-/-</sup> desarrollaron artritis similar al lupus y glomerulonefritis (117). Estos resultados sugerían que PD-1 participa en el mantenimiento de la autotolerancia periférica, sirviendo como un regulador negativo de las respuestas inmunitarias.

No fue hasta el descubrimiento de sus ligandos que se pudo esclarecer el rol de la vía PD-1. El ligando 1 de PD-1 (PD-L1), miembro de la familia de genes B7, conduce a la inhibición de la proliferación de linfocitos mediada por receptores de células T y la secreción de citoquinas (118). Además, se descubrió que las interacciones PD-L/PD-1 conducen a la detención del ciclo celular en G0/G1 pero no aumentan la muerte celular. La expresión de PD-L1 se puede detectar en células hematopoyéticas como células T y B, macrófagos, DC y mastocitos (119). A su vez, se identificó un segundo ligando para PD-1, el ligando 2 de PD-1 (PD-L2). La interacción de PD1 y PD-L2 inhibe drásticamente la proliferación mediada por TCR y la



producción de citoquinas por parte de las células T CD4+, y se expresaba en macrófagos, DC y mastocitos (119).

PD-1 es una glicoproteína transmembrana de tipo I compuesta por un dominio extracelular de tipo IgV que comparte identidad de secuencia del 21 al 33% con CTLA-4, CD28 e ICOS. PD-1, tiene un dominio transmembrana, y un dominio citoplasmático con dos motivos de señalización de tirosina: un motivo inhibidor basado en tirosina de inmunoreceptor (ITIM), y el otro un motivo de cambio basado en tirosina de inmunoreceptor (ITSM) (120). La interacción entre dominios extracelulares de PD-L1 y PD-1 pueden inducir un cambio conformacional en PD-1 que conduce a la fosforilación de ITIM e ITSM por quinasas de la familia Src. Los motivos de tirosina fosforilados reclutan proteínas tirosina fosfatasa SHP-2 y SHP-1 para atenuar las señales de activación de las células T (120, 121). El reclutamiento de SHP-2 en las proximidades de TCR atenúa los eventos claves de señalización proximal de TCR, al defosforilar la cadena CD3 $\zeta$  del complejo TCR y la proteína quinasa 70 asociada a la cadena zeta (ZAP70) mediada por Lck, y afecta las vías de señalización aguas abajo de PI3K/AKT/mTOR, RAS/MEK/ERK, VAV y fosfolipasa C $\gamma$  (PLC $\gamma$ ) (122, 123). Además, PD-1 puede inhibir las funciones de las células T al aumentar la expresión de factores de transcripción como el factor transcripcional tipo cremallera de leucina básico ATF (BAFT), que puede reprimir aún más la expresión de genes efectores (124).

Colectivamente, los múltiples efectos de la señalización de PD-1 resulta en la inhibición de la proliferación, activación, supervivencia, producción de citoquinas, metabolismo y funciones efectoras de los CTL y la muerte final de las células T activadas (124).

Nivolumab, un anticuerpo monoclonal humano IgG4 que bloquea la interacción entre PD-1 y sus ligandos, fue aprobado por la FDA en 2014 para el uso de melanoma irreseccable, en base a los resultados del ensayo clínico de fase 3 CheckMAt-037. Este ensayo de tipo aleatorizado, controlado y abierto reclutó pacientes con melanoma irreseccable o metastásico y que progresaron luego de tratamientos con ipilimumab o ipilimumab e inhibidor de BRAF (en

caso de tener mutación BRAF positiva). En total, de 631 pacientes, se asignó 272 a nivolumab y 133 a quimioterapia. Se informaron respuestas objetivas confirmadas en 38 de los primeros 120 pacientes frente a 5 de 47 pacientes del grupo de quimioterapia. Hubo eventos adversos de grado III/IV relacionados a nivolumab incluyendo aumento de lipasa, alanina y las aminotransferasas, anemia y fatiga. No hubo muertes relacionadas al tratamiento. Los efectos tóxicos eran menores en comparación con la quimioterapia estándar (125).

Nivolumab ha sido aprobado para el tratamiento de otros cánceres en condiciones específicas, como el cáncer de pulmón de células no pequeñas y pequeñas (CPCNP y SCLC respectivamente), cáncer de células renales, linfoma de Hodgkin, cáncer de células escamosas de cabeza y cuello, cáncer urotelial y otros (126).

Otro anticuerpo anti-PD-1 aprobado para uso en melanoma metastásico es pembrolizumab, en base al ensayo clínico NCT01295827 donde hubo tasa de respuestas objetiva del 24% en pacientes refractarios a la terapia con anti-CTLA-4 e inhibidor de BRAF. Más tarde, se amplió su aprobación a melanoma avanzado sin tratamiento previo según el ensayo clínico de fase 3 Keynote-006, aleatorizado y controlado con 834 pacientes con melanoma avanzado fueron asignados en proporción 1:1:1 a recibir pembrolizumab (una dosis de 10 mg por kilogramo de peso corporal) cada dos semanas o cada 3 semanas, o cuatro dosis de ipilimumab (dosis a 3 mg por kilogramo peso corporal) cada 3 semanas. Resultó en una tasa de supervivencia general en un periodo de 33 meses de 50% en pacientes tratados con pembrolizumab frente a 39% tratados con ipilimumab. A su vez, la supervivencia libre de progresión a los 33 meses fue de 31% y 14% para pembrolizumab e ipilimumab, respectivamente. prolongadas con menos toxicidad que ipilimumab. Además, las tasas de eventos adversos relacionados con el tratamiento de grado 3 a 5 de gravedad fueron más bajas en los grupos de pembrolizumab (13,3 %: y 10,1 % ) versus el grupo de ipilimumab (19,9%) (126, 127).

Los agentes anti-PD-1 nivolumab y pembrolizumab han mostrado una supervivencia global superior, una supervivencia libre de progresión y una tasa de respuesta objetiva superior, con un mejor perfil de seguridad, que el ipilimumab como monoterapia.

Los ensayos clínicos en el tratamiento combinado entre ipilimumab y nivolumab se estudió en 945 pacientes no tratados previamente con melanoma irresecable en estadio III o IV a nivolumab solo, nivolumab más ipilimumab o ipilimumab solo. La mediana de supervivencia libre de progresión fue de 11,5 meses con nivolumab más ipilimumab, 6,9 meses con nivolumab solo y 2,9 meses con ipilimumab. Se observó una supervivencia libre de progresión significativamente más larga en el grupo nivolumab más ipilimumab versus los otros dos grupos. En cuanto a la toxicidad, La incidencia de eventos adversos de grado 3 o 4 relacionados con el tratamiento fue mayor en el grupo de nivolumab más ipilimumab (55,0 %) que en el grupo de nivolumab (16,3 %) o el grupo de ipilimumab (27,3 %) (128).

En el seguimiento a los 36 meses del estudio, los dos grupos de pacientes que contenían nivolumab continuaron teniendo tasas más altas de respuesta objetiva que los que recibieron ipilimumab solo (58 % nivolumab más ipilimumab; 44 % nivolumab; 19% ipilimumab). La mediana de supervivencia libre de progresión fue de 11,5 meses en el grupo de nivolumab más ipilimumab y de 6,9 meses en el grupo de nivolumab, en comparación con 2,9 meses en el grupo de ipilimumab. La tasa de supervivencia global a los 2 años fue del 64 % en el grupo de nivolumab más ipilimumab y del 59 % en el grupo de nivolumab, en comparación con el 45 % en el grupo de ipilimumab, en tanto la tasa de supervivencia general a los 3 años fue del 58 % en el grupo de nivolumab más ipilimumab y del 52 % en el grupo de nivolumab, en comparación con el 34 % en el grupo de ipilimumab. Se produjeron eventos adversos de grado III o IV relacionados al tratamiento en el 59% de los pacientes del grupo de nivolumab más ipilimumab, en el 21% de los del grupo de nivolumab y en el 28% de los del grupo ipilimumab (129).

Estos resultados demostraron una mayor supervivencia a largo plazo en el tratamiento combinado de nivolumab e ipilimumab y con nivolumab en pacientes con melanoma irreseccable o metastásicos no tratados versus la monoterapia con ipilimumab. Aun así, es necesario considerar el significativo aumento de los eventos adversos en la terapia combinada, por lo que previo a utilizar este tratamiento se debe contar con un equipo médico experimentado y tener un control estricto de los eventos adversos relacionados con el sistema inmune.

