

**TRABAJO DE FIN DE GRADO**

**AVANCES EN EL CONOCIMIENTO INMUNOLÓGICO  
DE ENFERMEDADES HUMANAS**

**Autor:**

Belinda del Pino Sosa Sosa

**Tutor:**

Enrique Martínez Carretero

**Convocatoria:**

Junio 2021

Índice	
<b>Resumen</b> .....	<b>3</b>
<b>Palabras claves</b> .....	<b>3</b>
<b>Abstract</b> .....	<b>4</b>
<b>Key words</b> .....	<b>4</b>
<b>1.Introducción</b> .....	<b>5</b>
<b>2.Objetivos</b> .....	<b>9</b>
<b>3. Material y Métodos</b> .....	<b>9</b>
<b>4. Resultados y Discusión</b> .....	<b>9</b>
4.1 ¿Cómo influyen las mutaciones en el progreso del PDAC? .....	10
4.2 ¿Cómo influyen estas citocinas en el desarrollo del cáncer? .....	13
4.3 Posibles terapias .....	18
4.3.1 Anticuerpos monoclonales .....	18
4.3.2 Bloqueo de los puntos de control.....	20
4.3.3 Terapia CAR-T.....	23
<b>6. Referencias</b> .....	<b>27</b>

## **Resumen**

La inmunología está relacionada con la mayoría de las disciplinas de la patología humana: reumatología, hematología, enfermedades infecciosas, nefrología, neurología, aparato digestivo, oncología, prácticamente en todas las áreas de la salud, el sistema inmunológico juega un papel fundamental en resolver determinadas patologías y en otros casos son la causa. Así, la generación de citocinas juega un papel fundamental para que la respuesta sea eficiente frente a la causa que genera la enfermedad. El avance en la comprensión de los diferentes procesos en los que participa el sistema inmunológico está permitiendo establecer estrategias terapéuticas dirigidas a potenciarlo (inmunoterapia), inhibirlo (inmunosupresión) o modular su respuesta (inmunomodulación), surgiendo la inmunoterapia.

Diferentes estudios relacionan el proceso inflamatorio con la aparición y evolución de diferentes enfermedades incluyendo el cáncer. Como modelo de este proceso he elegido el cáncer de páncreas, donde una secuencia de mutaciones de oncogenes y genes supresores de tumores, unido a la presencia de citocinas como IL6, IL 13, IL 17 y TNF $\alpha$  junto con células como macrófagos, células reguladoras y células T helper generan un microambiente tumoral que da lugar a la aparición y desarrollo del cáncer.

En la actualidad existen diversos ensayos clínicos de inmunoterapias dirigidas a bloquear estas citocinas (anticuerpos monoclonales) o a reconocer a las células tumorales por medio de linfocitos modificados (células CAR-T)

Este trabajo hace un análisis inmunológico de los mecanismos relacionados con la generación del cáncer de páncreas y la propuesta de nuevas estrategias para su abordaje.

## **Palabras claves**

Cáncer, páncreas, inmunoterapia, CAR-T, inmunología

## **Abstract**

The immunology is relational with the most disciplinary of human pathology: rheumatology, hematology, infectious diseases, nephrology, neurology, digestive system, oncology, in practically all areas of health, the immune system plays a fundamental role in solving certain pathologies and in other cases, it's the cause. In this way, cytokines play a fundamental role so that the response is efficient against the cause that generates the disease. Advances in the understanding of the different processes in which the immune system participates are allowing the establishment of therapeutic strategies aimed at enhancing it (immunotherapy), inhibiting it (immunosuppression), or modulating its response (immunomodulation), resulting in immunotherapy.

Different studies relate the inflammatory process with the appearance and evolution of different diseases including cancer. As a model of this process, I have chosen pancreatic cancer, where a sequence of mutations of oncogenes and tumor suppressor genes, together with the presence of cytokines such as IL6, IL 13, IL 17, and TNF $\alpha$  and cells such as macrophages, regulatory cells, and T helper cells generate a tumor microenvironment that gives rise to the appearance and development of cancer.

There are currently several clinical trials of immunotherapies aimed at blocking these cytokines (monoclonal antibodies) or at recognizing tumor cells through modified lymphocytes (CAR-T cells).

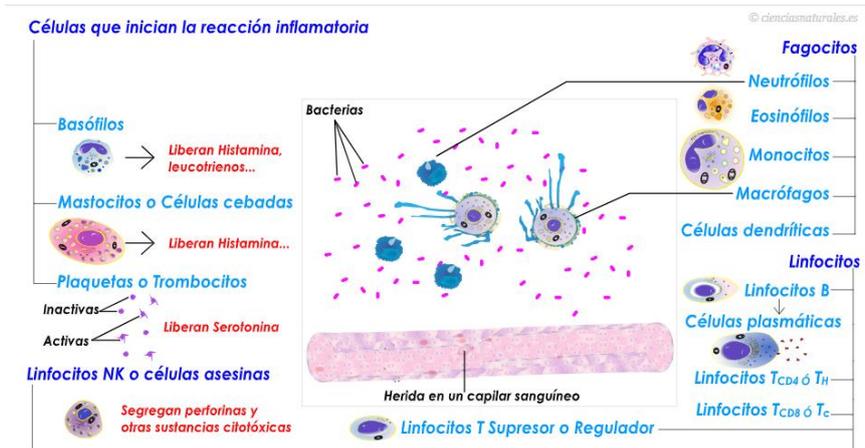
This project makes an immunological analysis of the mechanisms related to the generation of pancreatic cancer and the proposal of new strategies for its approach.

## **Key words**

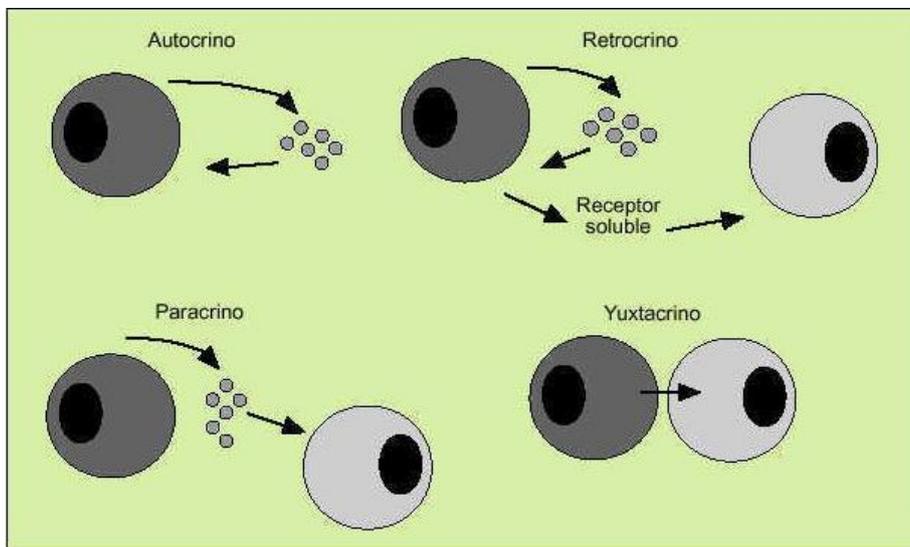
Cancer, pancreas, immunotherapy, CAR-T, immunology

# 1.Introducción

El sistema inmunológico lo forman Células, Proteínas, como las proteínas del complemento, citocinas y anticuerpos y órganos como el bazo, hígado, médula ósea o sistema linfático.