En 2015, se aprobó el uso de nivolumab en combinación con ipilimumab en melanomas BRAFV600 irreseccables. Finalmente, en 2017, la FDA amplió la indicación de tratamiento a pacientes con melanoma metastásico o con ganglios linfáticos positivos que fueron sometidos a resección completa (126). Actualmente la combinación de nivolumab e ipilimumab es una de las terapias sistémicas de primera línea en pacientes con melanoma metastásico o recurrente.

La proyección de la incidencia y mortalidad del melanoma, el alto costo, citotoxicidad y la eficacia moderada de los actuales tratamientos, limitan el acceso y expectativa de vida de las personas y levantan el desafío de generar nuevas terapias que permitan tratar a más pacientes, a menores costos, con mayor eficacia y menos efectos adversos. En este sentido, una promisoriosa alternativa es el uso de lisados tumorales, o de compuestos derivados de tumor, capaces de proveer antígenos y/o señales de peligro necesarias para la activación de linfocitos T con especificidad tumoral.

## 6.6 Vacunas antitumorales

El uso de vacunas terapéuticas contra el cáncer tiene como objetivo activar y potenciar la actividad de los linfocitos T CD8+ citotóxicos antitumorales o superar la tolerancia inducida por tumores. Las dos principales estrategias probadas de vacunas antitumorales son la inoculación directa de una fuente de antígenos tumorales (péptidos, proteínas, ADN o ARN)

junto a un adyuvante y/o un vector, que puedan reclutar o dirigirse *in vivo* a las DC del paciente, para que capturen antígenos, los procesen y presenten para activar las células T (130).

Un segundo enfoque en las vacunas terapéuticas contra el cáncer es la administración de DC autólogas generadas a partir de los propios monocitos o células madre del paciente, las cuales son cultivadas *in vitro* y se incuban con una fuente de antígenos tumorales previo a la administración a los pacientes. Esta estrategia permite el control de los pasos de carga y la activación de las DC. Sin embargo, requiere una fabricación personalizada para cada paciente, lo que genera dificultades en la reproducibilidad y factibilidad de la terapia (130).

Debido a la capacidad de las DC de estimular y dirigir las respuestas inmunitarias antitumorales, se abordó el posible efecto terapéutico de utilizar DC en vacunas contra el cáncer. La utilización de progenitores hematopoyéticos CD34+ cultivados en presencia de GM-CSF y TNF- $\alpha$  podía diferenciarlos a DC con morfología y fenotipo típicos (131). A su vez, utilizando GM-CSF e interleucina 4 (IL-4) se pudo establecer líneas de DC a partir de células mononucleares sanguíneas, que mantienen la capacidad de captura y procesamiento de antígenos característico de DC inmaduras *in vivo* (132). Estos hallazgos, sumado a los protocolos de purificación de CD CD11c+ de sangre periférica, permitió generar DC en cantidades suficientes para la investigación y desarrollo de vacunas de DC (133).

El uso clínico de vacunas de DC como inmunoterapia contra el cáncer data de 1996, cuando Hsu y cols. realizaron el primer estudio piloto en cuatro pacientes con linfoma de células B, que recibieron series de 3 o 4 infusiones de DC autólogas pulsadas *ex vivo* con proteína idiotípica específica del tumor. Se desarrollaron respuestas inmunitarias celulares antitumorales en todos los pacientes, un paciente experimentó una regresión completa del tumor, y un segundo paciente una regresión parcial del tumor (134). Estos primeros resultados propiciaron que se realizarán diversos estudios utilizando DC en diferentes cánceres como vacuna.

Una vacuna de DC que ha demostrado resultados prometedores fue Sipuleucel-T, una inmunoterapia celular activa que estimula las respuestas inmunes de las células T, consiste en células mononucleares de sangre periférica autólogas (PBMC) que se activan *in vitro* con una proteína de fusión recombinante que contiene el antígeno prostático, la fosfatasa ácida prostática y GM-CSF para expandir las APC cargadas de antígeno y luego inocular a los pacientes y así activar las propias células T (135).

El ensayo multicéntrico de fase 3, doble ciego y controlado con placebo, asignó al azar 512 pacientes con cáncer de próstata metastásico resistente a la castración en proporción 2:1 para recibir 3 dosis de sipuleucel-T (341 pacientes) o placebo (171 pacientes) cada dos semanas. En el grupo sipuleucel-T hubo una reducción relativa del 22% en el riesgo de muerte comparado al grupo placebo. Dicha reducción representó una mejora de 4,1 meses en la mediana de supervivencia (25,8 meses en sipuleucel-T versus 21,7 meses en placebo). La probabilidad de supervivencia a los 36 meses fue de 31,7% en el grupo sipuleucel-T frente a 23% en el grupo placebo. Además, se observaron respuestas inmunitarias al antígeno inmunizante en los pacientes que recibieron sipuleucel-T (136). Los eventos adversos informados con mayor frecuencia en el grupo sipuleucel-T fueron escalofríos, fiebre y dolor de cabeza (137).

En melanoma, el diseño de vacunas como tratamiento ha sido una alternativa atractiva dada la naturaleza altamente inmunogénica de las células tumorales. La mayoría de los ensayos clínicos de vacunas contra melanoma se encuentran en fase de prueba y aún no se han obtenido resultados prometedores (138).

En Chile, el desarrollo de inmunoterapias ha sido estudiado por varios años, el año 2002 el grupo de investigadores de la Facultad de Medicina de la Universidad de Chile desarrollaron la primera inmunoterapia chilena para melanoma metastásico, la tecnología Tumor-Antigen-Presenting-Cells (TAPCells®). Esta terapia consiste en células presentadoras de antígenos tumorales que son desarrolladas a partir de monocitos del paciente extraídos por leucoféresis.

Los monocitos son purificados y cultivados con IL-4 humana recombinante y factor estimulante de colonias de granulocitos y macrófagos (GM-CSF) humano recombinante, para luego presentarles *in vitro* antígenos asociados a tumor, a partir de un pool antigénico derivado de un lisado de líneas celulares de melanoma metastásico humano denominado TRIMEL®, que es condicionado por choque térmico. Las TAPCells le son inyectadas como vacuna al paciente, desencadenando así una respuesta inmune antitumoral activa específica de los linfocitos T (139).

EL estudio de caracterización fenotípica y funcional *in vitro* de las TAPCells demostró que la adición de TRIMEL a monocitos activados genera un fenotipo similar a DC maduras comprometidas con altos niveles de moléculas coestimuladoras y presentadoras de antígenos, así como la liberación de citoquinas proinflamatorias. Además, la expresión de superficie de CCR7 indica que las células TAPC pueden migrar a los ganglios linfáticos, un requisito esencial para la activación de la inmunidad adaptativa (140).

Funcionalmente, las TAPCells generan células T específicas de antígenos asociados a melanoma que *in vitro* logran inducir la proliferación de células T CD4+ y la activación de células T CD8+ específicas para MART-1, lo que indica que logran realizar la presentación cruzada de antígenos tumorales. Además, se demostró que TRIMEL no solo proporciona un amplio pool antigénico para las DC, sino que también es esencial para la adquisición del fenotipo funcional de TAPCells (140).

El tratamiento de TRIMEL con shock térmico previo a la lisis de las células tumorales provoca la translocación de calreticulina (CRT) a la membrana plasmática y la liberación de HMGB1 al medio extracelular. Se demostró que la translocación de CRT inducida por shock térmico contribuye directamente a la maduración de las TAPCells. A través del bloqueo específico de CRT se observa la inhibición de la expresión superficial de MHC-II y moléculas coestimuladoras, y también redujo la capacidad de los CTL para reconocer antígenos asociados a melanoma en TAPCells asociado con la inducción de un fenotipo de DC

deficiente. A su vez, el bloqueo de HMGB1 inhibió la expresión superficial de MHC-I y la presentación cruzada de antígenos por las TAPCells. La translocación de la calreticulina en la membrana plasmática, la liberación de la caja de grupo 1 de alta movilidad (HMGB1) y ATP, actúan como DAMPs que inducen la maduración óptima de las células dendríticas y presentación cruzada de antígenos tumorales (140).

Sobre la base de estos estudios se realizó el primer ensayo clínico de fase I para evaluar la toxicidad y eficacia inmunológica de la inmunoterapia. Un grupo de 20 pacientes con melanoma en estadio III o IV fueron vacunados con DC autólogas pulsadas con lisado tumoral cada 10 días en cuatro ocasiones diferentes. Del total de pacientes, 7 de ellos también recibieron dosis bajas de IL-2 entre las vacunas para investigar si la combinación de terapia con vacuna de DC y citoquinas mejora la respuesta inmune. También se estudió la reacción de hipersensibilidad de tipo retardado (DTH) *in vivo* contra el lisado de células de melanoma (141).

El análisis inmunológico mostró que tras la vacunación el 50% de los pacientes tratados con TAPCells (7 de 13 pacientes) y la terapia combinada TAPCells e IL-2 (3 de 7 pacientes) mostraron un aumento en la producción de IFN- $\gamma$  en respuesta a las líneas celulares de melanoma, más no en los controles. Cuatro de los cinco pacientes con antígeno leucocitario humano (HLA)-A2(+) analizados con actividad antimelanoma también mostraron respuestas específicas de células T contra péptidos derivados de antígenos asociados al melanoma (141).

Desde una perspectiva clínica, cinco pacientes con melanoma en estadio IV permanecieron estables durante más de 20 meses; nueve pacientes mostraron una progresión de la enfermedad y dos fallecieron antes de la inyección final. Se observaron fuertes reacciones de DTH en más del 50% de los pacientes vacunados (11 de 20) después de la última dosis (lo que indica probablemente generación de respuesta de memoria celular contra antígenos tumorales). Se encontraron correlaciones significativas entre las respuestas positivas de DTH



frente al lisado tumoral y la estabilidad de la enfermedad y la supervivencia posterior a la vacunación en los pacientes en estadio IV. Ocho pacientes en estadio IV con una reacción DTH positiva al lisado tumoral mostraron una mediana de tiempo de progresión significativamente más larga (13-37 meses) que los pacientes no reactivos a DTH (n=8, 2-37 meses). De manera similar, la supervivencia posterior a la vacunación fue significativamente mayor en los pacientes que respondieron a DTH (17,25 meses) que en los que no respondieron (8,625 meses) (141).

En cuanto a reacciones adversas, sólo dos pacientes tratados con TAPCells experimentaron episodios leves de fiebre asociados a la vacunación. Los siete pacientes tratados con TAPCells e IL-2 mostraron fiebre débil y síntomas similares a la gripe. No se detectaron efectos adversos adicionales asociados con el tratamiento durante el estudio. Estos resultados indican que la vacunación con TAPCells es un procedimiento seguro, incluso en combinación con dosis bajas de IL-2 (141). Por último, no se observaron diferencias significativas en las respuestas inmunológicas o clínicas entre los pacientes tratados con IL-2 respecto a los tratados con vacunas DC solas (141).

Este estudio demostró que la vacunación con CD cargadas con antígenos tumorales es un procedimiento seguro y también puede inducir una respuesta clínica e inmunológica en pacientes con cáncer avanzado.

El ensayo clínico de fase I/II realizado entre 2001 a 2007 se diseñó para abordar la eficacia inmunológica, la supervivencia y la estabilidad de la enfermedad de los pacientes vacunados con CD cargadas con TRIMEL. Se trató con la vacuna TAPCells a 7 pacientes en estadio III y 43 en estadio IV, que fueron vacunados en cuatro ocasiones. Se obtuvo una supervivencia global de 15 meses en los pacientes en estadio IV. Más del 60% de los pacientes mostraron una reacción DTH positiva frente a TRIMEL. Estos pacientes en estadio IV/DTH positivos mostraron una mediana de supervivencia de 33 meses en comparación a pacientes DTH negativos cuya mediana de supervivencia fue de 11 meses. Los pacientes en estadio III que

resultaron DTH positivos permanecieron vivos y libres de tumor durante 48 meses de seguimiento. Además, los pacientes DTH positivos mostraron una marcada reducción de células T reguladoras CD4+TGFβ+ comparado con pacientes DTH negativos (142).

Los resultados de los ensayos clínicos de fase I y I/II mostraron una evidente mejora en la supervivencia de los pacientes con melanoma avanzado. Sin embargo, la diversidad biológica entre las células de las pacientes utilizadas para las vacunas DC, sumado a los desafíos tecnológicos relacionados con la medicina personalizada, han obstaculizado la traslación masiva de la terapia TAPCells a la clínica (139). Es por esto por lo que los investigadores se propusieron superar las limitaciones de la terapia TAPCells usando un prototipo de vacuna terapéutica genérica contra melanoma, basado en el lisado inmunogénico de TRIMEL combinado con un adyuvante apropiado, que no requiriera fabricación personalizada individualmente (139).

Es así como se llega a la fabricación de TRIMELVax, una vacuna genérica compuesta por el lisado tumoral TRIMEL condicionado por shock térmico, combinado con hemocianina del molusco chileno *Concholepas concholepas* (CCH) como adyuvante. El estudio preclínico en murinos demostró que TRIMELVax inhibe el crecimiento tumoral y aumenta la supervivencia de ratones portadores de tumores de melanoma B16F10 agresivo (143). TRIMELVax inhibió el crecimiento tumoral y aumentó la supervivencia de los ratones, induciendo respuestas inmunitarias celulares y humorales. Además, esta vacuna generó una mayor frecuencia de DC convencionales tipo 1 (cDC1) intratumorales pero no de células dendríticas de tipo 2 convencionales (cDC2). También se observó una mayor infiltración de células T CD3+, CD4+ y CD8+ (143). La terapia con TRIMELVax fue suficiente para inducir potentes respuestas antitumorales. A la fecha, se está desarrollando el estudio clínico de fase I de TRIMELVax para el tratamiento de 20 pacientes con melanoma avanzado, con el fin de probar la seguridad de TRIMELVax en pacientes con melanoma avanzado y secundariamente, evaluar la respuesta inmune inducida. Esta y otras iniciativas similares deben seguir siendo abordadas

por equipos básico-clínicos que permitan mejorar el tratamiento del melanoma y otros cánceres.

## 7. Metodología

La selección de bibliografía se filtró a 5 años de publicación en las primeras búsquedas, en las que se incluyó ensayos clínicos, metaanálisis, artículo de investigación, ensayo controlado aleatorizado, revisión y revisión sistemática.

Se llevó a cabo una búsqueda rápida en Pubmed sobre los conceptos básicos + de melanoma, cáncer, *cancer immunology* y *cancer immunotherapy*.

Para la epidemiología del cáncer y melanoma, se utilizó la plataforma Global Cancer Observatory (GLOBOCAN) para obtener datos de incidencia y mortalidad del cáncer y melanoma en el mundo, además de utilizar informes realizados por la Organización Mundial de la Salud. Para la epidemiología de cáncer y melanoma en Chile, se realizó la búsqueda en las bases de datos del Departamento de Estadísticas e Información de Salud, sumado a los trabajos realizados por investigadores publicados en Scientific Electronic Library Online (SciELO).

En cuanto al apartado de Melanoma, clasificación, etapificación, y factores de riesgo; se utilizó la plataforma PubMed principalmente.

La literatura sobre inmunología tumoral e inmunoterapias fue extraída de PubMed, y a través del acceso remoto proporcionado por la Universidad de Chile a las revistas Nature y ScienceDirect (Elsevier).

Además, se realizó la búsqueda de resultados publicados de ensayos clínicos en PubMed y sus registros en ClinicalTrials.gov.

## 8. Discusión y conclusión

En la actualidad, el constante aumento en la incidencia y mortalidad del cáncer, representa un problema de salud pública tanto en Chile como en el mundo. En Chile a partir del año 2019, es la primera causa de muerte en la población adulta del país. El manejo y el tratamiento de pacientes con cáncer avanzado representa un importante desafío social, humano y económico para todos los países del mundo. En Chile, este reto es particularmente difícil dada sus características demográficas, sociales, culturales, económicas y la organización de los sistemas de salud e investigación biomédica.