**Fig.1a: Células que inician la reacción inflamatoria:** se observan las diferentes células del sistema inmunológico basófilos y mastocitos relacionados con la liberación de histamina y otras citoquinas. Los mastocitos son células residentes de los tejidos, con una larga vida media y que juegan un importante papel en muchas reacciones inflamatorias, como la defensa frente a infecciones parasitarias y las reacciones alérgicas; células fagocitarias que además liberan citoquinas proinflamatorias, quimiotácticas; Linfocitos productoras de citoquinas activadoras de otras células como linfocitos T helper, citoquinas citotóxicas células T citotóxicas y células natural killer y productoras de anticuerpos las células B (1)



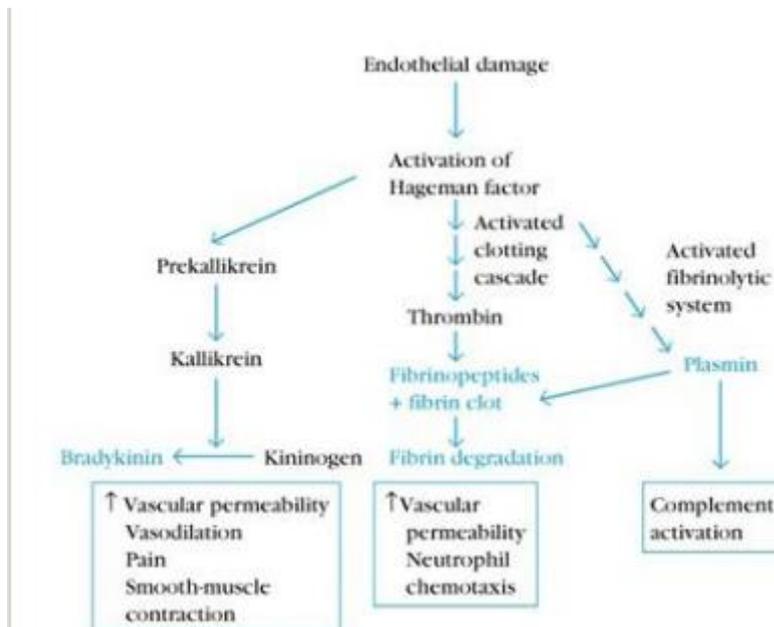
**Fig.1 b: Tipo de acción de las citocinas.** Las citocinas son secretadas por prácticamente todas las células del sistema inmunológico y van dirigidas a las células que presentan sus receptores en su membrana celular. Estos receptores pueden estar en la misma célula, próximas o alejadas. (2)

La inmunoterapia se basa en modular la actividad del sistema inmunológico, tanto de los mediadores moleculares como de las células, con el fin de erradicar las células malignas mientras que las células normales del organismo se mantienen intactas. En la tabla 1 se muestran las diferentes inmunoterapias que se están realizando en la actualidad. (3)

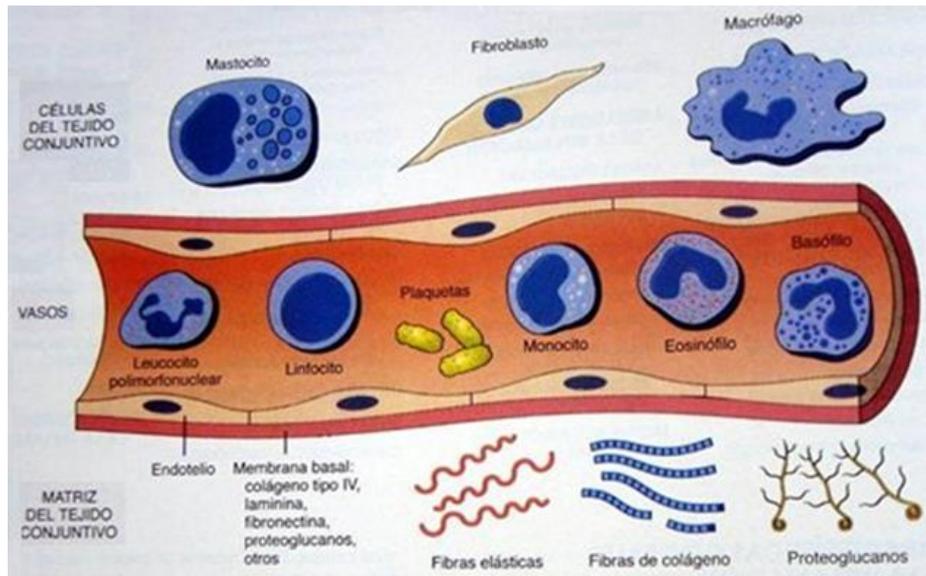
<b>Tipos de Inmunoterapias</b>
• <b>Inhibición de puntos de control.</b>
• <b>Terapia celular adoptiva.</b>
• <b>Anticuerpos monoclonales.</b>
• <b>Terapia con virus oncolíticos.</b>
• <b>Vacunas contra el cáncer.</b>
• <b>Moduladores del sistema inmune.</b>

**Tabla 1** Tipos de Inmunoterapias.

La inflamación es un proceso complejo e inespecífico, que se caracteriza por modificaciones locales y coordinadas de los vasos sanguíneos y el tejido conectivo; se relaciona con el proceso de reparación, que consiste en la regeneración de las células parenquimatosas dañadas, y con la cicatrización, que se caracteriza por la proliferación de tejido fibroblástico. (4)

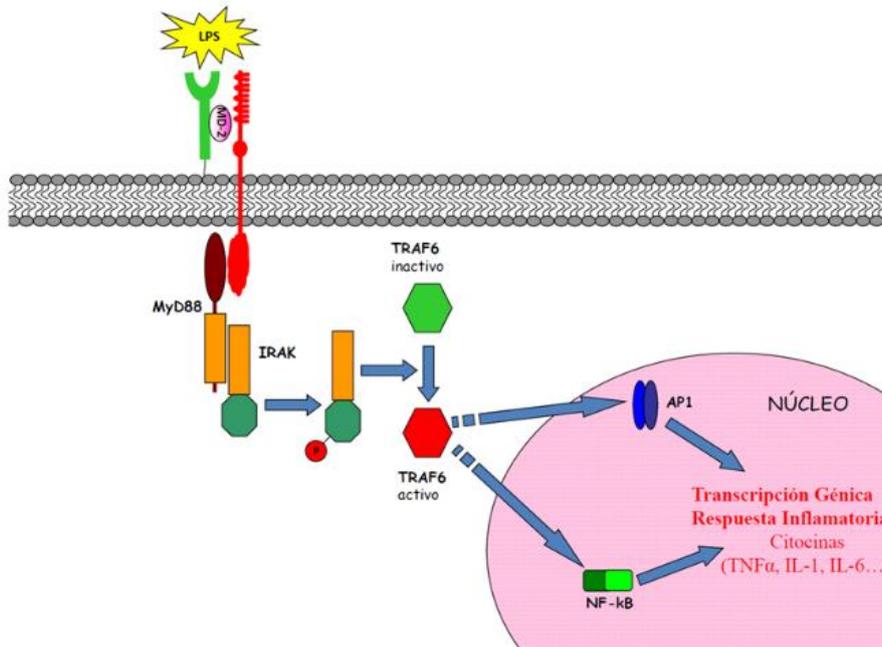


**Fig. 2:** Cascada de eventos humorales secundarios al daño del endotelio. La inflamación es un proceso propio del tejido conectivo vascularizado y en ella participan el plasma y las células circulantes y residentes del tejido conectivo. Se caracteriza clínicamente por calor, rubor, tumor, dolor y pérdida de función (4).