El melanoma es el cáncer de piel más agresivo y mortal dentro de su categoría, posee tasas de incidencia y mortalidad en constante aumento. Si bien en Chile la incidencia no es tan elevada como en otras regiones del mundo, posee una alta mortalidad que preocupa y que debe ser considerada al momento de implementar políticas públicas en salud. Clínicamente, cuando el diagnóstico de melanoma se realiza de manera oportuna y no hay signo de metástasis, la escisión quirúrgica más tratamientos adyuvantes mejoran notoriamente la sobrevida de los pacientes. Sin embargo, en las etapas diseminadas de la enfermedad, los tratamientos convencionales como quimioterapia o radioterapia son muy poco eficaces. Sin embargo, la introducción de las inmunoterapias, cuyo objetivo es modular la respuesta inmune antitumoral, como estrategias terapéuticas ha generado resultados prometedores.

Para generar las inmunoterapias fue necesario entender como el sistema inmune era capaz de actuar frente al cáncer. Como se profundizó en el apartado de respuesta inmune antitumoral, las células del sistema inmune poseen la capacidad de realizar inmunovigilancia tumoral, proceso fisiológico del sistema inmune innato y adaptativo para detectar y eliminar células transformadas y/o neoplásicas. Sin embargo, este proceso se ve alterado a través de la evasión del tumor al ataque inmune en el microambiente tumoral. Es así como el tumor es capaz de utilizar las herramientas del sistema inmune como las células T reguladoras, células

mieloides, DC supresoras, entre otras, que infiltran el tumor y promueven la proliferación y supervivencia del cáncer. Además, el microambiente tumoral genera las condiciones necesarias para la progresión tumoral, la angiogénesis, y la invasión tisular, facilitando el desarrollo de metástasis. Por lo tanto, uno de los principales desafíos de las inmunoterapias futuras es sobrepasar y/o contrarrestar los mecanismos de evasión del cáncer.

El desarrollo de las inmunoterapias contra el cáncer se lleva investigando mucho tiempo, desde la toxina de Coley hasta los bloqueadores de punto de control, se necesitó de la formulación de diferentes inmunoterapias con diversos enfoques, si bien muchas de ellas en la actualidad no son utilizadas por su baja eficacia y alta toxicidad, fueron necesarias para cimentar el camino de las nuevas inmunoterapias. La inmunoterapia centrada en bloquear los puntos de control, como las terapias anti-PD-1 y anti-CTLA-4, han provocado un cambio en los perfiles de morbimortalidad de pacientes con melanoma y cáncer de colon. En ambos casos se ha observado una reducción tumoral y un importante aumento de la supervivencia, otorgando una mejor calidad de vida a quienes han respondido favorablemente a las terapias. Sin embargo, aún existe un porcentaje importante de pacientes que no responden a las terapias, siendo este mayor a un 50%, por lo que los esfuerzos investigativos deben ser orientados en mejorar la respuesta a los tratamientos y su eficacia. Bajo este contexto es necesario estudiar nuevos esquemas terapéuticos, como lo pueden ser acoplar distintas inmunoterapias entre sí o combinarlas con monoterapias tradicionalmente usadas como la radioterapia o quimioterapia. Y si bien existe una posible potenciación de sus efectos clínicos y disminución de las dosis de cada tratamiento aislado, también se debe tener en cuenta la suma de los efectos adversos de cada terapia.

En Chile, el desarrollo de inmunoterapias para melanoma ha sido llevado a cabo por investigadores de la Facultad de Medicina de la Universidad de Chile durante los últimos 10 años, generando una tecnología basada en un inmunoestimulador celular inyectable autólogo denominado TAPCells como tratamiento adyuvante para melanoma maligno y el cáncer de

próstata. La tecnología TAPCells, implica la producción de células presentadoras de antígenos a partir de células de la sangre, su activación por lisados tumorales condicionados y su reinyección periódica en el propio paciente. Desde el año 2001 al 2007 se realizaron en Chile estudios clínicos fase I, cuyos resultados establecieron una correlación positiva entre la respuesta inmunológica inducida contra antígenos tumorales y un aumento de la supervivencia de los pacientes. El hecho de que las TAPCells sean autólogas, implica que cada terapia es personalizada, lo que ha dificultado su transferencia tecnológica internacional. Las TAPCells, a pesar de su clara efectividad clínica, necesitan de una infraestructura y un equipo calificado para cada producto, lo que hace laborioso su escalamiento productivo. Durante años, los investigadores han estudiado el efecto clínico e inmunológico del uso de células presentadoras de antígenos cargadas con lisados condicionados de melanoma en pacientes afectados por estos tipos de cáncer. En un primer proyecto se desarrolló un prototipo de vacuna terapéutica genérica constituida por el lisado TRIMEL (componente clave de la tecnología TAPCells) en combinación con CCH, más antígenos tumorales murinos (lisado condicionado por shock térmico de la línea de melanoma B16F10). Este prototipo activó *in vivo* la respuesta inmune antitumoral e incrementó el porcentaje de linfocitos T CD8+ que infiltran el tumor, redujo significativamente el volumen tumoral, mejoró la supervivencia de los animales tratados y no presentó reacciones adversas. Es así cómo se llega a TRIMELVax, una vacuna genérica que ofrece ventajas asociadas a la mayor simplicidad del proceso de manufactura y facilita la transferencia tecnológica al permitir una producción centralizada y la posibilidad de un uso más universal.

El desarrollo de protocolos clínicos que exploren nuevas inmunoterapias, así como los tratamientos combinados, son una alternativa clínica para pacientes con melanoma avanzado, por lo que poner al alcance de la población chilena protocolos clínicos que utilizan productos pensados y elaborados en Chile y que siguen las guías internacionales, permite entregar alternativas de tratamiento, desarrollar experiencias de investigación clínica desde el inicio de

éstas a equipos de salud chilenos e impulsar áreas de conocimiento biomédico con diversas aplicaciones. Las dificultades para transformar estos avances en productos que puedan ponerse al alcance de la población son parte del aprendizaje que se debe recorrer, de manera de aportar al desarrollo de la investigación clínica del país. De lo contrario, la investigación clínica chilena no podrá desarrollarse y quedará restringida a pruebas clínicas de productos desarrollados enteramente fuera de nuestras fronteras. La consecuencia social de esta opción asegura que los pacientes oncológicos tendrán menos alternativas de tratamiento disponibles y que las disponibles serán económicamente cada vez más costosas para los servicios de salud pública y para las aseguradoras privadas.

## 9. Bibliografía

1. Martínez-Sanguinetti MA, Leiva-Ordoñez AM, Petermann-Rocha F, Celis-Morales C, Martínez-Sanguinetti MA, Leiva-Ordoñez AM, et al. ¿Cómo ha cambiado el perfil epidemiológico en Chile en los últimos 10 años? Rev Med Chil. 2021 Jan;149(1):149–52.
2. Organización Mundial de la Salud. Estadísticas sanitarias mundiales 2020: monitoreando la salud para los ODS, objetivo de desarrollo sostenible. Organización Mundial de la Salud; 2020. 77 p.
3. Parra-Soto S, Petermann-Rocha F, Martínez-Sanguinetti MA, Leiva-Ordoñez AM, Troncoso-Pantoja C, Ulloa N, et al. Cáncer en Chile y en el mundo: una mirada actual y su futuro escenario epidemiológico. Rev Med Chil. 2020 Oct;148(10):1489–95.
4. Ministerio de Salud. Plan Nacional del Cáncer 2018 - 2028. 2018;
5. Departamento de Estadísticas e Información de Salud M de S. Indicadores básicos de salud Chile 2018. 2018.
6. Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer. Tasas brutas de mortalidad estimadas en 2020, todos los cánceres, ambos sexos, todas las edades. 2020 [cited 2022 Jul 25]. Available from: [https://gco.iarc.fr/today/online-analysis-map?v=2020&mode=population&mode\\_population=continents&population=900&populations=900&key=crude\\_rate&sex=0&cancer=39&type=1&statistic=5&prevalence=0&population\\_group=0&ages\\_group%5B%5D=0&ages\\_group%5B%5D=17&nb\\_items=10&group\\_cancer=1&include\\_nmsc=0&include\\_nmsc\\_other=0&projection=natural-earth&color\\_palette=default&map\\_scale=quantile&map\\_nb\\_colors=5&continent=0&show\\_ranking=0&rotate=%255B10%252C0%255D](https://gco.iarc.fr/today/online-analysis-map?v=2020&mode=population&mode_population=continents&population=900&populations=900&key=crude_rate&sex=0&cancer=39&type=1&statistic=5&prevalence=0&population_group=0&ages_group%5B%5D=0&ages_group%5B%5D=17&nb_items=10&group_cancer=1&include_nmsc=0&include_nmsc_other=0&projection=natural-earth&color_palette=default&map_scale=quantile&map_nb_colors=5&continent=0&show_ranking=0&rotate=%255B10%252C0%255D).
7. Masis A, Vega M, Sánchez JP. Epidemiología, patogénesis y diagnóstico clínico del Melanoma Cutáneo. Rev Med Cos Cen. 2013;581–5.



8. Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer. Melanoma of skin Source: Globocan 2020 [Internet]. 2020. Available from: <https://gco.iarc.fr/today>
9. Faustino Alonso T. Epidemiología del melanoma cutáneo en Chile. *Rev Médica Clínica Las Condes*. 2011 Jul 1;22(4):459–65.
10. Szot Meza J. Mortalidad por melanoma en Chile: 1990-2013. *Piel*. 2016 Jun;31(6):388–92.
11. Ministerio de Salud. Informe de Evaluación Científica Basada en la Evidencia Disponible: Cáncer de Piel. Santiago; 2018.
12. Rastrelli M, Tropea S, Rossi CR, Alaibac M. Melanoma: epidemiology, risk factors, pathogenesis, diagnosis and classification. *In Vivo*. 2014 Nov 1;28(6):1005–12.
13. Roesch A, Berking C. Melanoma. In: Braun-Falco's Dermatology. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg; 2020. p. 1–17.
14. Papageorgiou C, Apalla Z, Manoli S-M, Lallas K, Vakirlis E, Lallas A. Melanoma: Staging and Follow-Up. *Dermatol Pract Concept*. 2021 Jul 28;11(Suppl 1):2021162S.
15. Keung EZ, Gershenwald JE. The eighth edition American Joint Committee on Cancer (AJCC) melanoma staging system: implications for melanoma treatment and care. *Expert Rev Anticancer Ther*. 2018 Aug 3;18(8):775.
16. Garibyan L, Fisher DE. How Sunlight Causes Melanoma. *Curr Oncol Reports* 2010 125. 2010 Jul 13;12(5):319–26.
17. Noonan FP, Recio JA, Takayama H, Duray P, Anver MR, Rush WL, et al. Neonatal sunburn and melanoma in mice. *Nat* 2001 4136853. 2001 Sep 20;413(6853):271–2.
18. Sample A, He YY. Mechanisms and prevention of UV-induced melanoma. *Photodermatol Photoimmunol Photomed*. 2018 Jan 1;34(1):13.

19. Khan AQ, Travers JB, Kemp MG. Roles of UVA Radiation and DNA Damage Responses in Melanoma Pathogenesis. *Environ Mol Mutagen*. 2018 Jun 1;59(5):438.
20. Shah P, He YY. Molecular Regulation of UV-Induced DNA Repair. *Photochem Photobiol*. 2015;91(2):254.
21. Brem R, Guven M, Karran P. Oxidatively-generated damage to DNA and proteins mediated by photosensitized UVA. *Free Radic Biol Med*. 2017 Jun 1;107:101.
22. Gandini S, Sera F, Cattaruzza MS, Pasquini P, Abeni D, Boyle P, et al. Meta-analysis of risk factors for cutaneous melanoma: I. Common and atypical naevi. *Eur J Cancer*. 2005 Jan 1;41(1):28–44.
23. Martín-Gorgojo A, Nagore E. Melanoma Arising in a Melanocytic Nevus. *Actas Dermosifiliogr*. 2018 Mar 1;109(2):123–32.
24. Carr S, Smith C, Wernberg J. Epidemiology and Risk Factors of Melanoma. *Surg Clin North Am*. 2020 Feb 1;100(1):1–12.
25. Markovic SN, Erickson LA, Rao RD, McWilliams RR, Kottschade LA, Creagan ET, et al. Malignant Melanoma in the 21st Century, Part 1: Epidemiology, Risk Factors, Screening, Prevention, and Diagnosis. *Mayo Clin Proc*. 2007 Mar;82(3):364–80.
26. Gandini S, Sera F, Cattaruzza MS, Pasquini P, Zanetti R, Masini C, et al. Meta-analysis of risk factors for cutaneous melanoma: III. Family history, actinic damage and phenotypic factors. *Eur J Cancer*. 2005 Sep;41(14):2040–59.
27. Dzwierzynski WW. Melanoma Risk Factors and Prevention. *Clin Plast Surg*. 2021 Oct;48(4):543–50.
28. Lugović-Mihić L, Ćesić D, Vuković P, Bilić GN, Šitum M, Špoljar S. Melanoma Development: Current Knowledge on Melanoma Pathogenesis. *Acta Dermatovenerol Croat*.

2019;27(3):163–8.

29. Akbani R, Akdemir KC, Aksoy BA, Albert M, Ally A, Amin SB, et al. Genomic Classification of Cutaneous Melanoma. *Cell*. 2015 Jun 6;161(7):1681.
30. Guo Y, Pan W, Liu S, Shen Z, Xu Y, Hu L. ERK/MAPK signalling pathway and tumorigenesis. *Exp Ther Med*. 2020 Jan 15;19(3).
31. Davies H, Bignell GR, Cox C, Stephens P, Edkins S, Clegg S, et al. Mutations of the BRAF gene in human cancer. *Nature*. 2002 Jun 27;417(6892):949–54.
32. LoRusso PM, Schalper K, Sosman J. Targeted therapy and immunotherapy: Emerging biomarkers in metastatic melanoma. *Pigment Cell Melanoma Res*. 2020 May 1;33(3):390–402.
33. Cabrera R, Lecaros C, Uribe P, Navarrete-Dechent C, Lobos N, Gatica J, et al. Guía de práctica para el manejo de melanoma cutáneo primario de la Sociedad Chilena de Dermatología. *Rev Chil Dermatología*. 2020;36.
34. Burnet FM. The Concept of Immunological Surveillance. *Prog Exp tumor Res Fortschritte der Exp Tumorforschung Prog la Rech Exp des tumeurs*. 1970;13:1–27.
35. Barbosa AM, Gomes-Gonçalves A, Castro AG, Torrado E. Immune System Efficiency in Cancer and the Microbiota Influence. *Pathobiology*. 2021 Mar 1;88(2):170–86.
36. Stutman O. Chemical Carcinogenesis in Nude Mice: Comparison Between Nude Mice From Homozygous Matings and Heterozygous Matings and Effect of Age and Carcinogen Dose. *JNCI J Natl Cancer Inst*. 1979 Feb 1;62(2):353–8.
37. Stutman O. Tumor development after 3-methylcholanthrene in immunologically deficient athymic-nude mice. *Science*. 1974;183(4124):534–6.
38. Maleckar JR, Sherman LA. The composition of the T cell receptor repertoire in nude mice. *J Immunol*. 1987;138(11).