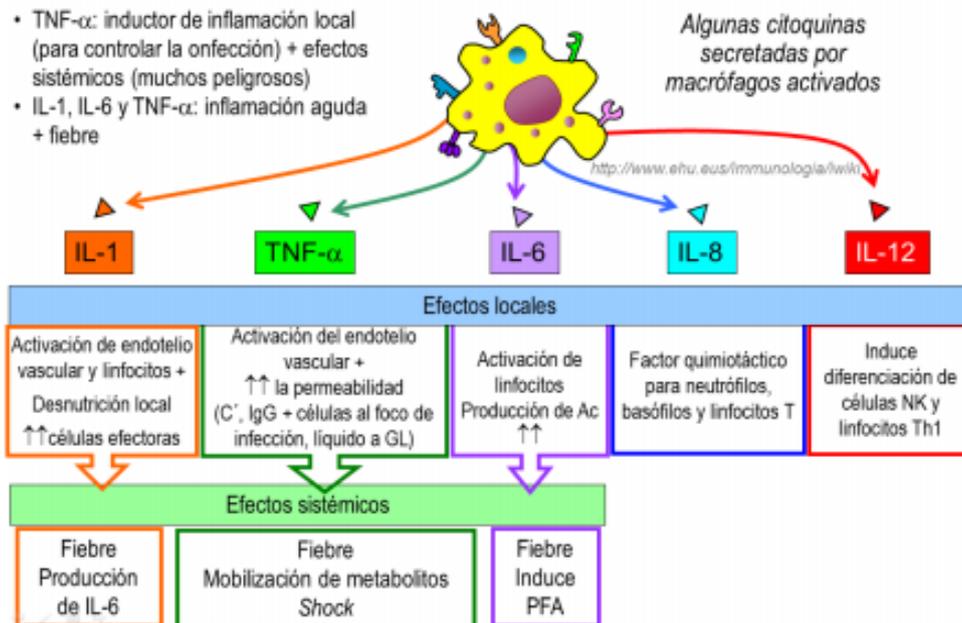


**Fig. 2: participantes en el proceso inflamatorio (4)** . Los elementos principales que participan en este proceso son los mediadores de la inflamación, vasos sanguíneos y varios tipos de células: granulocitos, monocito-macrófagos, plaquetas, células endoteliales y fibroblastos, estos últimos con un importante rol en la inflamación crónica

La producción de citocinas proinflamatorias está mediada principalmente por macrófagos, células dendríticas y neutrófilos. Estas células tienen receptores que permiten la activación de factores nucleares, induciendo la expresión de las principales citoquinas proinflamatorias. Podemos encontrar los receptores de patrones moleculares asociados a patógenos vía TLR, y, por otro lado, receptores de determinadas citocinas que proceden de otras células y también activan a estos factores nucleares.



**Fig. 3: Activación de Toll Like Receptor (TLR) y su cascada de señalización.** Cuando estos receptores se activan, se produce una cascada de señalización que hace que se acabe activando el Factor Nuclear Kappa Beta (NF-κB) que va al núcleo y activa la transcripción génica de diferentes citoquinas como son el TNF-α, IL-1, IL-6, IL-8, IL 18 entre otras. Por otro lado, los macrófagos y células dendríticas tienen receptores de IL 17, IL 13 y IL1-β que también son capaces de activar estas rutas. (5)



**Fig. 4: Citoquinas liberadas por los macrófagos activados y sus funciones.** Las citoquinas liberadas por macrófagos o células dendríticas al activarse NF-κβ, tienen funciones sobre el tejido vascular, células y órganos como hígado, hipotálamo, médula ósea, que se describen en esta figura. (6)

La activación del proceso inflamatorio de forma continuada produce diferentes patologías que, en función de su origen, las podemos diferenciar en autoinmunes, inflamatorias crónicas, pero también se relacionan con el desarrollo de otras patologías como cáncer.

## **2. Objetivos**

- Descripción y Análisis, desde el punto de vista inmunológico, de alguna enfermedad humana.
- Búsqueda de nuevas terapias con base inmunológica relacionadas con la enfermedad seleccionada.

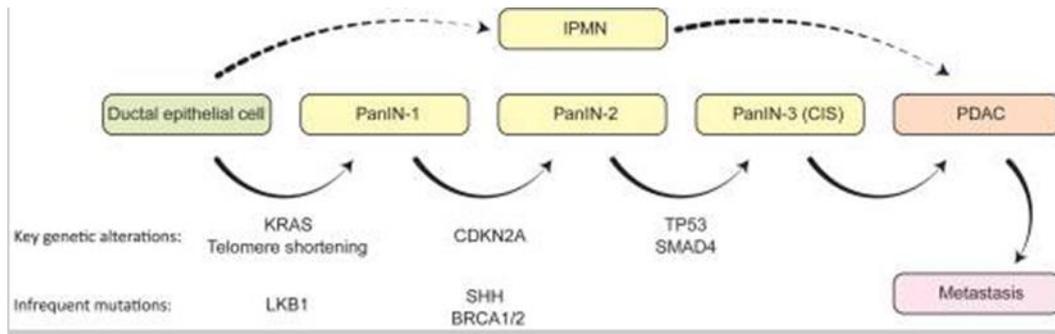
## **3. Material y Métodos**

Se ha realizado una búsqueda bibliográfica utilizando las siguientes palabras clave en diferentes combinaciones: *immunology*, *immunotherapy*, *cáncer*, *páncreas*, fundamentalmente en PubMed que pertenece al Centro Nacional de Información Biotecnológica (NCBI), aunque también se obtuvieron resultados de Elsevier, Nature y revistas científicas. Se consideraron artículos y revisiones originales en español inglés intentando ser lo más actualizado posible incluyendo artículos de enero y marzo de 2021.

## **4. Resultados y Discusión**

He seleccionado el cáncer de páncreas como ejemplo de esta relación entre el sistema inmunológico y la patología. El cáncer de páncreas es la tercera causa de muerte relacionada con el cáncer en los Estados Unidos (7). El tipo de adenocarcinoma ductal pancreático (PDAC) constituye el 90% de todas las neoplasias malignas pancreáticas (8). Los PDAC derivan de las células epiteliales que recubren el conducto pancreático. Debido a la ausencia de síntomas, se suelen diagnosticar en una etapa tardía, normalmente después de la metástasis. Por ello, las terapias tienden a ser poco efectivas ya que el cáncer ha adquirido fuertes mecanismos citoprotectores que promueven la resistencia a fármacos. El PDAC también se caracteriza por una respuesta desmoplásica excesiva, con generación de tejido fibrótico denso, una matriz extracelular alterada e hipovascularidad. El tejido fibrótico denso se considera una barrera para los fármacos, ya que dificulta la actividad de los agentes terapéuticos en los tejidos tumorales. (8)

Los PDAC están precedidos de lesiones hiperplásicas conocidas como neoplasias intraepiteliales pancreáticas (PanIN) y neoplasias mucinosas papilares intraductales (IPMN) que son precancerosas y muestra una predisposición a convertirse en cáncer. (8, 9)