39. Dighe AS, Richards E, Old LJ, Schreiber RD. Enhanced in vivo growth and resistance to rejection of tumor cells expressing dominant negative IFN gamma receptors. *Immunity*. 1994;1(6):447–56.
40. Street SEA, Cretney E, Smyth MJ. Perforin and interferon-gamma activities independently control tumor initiation, growth, and metastasis. *Blood*. 2001 Jan 1;97(1):192–7.
41. Smyth MJ, Thia KYT, Street SEA, MacGregor D, Godfrey DI, Trapani JA. Perforin-mediated cytotoxicity is critical for surveillance of spontaneous lymphoma. *J Exp Med*. 2000 Sep 4;192(5):755–60.
42. Krysko D V., Garg AD, Kaczmarek A, Krysko O, Agostinis P, Vandenabeele P. Immunogenic cell death and DAMPs in cancer therapy. *Nat Rev Cancer* 2012 1212. 2012 Nov 15;12(12):860–75.
43. Fucikova J, Kepp O, Kasikova L, Petroni G, Yamazaki T, Liu P, et al. Detection of immunogenic cell death and its relevance for cancer therapy. *Cell Death Dis*. 2020 Nov 1;11(11).
44. Zamora AE, Crawford JC, Thomas PG. Hitting the target: how T cells detect and eliminate tumors. *J Immunol*. 2018 Jan 1;200(2):392.
45. Hollingsworth RE, Jansen K. Turning the corner on therapeutic cancer vaccines. *npj Vaccines* 2019 41. 2019 Feb 8;4(1):1–10.
46. Simpson AJG, Caballero OL, Jungbluth A, Chen YT, Old LJ. Cancer/testis antigens, gametogenesis and cancer. *Nat Rev Cancer*. 2005 Aug 1;5(8):615–25.
47. Gjerstorff MF, Andersen MH, Ditzel HJ, Gjerstorff MF, Andersen MH, Ditzel HJ. Oncogenic cancer/testis antigens: prime candidates for immunotherapy. *Oncotarget*. 2015 Jun 30;6(18):15772–87.
48. Van Der Bruggen P, Traversari C, Chomez P, Lurquin C, De Plaen E, Van Den Eynde B, et al.

A gene encoding an antigen recognized by cytolytic T lymphocytes on a human melanoma. *Science* (80- ). 1991;254(5038):1643–7.

49. Poorebrahim M, Abazari MF, Sadeghi S, Mahmoudi R, Kheirollahi A, Askari H, et al. Genetically modified immune cells targeting tumor antigens. *Pharmacol Ther*. 2020 Oct 1;214:107603.
50. Zendman AJW, Ruiter DJ, Van Muijen GNP. Cancer/testis-associated genes: Identification, expression profile, and putative function. *J Cell Physiol*. 2003 Mar 1;194(3):272–88.
51. Vigneron N. Human Tumor Antigens and Cancer Immunotherapy. *Biomed Res Int*. 2015;2015.
52. Zhang Z, Lu M, Qin Y, Gao W, Tao L, Su W, et al. Neoantigen: A New Breakthrough in Tumor Immunotherapy. *Front Immunol*. 2021 Apr 16;12.
53. Peng M, Mo Y, Wang Y, Wu P, Zhang Y, Xiong F, et al. Neoantigen vaccine: an emerging tumor immunotherapy. *Mol Cancer*. 2019 Aug 23;18(1).
54. Farrell PJ. Epstein-Barr Virus and Cancer. *Annu Rev Pathol*. 2019;14:29–53.
55. Collin M, Bigley V. Human dendritic cell subsets: an update. *Immunology*. 2018 May 1;154(1):3.
56. Wculek SK, Cueto FJ, Mujal AM, Melero I, Krummel MF, Sancho D. Dendritic cells in cancer immunology and immunotherapy. *Nat Rev Immunol* 2019 201. 2019 Aug 29;20(1):7–24.
57. Chiang MC, Tullett KM, Lee YS, Idris A, Ding Y, McDonald KJ, et al. Differential uptake and cross-presentation of soluble and necrotic cell antigen by human DC subsets. *Eur J Immunol*. 2016 Feb 1;46(2):329–39.
58. Petitprez F, Meylan M, de Reyniès A, Sautès-Fridman C, Fridman WH. The Tumor Microenvironment in the Response to Immune Checkpoint Blockade Therapies. *Front Immunol*. 2020 May 7;11:784.

59. Farhood B, Najafi M, Mortezaee K. CD8+ cytotoxic T lymphocytes in cancer immunotherapy: A review. *J Cell Physiol.* 2019 Jun 1;234(6):8509–21.
60. Bald T, Krummel MF, Smyth MJ, Barry KC. The NK cell-cancer cycle - advances and new challenges in NK cell-based immunotherapies. *Nat Immunol.* 2020 Aug 1;21(8):835.
61. Myers JA, Miller JS. Exploring the NK cell platform for cancer immunotherapy. *Nat Rev Clin Oncol.* 2021 Feb 1;18(2):85.
62. Voskoboinik I, Smyth MJ, Trapani JA. Perforin-mediated target-cell death and immune homeostasis. *Nat Rev Immunol* 2006 612. 2006 Dec;6(12):940–52.
63. Nicholson SE, Keating N, Belz GT. Natural killer cells and anti-tumor immunity. *Mol Immunol.* 2019 Jun 1;110:40–7.
64. Dunn GP, Bruce AT, Ikeda H, Old LJ, Schreiber RD. Cancer immunoediting: from immunosurveillance to tumor escape. *Nat Immunol* 2002 311. 2002;3(11):991–8.
65. Vinay DS, Ryan EP, Pawelec G, Talib WH, Stagg J, Elkord E, et al. Immune evasion in cancer: Mechanistic basis and therapeutic strategies. *Semin Cancer Biol.* 2015 Dec 1;35:S185–98.
66. Catherine Sánchez N. Conociendo y comprendiendo la célula cancerosa: Fisiopatología del cáncer. *Rev Médica Clínica Las Condes.* 2013 Jul 1;24(4):553–62.
67. Waldman AD, Fritz JM, Lenardo MJ. A guide to cancer immunotherapy: from T cell basic science to clinical practice. *Nat Rev Immunol* 2020 2011. 2020 May 20;20(11):651–68.
68. Coley WB. The Treatment of Inoperable Sarcoma by Bacterial Toxins (the Mixed Toxins of the *Streptococcus erysipelas* and the *Bacillus prodigiosus*). *Proc R Soc Med.* 1910 Jun;3(Surg Sect):1.
69. Malek TR. The biology of interleukin-2. *Annu Rev Immunol.* 2008;26:453–79.

70. Pol JG, Caudana P, Paillet J, Piaggio E, Kroemer G. Cytokines Focus: Effects of interleukin-2 in immunostimulation and immunosuppression. *J Exp Med*. 2020 Jan 1;217(1).
71. Sadlack B, Merz H, Schorle H, Schimpl A, Feller AC, Horak I. Ulcerative colitis-like disease in mice with a disrupted interleukin-2 gene. *Cell*. 1993 Oct 22;75(2):253–61.
72. Lotze M, Matory Y, Ettinghausen S, Rayner A, Sharrow S, Seipp C, et al. In vivo administration of purified human interleukin 2. II. Half life, immunologic effects, and expansion of peripheral lymphoid cells in vivo with recombinant IL 2. | *The Journal of Immunology*. *J Immunol*. 1985 Oct 1;135(4):2865–75.
73. Mule JJ, Shu S, Rosenberg SA. The anti-tumor efficacy of lymphokine-activated killer cells and recombinant interleukin 2 in vivo. *J Immunol*. 1985 Jul;135(1):646–52.
74. Rosenberg SA, Lotze MT, Muul LM, Leitman S, Chang AE, Ettinghausen SE, et al. Observations on the Systemic Administration of Autologous Lymphokine-Activated Killer Cells and Recombinant Interleukin-2 to Patients with Metastatic Cancer. <http://dx.doi.org/101056/NEJM198512053132327>. 2010 Jan 14;313(23):1485–92.
75. Lotze MT, Chang AE, Seipp CA, Simpson C, Vetto JT, Rosenberg SA. High-Dose Recombinant Interleukin 2 in the Treatment of Patients With Disseminated Cancer: Responses, Treatment-Related Morbidity, and Histologic Findings. *JAMA*. 1986 Dec 12;256(22):3117–24.
76. Atkins MB, Lotze MT, Dutcher JP, Fisher RI, Weiss G, Margolin K, et al. High-dose recombinant interleukin 2 therapy for patients with metastatic melanoma: analysis of 270 patients treated between 1985 and 1993. *J Clin Oncol*. 1999;17(7):2105–16.
77. Rosenberg SA. IL-2: The First Effective Immunotherapy for Human Cancer. *J Immunol*. 2014 Jun 6;192(12):5451.

78. Mier JW, Aronson FR, Numerof RP, Vachino G, Atkins MB. Toxicity of immunotherapy with interleukin-2 and lymphokine-activated killer cells. *Pathol Immunopathol Res.* 1988;7(6):459–76.
79. Wrangle JM, Patterson A, Johnson CB, Neitzke DJ, Mehrotra S, Denlinger CE, et al. IL-2 and Beyond in Cancer Immunotherapy. *J Interf Cytokine Res.* 2018 Feb 2;38(2):45.
80. A I, J L. Virus interference. I. The interferon. *Proc R Soc London Ser B, Biol Sci.* 1957 Sep 12;147(927):258–67.
81. Gresser I, Bourali C. Efectos antitumorales de las preparaciones de interferón en ratones - PubMed. *J Natl Cancer Inst.* 1970;45(2):365–76.
82. Gresser I. Antitumor Effects of Interferon. <http://dx.doi.org/103109/02841868909111205>. 2009;28(3):347–53.
83. Hervas-Stubbs S, Perez-Gracia JL, Rouzaut A, Sanmamed MF, Le Bon A, Melero I. Direct effects of type I interferons on cells of the immune system. *Clin Cancer Res.* 2011 May 1;17(9):2619–27.
84. Herndon TM, Demko SG, Jiang X, He K, Gootenberg JE, Cohen MH, et al. U.S. Food and Drug Administration Approval: peginterferon-alfa-2b for the adjuvant treatment of patients with melanoma. *Oncologist.* 2012 Oct 1;17(10):1323–8.
85. Rosenberg SA, Restifo NP, Yang JC, Morgan RA, Dudley ME. Adoptive cell transfer: a clinical path to effective cancer immunotherapy. *Nat Rev Cancer.* 2008 Apr;8(4):299.
86. Rosenberg SA, Packard BS, Aebersold PM, Solomon D, Topalian SL, Toy ST, et al. Use of tumor-infiltrating lymphocytes and interleukin-2 in the immunotherapy of patients with metastatic melanoma. A preliminary report. *N Engl J Med.* 1988 Dec 22;319(25):1676–80.
87. Rosenberg SA, Yannelli JR, Yang JC, Topalian SL, Schwartzentruber DJ, Weber JS, et al.



Treatment of patients with metastatic melanoma with autologous tumor-infiltrating lymphocytes and interleukin 2. *J Natl Cancer Inst.* 1994 Aug 3;86(15):1159–66.

88. Antony PA, Piccirillo CA, Akpınarli A, Finkelstein SE, Speiss PJ, Surman DR, et al. CD8+ T Cell Immunity Against a Tumor/Self-Antigen Is Augmented by CD4+ T Helper Cells and Hindered by Naturally Occurring T Regulatory Cells. *J Immunol.* 2005 Mar 1;174(5):2591–601.
89. Leonard WJ, Lin JX, O'Shea JJ. The  $\gamma$  c Family of Cytokines: Basic Biology to Therapeutic Ramifications. *Immunity.* 2019 Apr 16;50(4):832–50.
90. Dudley ME, Wunderlich JR, Robbins PF, Yang JC, Hwu P, Schwartzentruber DJ, et al. Cancer Regression and Autoimmunity in Patients After Clonal Repopulation with Antitumor Lymphocytes. *Science.* 2002 Oct 10;298(5594):850.
91. Harris TJ, Drake CG. Primer on tumor immunology and cancer immunotherapy. *J Immunother Cancer.* 2013;1:12.
92. Chen W, Yuan Y, Jiang X. Antibody and antibody fragments for cancer immunotherapy. *J Control Release.* 2020 Dec 10;328:395–406.
93. Salles G, Barrett M, Foà R, Maurer J, O'Brien S, Valente N, et al. Rituximab in B-Cell Hematologic Malignancies: A Review of 20 Years of Clinical Experience. *Adv Ther.* 2017 Oct 1;34(10):2232.
94. Bezombes C, Fournié JJ, Laurent G. Direct effect of rituximab in B-cell-derived lymphoid neoplasias: mechanism, regulation, and perspectives. *Mol Cancer Res.* 2011 Nov;9(11):1435–42.
95. Perry CM, Wiseman LR. Trastuzumab. *BioDrugs.* 1999;12(2):129–35.
96. Kreutzfeldt J, Rozeboom B, Dey N, De P. The trastuzumab era: current and upcoming targeted HER2+ breast cancer therapies. *Am J Cancer Res.* 2020;10(4):1045.

97. Perry CM, Wiseman LR. Trastuzumab. *BioDrugs* 1999 12(2):129–35.
98. Bradley R, Braybrooke J, Gray R, Hills R, Liu Z, Peto R, et al. Trastuzumab for early-stage, HER2-positive breast cancer: a meta-analysis of 13 864 women in seven randomised trials. *Lancet Oncol.* 2021 Aug 1;22(8):1139–50.
99. SÁNCHEZ C, DOMÍNGUEZ F, GALINDO H, CAMUS M, ODDÓ D, VILLARROEL A, et al. Características clínicas y pronóstico de pacientes con cáncer de mama HER2 positivo avanzado, en la era antes y después de terapias anti-HER2. *Rev Med Chil.* 2018 Dec 1;146(10):1095–101.
100. Brunet JF, Denizot F, Luciani MF, Roux-Dosseto M, Suzan M, Mattei MG, et al. A new member of the immunoglobulin superfamily--CTLA-4. *Nature.* 1987;328(6127):267–70.
101. Harper K, Balzano C, Rouvier E, Mattéi MG, Luciani MF, Golstein P. CTLA-4 and CD28 activated lymphocyte molecules are closely related in both mouse and human as to sequence, message expression, gene structure, and chromosomal location. *J Immunol.* 1991;147(3).
102. Linsley PS, Brady W, Urnes M, Grosmaire LS, Damle NK, Ledbetter JA. CTLA-4 is a second receptor for the B cell activation antigen B7. *J Exp Med.* 1991 Sep 1;174(3):561–9.
103. Linsley PS, Greene JAL, Brady W, Bajorath J, Ledbetter JA, Peach R. Human B7-1 (CD80) and B7-2 (CD86) bind with similar avidities but distinct kinetics to CD28 and CTLA-4 receptors. *Immunity.* 1994;1(9):793–801.
104. Krummel MF, Allison JP. CD28 and CTLA-4 have opposing effects on the response of T cells to stimulation. *J Exp Med.* 1995 Aug 1;182(2):459–65.
105. Van Coillie S, Wiernicki B, Xu J. Molecular and Cellular Functions of CTLA-4. *Adv Exp Med Biol.* 2020;1248:7–32.
106. Schneider H, Downey J, Smith A, Zinselmeyer BH, Rush C, Brewer JM, et al. Reversal of the

TCR stop signal by CTLA-4. *Science*. 2006 Sep 29;313(5795):1972–5.

107. Qureshi OS, Zheng Y, Nakamura K, Attridge K, Manzotti C, Schmidt EM, et al. Trans-endocytosis of CD80 and CD86: a molecular basis for the cell-extrinsic function of CTLA-4. *Science*. 2011 Apr 29;332(6029):600–3.
108. Leach DR, Krummel MF, Allison JP. Enhancement of antitumor immunity by CTLA-4 blockade. *Science* (80- ). 1996 Mar 22;271(5256):1734–6.
109. Grosso JF, Jure-Kunkel MN. CTLA-4 blockade in tumor models: an overview of preclinical and translational research. *Cancer Immun*. 2013;13(1).
110. Phan GQ, Yang JC, Sherry RM, Hwu P, Topalian SL, Schwartzentruber DJ, et al. Cancer regression and autoimmunity induced by cytotoxic Tlymphocyte-associated antigen 4 blockade in patients with metastaticmelanoma. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2003 Jul 7;100(14):8372.
111. Hodi FS, O'Day SJ, McDermott DF, Weber RW, Sosman JA, Haanen JB, et al. Improved Survival with Ipilimumab in Patients with Metastatic Melanoma. *N Engl J Med*. 2010 Aug 19;363(8):711–23.
112. McDermott D, Haanen J, Chen TT, Lorigan P, O'Day S. Efficacy and safety of ipilimumab in metastatic melanoma patients surviving more than 2 years following treatment in a phase III trial (MDX010-20). *Ann Oncol Off J Eur Soc Med Oncol*. 2013;24(10):2694–8.
113. Schadendorf D, Hodi FS, Robert C, Weber JS, Margolin K, Hamid O, et al. Pooled Analysis of Long-Term Survival Data From Phase II and Phase III Trials of Ipilimumab in Unresectable or Metastatic Melanoma. *J Clin Oncol*. 2015 Jun 10;33(17):1889–94.
114. Ishida Y, Agata Y, Shibahara K, Honjo T. Induced expression of PD-1, a novel member of the immunoglobulin gene superfamily, upon programmed cell death. *EMBO J*. 1992;11(11):3887–95.