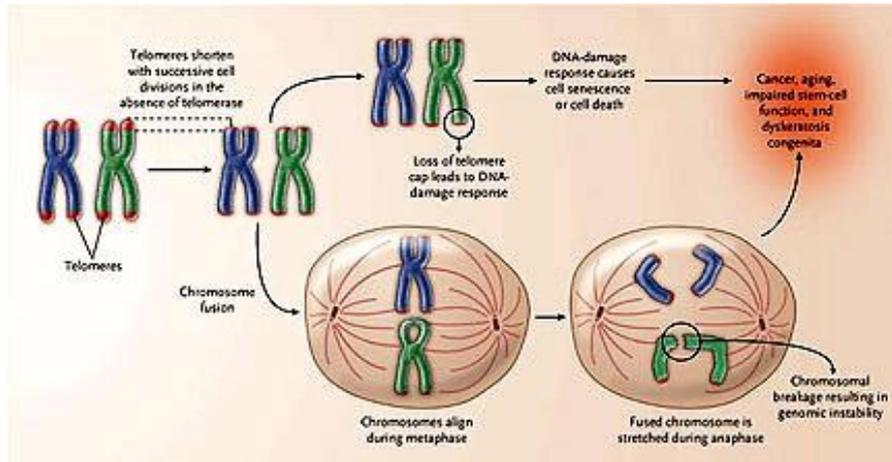
**Fig. 5: progresión del PDAC y sus diferentes estadios.** Estas lesiones se clasifican en diferentes estadios (1-3) en función del grado de desorganización arquitectónica y anomalías nucleares del tejido. El PDAC se caracteriza por cuatro alteraciones genéticas comunes: mutación oncogénica de KRAS e inactivación de los supresores tumorales: CDKN2A (También llamado p16), TP53 y SMAD4 de forma secuencial, ya que la mutación de KRAS por sí sola no desencadena en PDAC (8, 9)

#### 4.1 ¿Cómo influyen las mutaciones en el progreso del PDAC?

A lo largo del desarrollo del tumor se producen una serie de mutaciones de oncogenes y genes supresores de tumores que culminan con la creación de PDAC y su posterior metástasis. Destacamos los siguientes genes implicados: (8)

- El gen KRAS codifica una GTPasa que regula diversos procesos celulares, incluida la proliferación, diferenciación, supervivencia y migración celular. (8)
- CDKN2A codifica la proteína p16, un inhibidor de la kinasa dependiente de ciclina responsable de bloquear la entrada en la fase S del ciclo celular. De este modo, la ausencia de p16 o si está alterada, no podrá evitar que la célula entre en fase S. (8)
- El TP53 codifica el factor de transcripción p53, su inactivación hace que se pierda la capacidad de p53 para unirse al ADN, eliminando su función como factor de transcripción. Por tanto, es incapaz de inducir la expresión de genes que promueven la detención del ciclo celular o la apoptosis en respuesta al estrés celular o daño del ADN. (8)
- Las alteraciones en la vía de señalización del TGF-beta producen efectos diversos en la patogénesis de PDAC dependiendo del contexto, pudiendo inducir apoptosis, así como promover la invasión y metástasis. El efecto antiproliferativo de la señalización de TGF- $\beta$  depende del coactivador transcripcional SMAD4/DCP4. La pérdida de SMAD4 predice un peor pronóstico del paciente. (8)

En la progresión de este PDAC también interviene el acortamiento de los telómeros. (8, 9)



**Fig. 6: Acortamiento de los telómeros y papel de la telomerasa.** En células que carecen de telomerasa, los telómeros se acortan progresivamente con la división celular, debido a la inhabilidad de la ADN polimerasa para replicar completamente los extremos de los cromosomas. Si se deteriora el casquillo protector del telómero de un cromosoma, se acciona una respuesta sobre el ADN dañado, causando la muerte celular. Alternativamente, la pérdida de protección del telómero permite que el inadecuado ensamblaje de los telómeros fusione a los cromosomas, los que son altamente vulnerables a la fractura, dando por resultado inestabilidad genómica. Ambas respuestas pueden provocar cáncer, envejecimiento, disfunción de las células madre y disqueratosis congénita. (10)

Este proceso de ruptura-fusión-puente (BFB) ocurre de manera cíclica promoviendo la inestabilidad genómica y una presión selectiva para eliminar las vías antiapoptóticas. El acortamiento de los telómeros viene tras la pérdida de p53 y probablemente contribuye a la presión selectiva que resulta en su pérdida. (8)

La señalización oncogénica de KRAS puede promover el desarrollo del microambiente inflamatorio que existe en PDAC, y este microambiente inflamatorio promueve el inicio y la progresión de PDAC a través de varios mecanismos: (8)

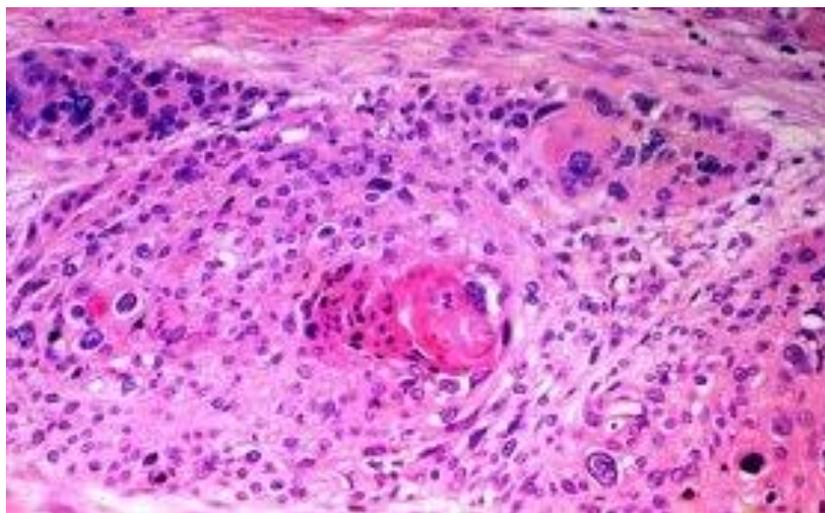
- KRAS promueve la supervivencia y la proliferación celular a través de mediadores inflamatorios que activan factores de transcripción responsables de la señalización antiapoptótica, así como la invasión y metástasis de células cancerosas. (8)
- Induce la expresión y secreción de IL-6 e IL-11, que conduce a la activación transcripcional de STAT3. (8)
- Promueve la señalización del NF- $\kappa$ B, que conduce a un aumento de los niveles de TNF- $\alpha$  e IL-1, que impulsan un ciclo de retroalimentación positiva de activación NF- $\kappa$ B. (8)

Individuos con diabetes mellitus, hiperadiposidad o síndrome metabólico entre otros factores, presentan una inflamación subcrónica que se denomina “metainflamación” y cuando se prolonga en el tiempo se aumenta el riesgo de cáncer de páncreas. (11)

Las citocinas proinflamatorias, incluidas TNF- $\alpha$ , IL-6 e IL-1 puede promover la metástasis al inducir EMT, así como la adquisición de rasgos similares a las células madre del cáncer (Sonic Hedgehog). Estos mecanismos, junto con la capacidad de NF- $\kappa$ B para activar otras vías oncogénicas, conducen a un desarrollo acelerado de PDAC. (8)

Por otro lado, cuando el PDAC avanza, las citocinas asociadas a la inflamación pueden alterar la inmunovigilancia de las células tumorales, aumentando las células inmunosupresoras como los linfocitos T reguladores y de este modo se cambia el ambiente hacia inmunosupresor promoviendo así la progresión del cáncer (8)