115. Agata Y, Kawasaki A, Nishimura H, Ishida Y, Tsubata T, Yagita H, et al. Expression of the PD-1 antigen on the surface of stimulated mouse T and B lymphocytes. *Int Immunol*. 1996 May 1;8(5):765–72.
116. Nishimura H, Minato N, Nakano T, Honjo T. Immunological studies on PD-1 deficient mice: implication of PD-1 as a negative regulator for B cell responses. *Int Immunol*. 1998 Oct 1;10(10):1563–72.
117. Nishimura H, Nose M, Hiai H, Minato N, Honjo T. Development of Lupus-like Autoimmune Diseases by Disruption of the PD-1 Gene Encoding an ITIM Motif-Carrying Immunoreceptor. *Immunity*. 1999 Aug 1;11(2):141–51.
118. Freeman GJ, Long AJ, Iwai Y, Bourque K, Chernova T, Nishimura H, et al. Engagement of the Pd-1 Immunoinhibitory Receptor by a Novel B7 Family Member Leads to Negative Regulation of Lymphocyte Activation. *J Exp Med*. 2000 Oct 2;192(7):1027–34.
119. Latchman Y, Wood CR, Chernova T, Chaudhary D, Borde M, Chernova I, et al. PD-L2 is a second ligand for PD-1 and inhibits T cell activation. *Nat Immunol* 2001 23. 2001 Mar;2(3):261–8.
120. Okazaki T, Honjo T. PD-1 and PD-1 ligands: from discovery to clinical application. *Int Immunol*. 2007 Jul 1;19(7):813–24.
121. Chemnitz JM, Parry R V., Nichols KE, June CH, Riley JL. SHP-1 and SHP-2 associate with immunoreceptor tyrosine-based switch motif of programmed death 1 upon primary human T cell stimulation, but only receptor ligation prevents T cell activation. *J Immunol*. 2004 Jul 15;173(2):945–54.
122. Ohaegbulam KC, Assal A, Lazar-Molnar E, Yao Y, Zang X. Human cancer immunotherapy with antibodies to the PD-1 and PD-L1 pathway. *Trends Mol Med*. 2015;21(1):24.

123. Sun C, Mezzadra R, Schumacher TN. Regulation and Function of the PD-L1 Checkpoint. *Immunity*. 2018 Mar 3;48(3):434.
124. Ai L, Xu A, Xu J. Roles of PD-1/PD-L1 Pathway: Signaling, Cancer, and Beyond. *Adv Exp Med Biol*. 2020;1248:33–59.
125. Weber JS, D'Angelo SP, Minor D, Hodi FS, Gutzmer R, Neyns B, et al. Nivolumab versus chemotherapy in patients with advanced melanoma who progressed after anti-CTLA-4 treatment (CheckMate 037): a randomised, controlled, open-label, phase 3 trial. *Lancet Oncol*. 2015;16(4):375–84.
126. Vaddepally RK, Kharel P, Pandey R, Garje R, Chandra AB. Review of Indications of FDA-Approved Immune Checkpoint Inhibitors per NCCN Guidelines with the Level of Evidence. *Cancers (Basel)*. 2020 Mar 1;12(3).
127. Robert C, Long G V., Schachter J, Arance A, Grob JJ, Mortier L, et al. Long-term outcomes in patients (pts) with ipilimumab (ipi)-naive advanced melanoma in the phase 3 KEYNOTE-006 study who completed pembrolizumab (pembro) treatment. [https://doi.org/10.1200/JCO20173515\\_suppl9504](https://doi.org/10.1200/JCO20173515_suppl9504). 2017 May 30;35(15\_suppl):9504–9504.
128. Larkin J, Chiarion-Sileni V, Gonzalez R, Grob JJ, Cowey CL, Lao CD, et al. Combined Nivolumab and Ipilimumab or Monotherapy in Untreated Melanoma. *N Engl J Med*. 2015 Jul 2;373(1):23–34.
129. Wolchok JD, Chiarion-Sileni V, Gonzalez R, Rutkowski P, Grob J-J, Cowey CL, et al. Overall Survival with Combined Nivolumab and Ipilimumab in Advanced Melanoma. *N Engl J Med*. 2017 Oct 10;377(14):1345.
130. Plumas J. Harnessing dendritic cells for innovative therapeutic cancer vaccines. *Curr Opin Oncol*. 2022 Mar 1;34(2):161–8.

131. Caux C, Vanbervliet B, Massacrier C, Dezutter-Dambuyant C, De Saint-Vis B, Jacquet C, et al. CD34+ hematopoietic progenitors from human cord blood differentiate along two independent dendritic cell pathways in response to GM-CSF+TNF alpha. *J Exp Med*. 1996 Aug 1;184(2):695–706.
132. Sallusto F, Lanzavecchi A. Efficient presentation of soluble antigen by cultured human dendritic cells is maintained by granulocyte/macrophage colony-stimulating factor plus interleukin 4 and downregulated by tumor necrosis factor alpha. *J Exp Med*. 1994 Apr 1;179(4):1109–18.
133. Linette GP, Carreno BM. On the Twentieth Anniversary of Dendritic Cell Vaccines – Riding the Next Wave. *Cancer Res*. 2022 Mar 15;82(6):966–8.
134. Hsu FJ, Benike C, Fagnoni F, Liles TM, Czerwinski D, Taidi B, et al. Vaccination of patients with B-cell lymphoma using autologous antigen-pulsed dendritic cells. *Nat Med* 1996 21. 1996;2(1):52–8.
135. The C, Xu P, Wasielewski LJ, Yang JC, Cai D, Evans CP, et al. The Immunotherapy and Immunosuppressive Signaling in Therapy-Resistant Prostate Cancer. *Biomed* 2022, Vol 10, Page 1778. 2022 Jul 22;10(8):1778.
136. Kantoff PW, Higano CS, Shore ND, Berger ER, Small EJ, Penson DF, et al. Sipuleucel-T Immunotherapy for Castration-Resistant Prostate Cancer. *N Engl J Med*. 2010 Jul 29;363(5):411–22.
137. PROVENGE (sipuleucel-T) | FDA. Available from: <https://www.fda.gov/vaccines-blood-biologics/cellular-gene-therapy-products/provenge-sipuleucel-t>.
138. Dany M, Nganga R, Chidiac A, Hanna E, Matar S, Elston D. Advances in immunotherapy for melanoma management. *Hum Vaccin Immunother*. 2016 Oct 2;12(10):2501.

139. Salazar-Onfray F, Pereda C, Reyes D, López MN. TAPCells, the Chilean dendritic cell vaccine against melanoma and prostate cancer. *Biol Res*. 2013;46(4):431–40.
140. Aguilera R, Saffie C, Tittarelli A, González EE, Ramírez M, Reyes D, et al. Heat-shock induction of tumor-derived danger signals mediates rapid monocyte differentiation into clinically effective dendritic cells. *Clin Cancer Res*. 2011 Apr 15;17(8):2474–83.
141. Escobar A, López M, Serrano A, Ramirez M, Pérez C, Aguirre A, et al. Dendritic cell immunizations alone or combined with low doses of interleukin-2 induce specific immune responses in melanoma patients. *Clin Exp Immunol*. 2005 Dec;142(3):555–68.
142. López MN, Pereda C, Segal G, Muñoz L, Aguilera R, González FE, et al. Prolonged survival of dendritic cell-vaccinated melanoma patients correlates with tumor-specific delayed type IV hypersensitivity response and reduction of tumor growth factor  $\beta$ -expressing T cells. *J Clin Oncol*. 2009 Feb 20;27(6):945–52.
143. Gleisner MA, Pereda C, Tittarelli A, Navarrete M, Fuentes C, Ávalos I, et al. Original research: A heat-shocked melanoma cell lysate vaccine enhances tumor infiltration by prototypic effector T cells inhibiting tumor growth. *J Immunother Cancer*. 2020 Jul 20 ;8(2):999.