El mecanismo por el que el sistema inmunológico actúa contra el cáncer y posteriormente promueve la progresión del cáncer se denomina “inmunoedición del cáncer”. Dentro del tumor reside el estroma que observamos en la figura 7.(8)



**Fig7: Estroma.** Tejido compuesto por células sanas que rodea a las células tumorales en algunos tipos de cáncer. La cantidad de estroma es directamente proporcional a la agresividad de los tumores demoplásicos, como el de colon, mama, próstata y páncreas. (12) Mayoritariamente está formado por fibroblastos, células estrelladas pancreáticas y células inmunes infiltrantes, a esta área se le denomina “microambiente tumoral” en ella hay una respuesta inmune local que va a favorecer el desarrollo del cáncer, siendo al comienzo un ambiente inflamatorio que favorece el desarrollo de las mutaciones mencionadas anteriormente y posteriormente un ambiente inmunosupresor que cuando esta implantado el cáncer facilita su metástasis.(8)

Los fibroblastos asociados al cáncer (CAF) que producen la mayor parte de la matriz extracelular, pero también favorecen el crecimiento tumoral al secretar citocinas inflamatorias, principalmente IL-6, quimiocinas y ligandos de quimiocinas. (11)

## 4.2 ¿Cómo influyen estas citocinas en el desarrollo del cáncer?

A lo largo del texto he citado la participación de las citocinas en el proceso de desarrollo del cáncer, las principales citocinas implicadas son:

- IL-6: tiene un efecto protumorigénico, es secretada, tanto por las células tumorales, como por células inmunológicas. Se ha visto que puede actuar por estímulo autocrino y paracrino aumentando la migración e invasión de las células tumorales, así como la transición del epitelio mesenquimal. (11)
- TGF- $\beta$ : es secretada por macrófagos M2 y Th2 y tiene efectos antiinflamatorios e inmunosupresores (facilitando el crecimiento del tumor), sin embargo, junto a IL6 facilita la diferenciación de Th17 y la producción de IL 17. En condiciones fisiológicas, TGF- $\beta$  está implicada en el control de múltiples procesos biológicos como: angiogénesis, proliferación, diferenciación, migración y apoptosis celular. Sus efectos pueden ser diferentes en el cáncer, dependiendo de la etapa de la tumorigénesis. En las primeras etapas, puede actuar como molécula supresora, fundamentalmente inhibiendo la progresión del ciclo celular, pero en etapas posteriores, aumenta la invasión y la metástasis al inducir la transición epitelial a mesenquimatosa. Además, activa una quinasa que activa los mecanismos de señalización antiapoptóticos, de este modo, aunque la célula deba sufrir apoptosis, TGF- $\beta$  lo inhibe. (11)
- IL-10 es una potente citocina antiinflamatoria, es secretada por las células T reguladoras, aunque puede ser secretada por casi todas las células inmunitarias y células tumorales. Inhibe la señalización de NF- $\kappa$ B y permite la maduración y diferenciación celular, favoreciendo la inmunoevasión del cáncer. (11)
- TNF- $\alpha$ , normalmente participa en la inflamación sistémica y la fiebre. Es, tanto, una proteína transmembrana de tipo II, como una citoquina soluble. Sus funciones dependen de los receptores que activen, TNFR1 y TNFR2 que son activados por la forma soluble o por la transmembrana respectivamente. Una vez activados, desencadenan la apoptosis o la activación de NF- $\kappa$ B. En los neutrófilos induce la secreción de especies de oxígeno reactivo (ROS). (11)

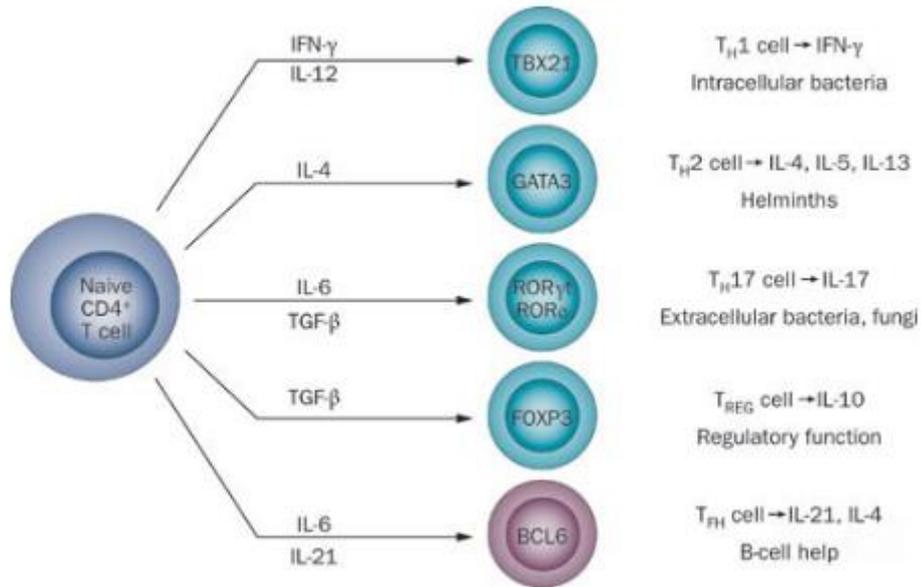
Participa en varios procesos carcinogénicos, en bajas concentraciones es la base de la promoción de tumores, y, junto con las ROS y las especies reactivas de nitrógeno pueden inducir al daño en el ADN. Por tanto, el efecto pro- o anti-tumoral depende también de la concentración local y su lugar de expresión. En el

PDAC, las células tumorales y las inmunitarias pueden producir TNF- $\alpha$ . Esto indica que las células PDAC están expuestas regularmente a sus estímulos autocrinos a través de la activación de NF- $\kappa$ B y de Sonic Hedgehog relacionadas con desarrollo de células embrionarias. (11)

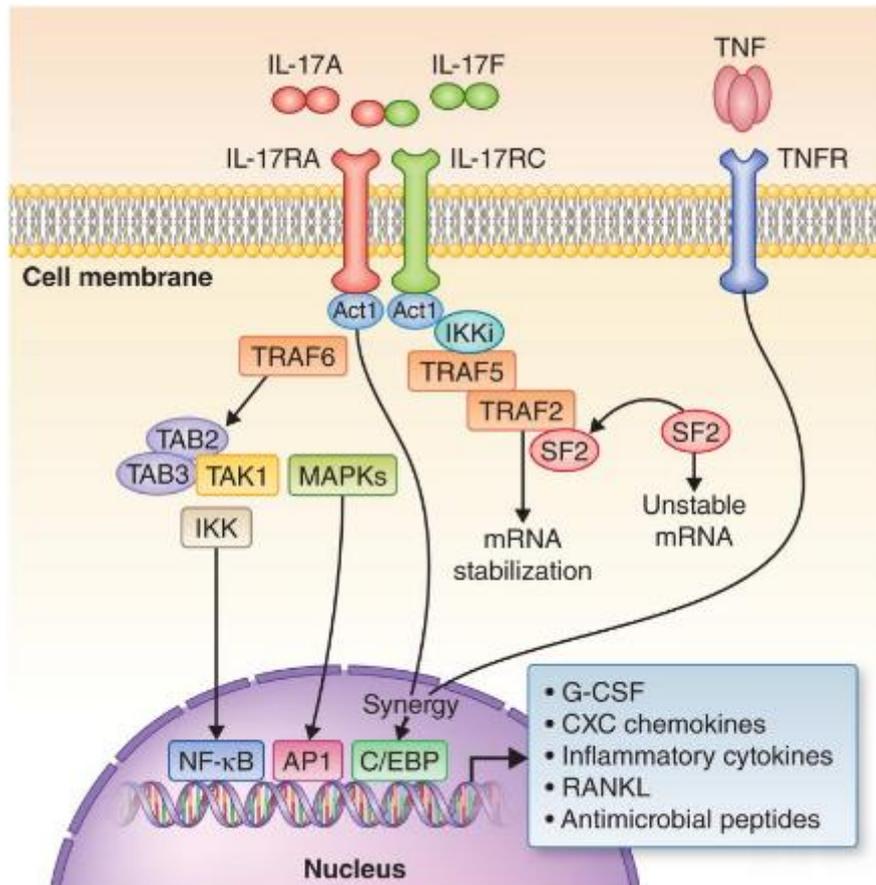
- IL-17, esta citocina induce la activación del NF- $\kappa$ B en diferentes células especialmente en macrófagos, recluta neutrófilos y coopera con otros factores inflamatorios para exacerbar la inflamación. (13)

Cuando el páncreas está inflamado, los macrófagos activados liberan citocinas para reclutar células TCD4+ que luego se diferencian en células Th17 para secretar IL-17A. La IL-17A promueve la expansión del estroma alrededor del tumor y acelera el inicio y la progresión de PanIN. Además, IL-17A puede estimular el mediador de pancreatitis REG3-beta en células epiteliales pancreáticas mutadas KrasG12D, promoviendo la metaplasia acinar-ductal y el desarrollo de PanIN. Se ha demostrado que pacientes en estadio estable y de remisión las Treg disminuyen y la IL-17A aumenta en sangre. Pero en pacientes en estado avanzado irresecable\*, las células Treg están elevadas y la IL-17A disminuye, esto se debe al cambio en el ambiente como se ve en la figura 8. (13)

\*Los cánceres **irresecables** incluyen los cánceres que aún no se han propagado a los ganglios linfáticos o a sitios distantes, pero que no se pueden extirpar con seguridad mediante hepatectomía parcial. Esto podría deberse a que: El **tumor** es demasiado grande como para extirparlo con seguridad.



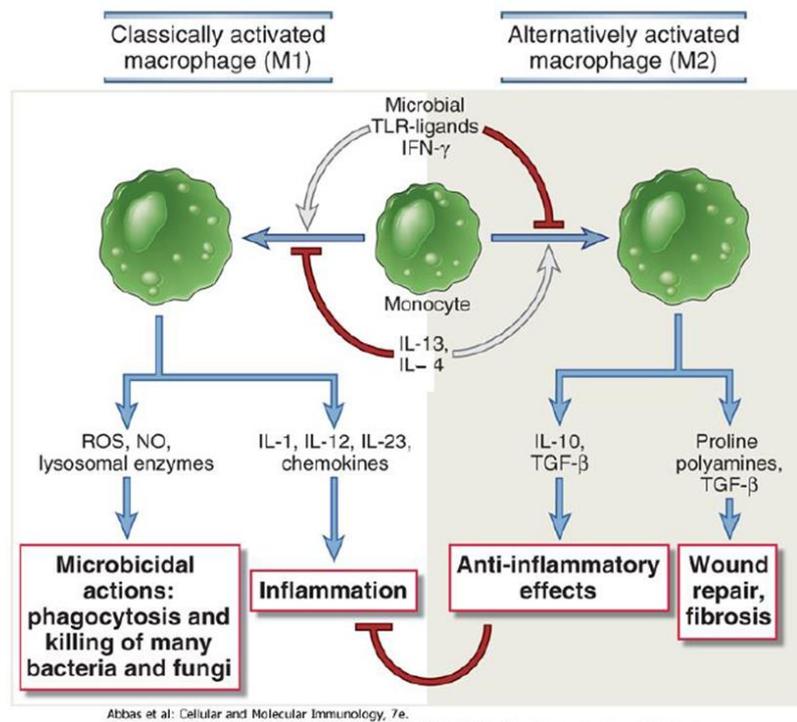
**Fig 8: Activación de la célula TCD4 (14).** En este esquema podemos ver la conversión de una TCD4 en diferentes Thelper en función del ambiente en el que se encuentre. Una célula presentadora de antígeno, le presenta el antígeno a una célula TCD4+, y si en el ambiente tenemos TGF- $\beta$  e IL-6 se convertirá en Th17, sin embargo, si solo hay TGF- $\beta$  se convertirá en una Treg, de este modo se entiende por qué cambian los niveles en sangre mencionados anteriormente. Al tener un microambiente inflamatorio tendremos Th17 que fomentará ese microambiente inflamatorio. Sin embargo, cuando este cambia a inmunosupresor, se producirán Treg que fomentarán el microambiente inmunosupresor facilitando el desarrollo del PDAC y la metástasis.



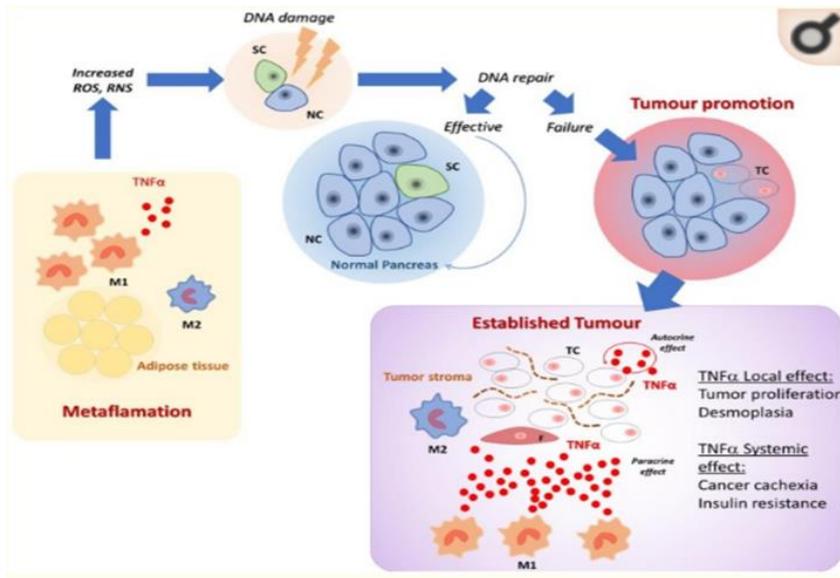
**Fig 9: Señalización del receptor de IL-17.** Tras la cascada de señalización se activa el NF- $\kappa$ B que conduce a la inducción de genes que codifican mediadores inflamatorios y quimiocinas específicas de neutrófilos y al liberarse las quimiocinas se produce una retroalimentación positiva para que se produzcan más Th17 (14)

Por otro lado, tenemos dos tipos de macrófagos, los macrófagos activados clásicamente (M1) inducidos por  $\text{IFN-}\gamma$  y/o  $\text{TNF-}\alpha$ , liberan citocinas proinflamatorias y tienen funciones bactericidas, mientras que los macrófagos activados alternativamente (M2), están involucrados en la resolución de la inflamación y la curación del tejido y liberan IL-10 que es inmunosupresora. (11,16)

En el estadio temprano de PDAC hay mayor cantidad de M1 promoviendo la actividad antitumoral, pero cuando avanza la enfermedad aumentan los M2, contribuyendo a la inmunoección tumoral.



**Fig. 10: Activación alternativa de M1 a M2 (17).** Se sabe que interviene la IL-13 que es capaz de producir el cambio de M1 a M2 activados alternativamente. Los M2 pueden impulsar la fibrogénesis y al tumorigénesis pancreática. De este modo cuando se produce el cambio a M2 se contribuye al ambiente inmunosupresor. (11,16)



**Fig. 11: Proceso de inflamación y su relación con el establecimiento del tumor.** En este proceso vemos como los macrófagos tipo 1 secretan citocinas inflamatorias, se produce un daño en el ADN, como serían las mutaciones mencionadas anteriormente y al no solucionarse estas mutaciones se promueve el establecimiento del tumor. Una vez el tumor avanza el microambiente cambiará favoreciendo su desarrollo

En resumen, el cáncer de páncreas es un proceso que comienzan con la metaplasia acinar ductal (ADM) que es iniciado por citocinas inflamatorias secretadas por macrófagos. La ADM es reversible y solo después de la mutación oncogénica de KRAS las células pancreáticas progresan a células preneoplásicas PanIN. Posteriormente, de forma consecutiva, comienzan a mutar CDKN2A, TP53 y SMAD4, que junto con el proceso inflamatorio y el posterior cambio del microambiente tumoral de inflamatorio a inmunosupresor hace que los PanIN progresen en los diferentes estadios hasta convertirse en PDAC.

### 4.3 Posibles terapias

En la actualidad, existen diferentes tipos de inmunoterapias, en este trabajo abordaremos las descritas en la Tabla 2. (16)

<b>Terapia</b>	<b>Definición</b>
<b>Anticuerpos monoclonales</b>	Se trata de anticuerpos creados en laboratorio dirigidos contra una molécula específica con el fin de marcarla y que posteriormente el sistema inmune actúe contra esa molécula
<b>Bloqueo de los puntos de control</b>	Los puntos de control intervienen en la respuesta inmune de las células T y son útiles para controlar los procesos de autoinmunidad
<b>CAR-T</b>	Se utilizan células T del paciente para modificarlas genéticamente, con el fin de que se dirijan a antígenos específicos para provocar una actividad citotóxica

Tabla 2: Tipos de inmunoterapias (3)

#### 4.3.1 Anticuerpos monoclonales

Los diferentes anticuerpos monoclonales que veremos son los descritos en la tabla 3

<b>Antígeno</b>	<b>Nombre</b>
<b>IL-17</b>	Secukinumab
<b>IL-13</b>	Lebrikizumab
<b>TGF- <math>\beta</math></b>	Galunisertib
<b>TNF-<math>\alpha</math></b>	infliximab o etanercept

Tabla 3: Anticuerpos monoclonales (11, 17, 19, 20)

## **IL-17**

IL 17 El bloqueo farmacológico de la vía de señalización de la IL-17 puede ejercer un efecto parcial sobre el tratamiento de la PA. El anticuerpo anti-IL-17A puede reducir el efecto de la IL-17 sobre las células estrelladas pancreáticas y atenuar la fibrosis pancreática; puede bloquear el inicio del PC producida por KRAS, pero no interfiere en la progresión del PC. Sin embargo, el anticuerpo anti-IL-17RB puede bloquear la metástasis tumoral y mejorar la tasa de supervivencia en ratones con xenotrasplante de PC mostrando un buen potencial terapéutico. (13)

## **IL-13**

La neutralización de IL-13 con un anticuerpo condujo a una disminución drástica (casi el 80%) de las estructuras pancreáticas anormales y una disminución del 30% de los macrófagos totales en el páncreas. La reacción desmoplásica del PDAC se caracteriza por aumentos de la deposición de colágenos y fibronectina. Al neutralizar la IL-13 hace que se prevenga la presencia de macrófagos M2 en PanIN conduce a una disminución de fibrosis y células estrelladas. Al disminuir la presencia de estos macrófagos también disminuye la presencia de citocinas inmunosupresoras y se frena la progresión del cáncer. (16)

## **TGF- $\beta$**

TGF- $\beta$  induce a las células Treg y reprime varias funciones de las células efectoras. El Galunisertib, un inhibidor de TGF- $\beta$ , se ha probado en pacientes con PDAC irresecable. En un ensayo aleatorizado de fase II se vio que el galunisertib en combinación con gemcitabina (citotóxico) mejoraba la supervivencia general frente a gemcitabina sola. Se están desarrollando inhibidores de la vía del TGF- $\beta$  de nueva generación como los inhibidores del TGF- $\beta$ R. Sin embargo, los resultados clínicos son diversos y es difícil de predecir su eficacia. Se necesitan más estudios para aclarar la utilidad de TGF- $\beta$  en el tratamiento de PDAC. (21)

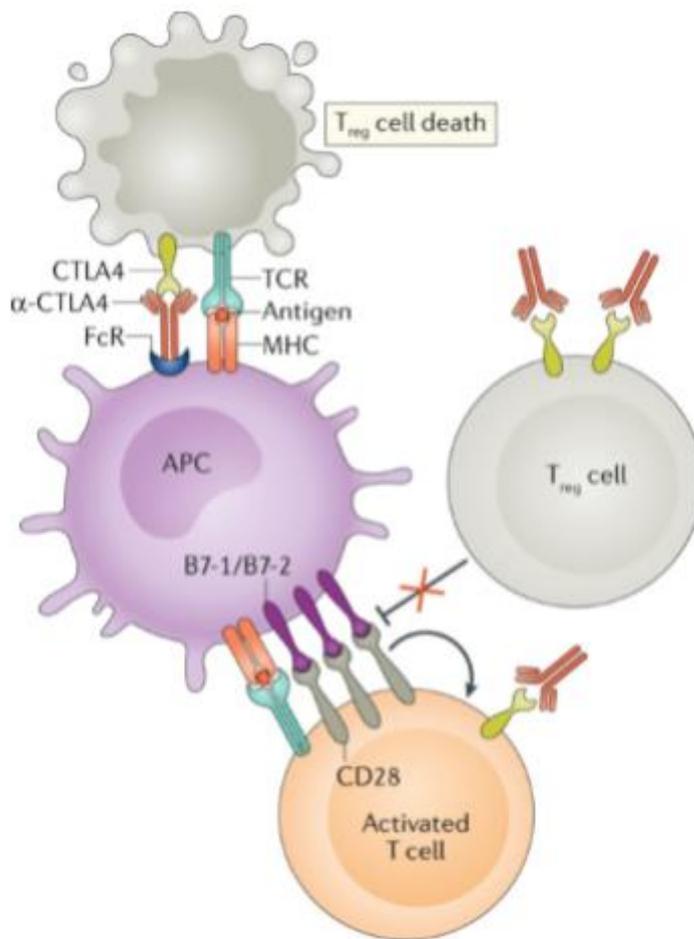
## **TNF- $\alpha$**

Los efectos del tratamiento con anticuerpos anti-TNF- $\alpha$  son heterogéneos. In vitro reducen la viabilidad de las células, disminuyen el número de elementos celulares y la cantidad de colágeno en el estroma. In vivo, los ratones tratados con infliximab o etanercept (anti-TNF $\alpha$ ) mostraron reducción del crecimiento tumoral y de las metástasis hepáticas. Sin embargo, Infliximab mostró una propiedad antitumoral más fuerte que Etanercept, especialmente in vivo. (11)

En ensayos clínicos aleatorizado y con PDAC irresecable se observó que la terapia con anti-TNF- $\alpha$  es segura, pero no proporciona ningún beneficio clínico en cuanto a la supervivencia de los pacientes con PDAC irresecable. (11)

### **4.3.2 Bloqueo de los puntos de control**

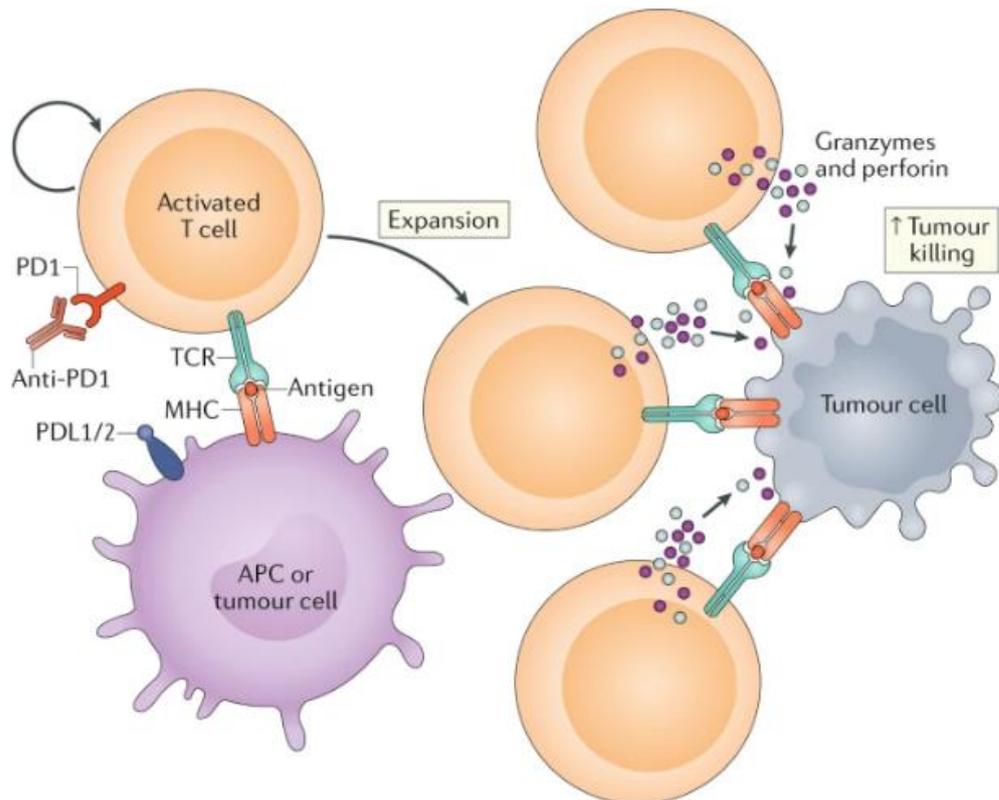
En la inmunidad adaptativa las células B reconocen antígenos y se los presentan a las células T por medio de las moléculas MHC de la superficie celular por el proceso de presentación de antígenos. Hay dos tipos de células T las CD4 y las CD8. Las células T CD4+ detectan el antígeno con moléculas del MHC de clase II y producen citocinas quimiotácticas, proinflamatorias e inmunoprotectoras. Las células T CD8+ detecta el antígeno con moléculas MHC clase I y realizan acciones citotóxicas directas que destruyen células infectadas o neoplásicas. En la superficie celular se encuentra el receptor de células T (TCR) que reconoce los antígenos y de este modo se produce la activación y proliferación de las células T, pero se necesita una señal adicional que se denomina coestimulación y sería la activación del receptor B7. Sin embargo, se ha visto que hay moléculas que inhiben la activación de B7 como la Proteína 4 asociada a linfocitos T citotóxicos (CTLA4) y la muerte programada 1 (PD1), se inducen durante las respuestas inmunitarias y representan un “punto de control” para amortiguar la hiperactivación de las células T. (21)



**Fig. 13: Efecto de los anticuerpos bloqueadores de CTLA4.** CTLA4 se asemeja mucho a CD28, de este modo, CTLA4 se une a B7 e impide que CD28 cumpla su papel para poder activar la célula T, por tanto, si se bloquea este punto de control con Ipilimumab, CD28 puede unirse a su receptor B7 y activar a la célula TCD8+. (21)

PD1 actúa cuando las células T ya están activadas y puede inducir un estado de disfunción de las células T llamado **“agotamiento de las células T”**. Cuando la Célula T ya está activada, y reconoce a la célula con el antígeno para destruirlo, si presenta el ligando de PD1, inducido por las Treg que se une a este e impide que la célula T realice su función citotóxica. (21)

Las células tumorales utilizan este mecanismo y aumentan la expresión de ligandos de PD1 para inducir el agotamiento de las células T y favorecen el microambiente tumoral inmunosupresor facilitando el crecimiento del tumor. (21)



**Fig. 14: Mecanismos de inhibición de PD1.** Al bloquear PD1, con un anticuerpo como nivolumab, vemos que la célula T puede reconocer el antígeno y ejercer su función citotóxica (21)

La administración combinada con anticuerpos anti-IL17/IL17R y PD-1 o CTLA4 reduce notablemente el tamaño de los tumores pancreáticos al activar las células T CD8+. (13)

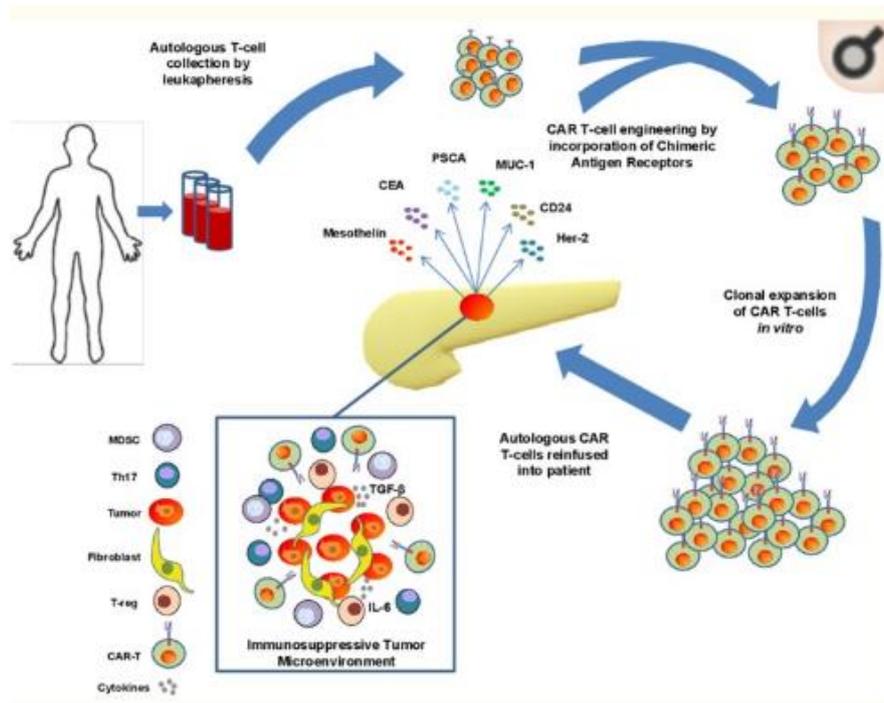
Podemos ver ensayos clínicos en desarrollo en el siguiente enlace:

<https://www.clinicaltrials.gov/ct2/results?cond=Pancreas+Cancer&term=&cntry=&state=&city=&dist=>

### 4.3.3 Terapia CAR-T

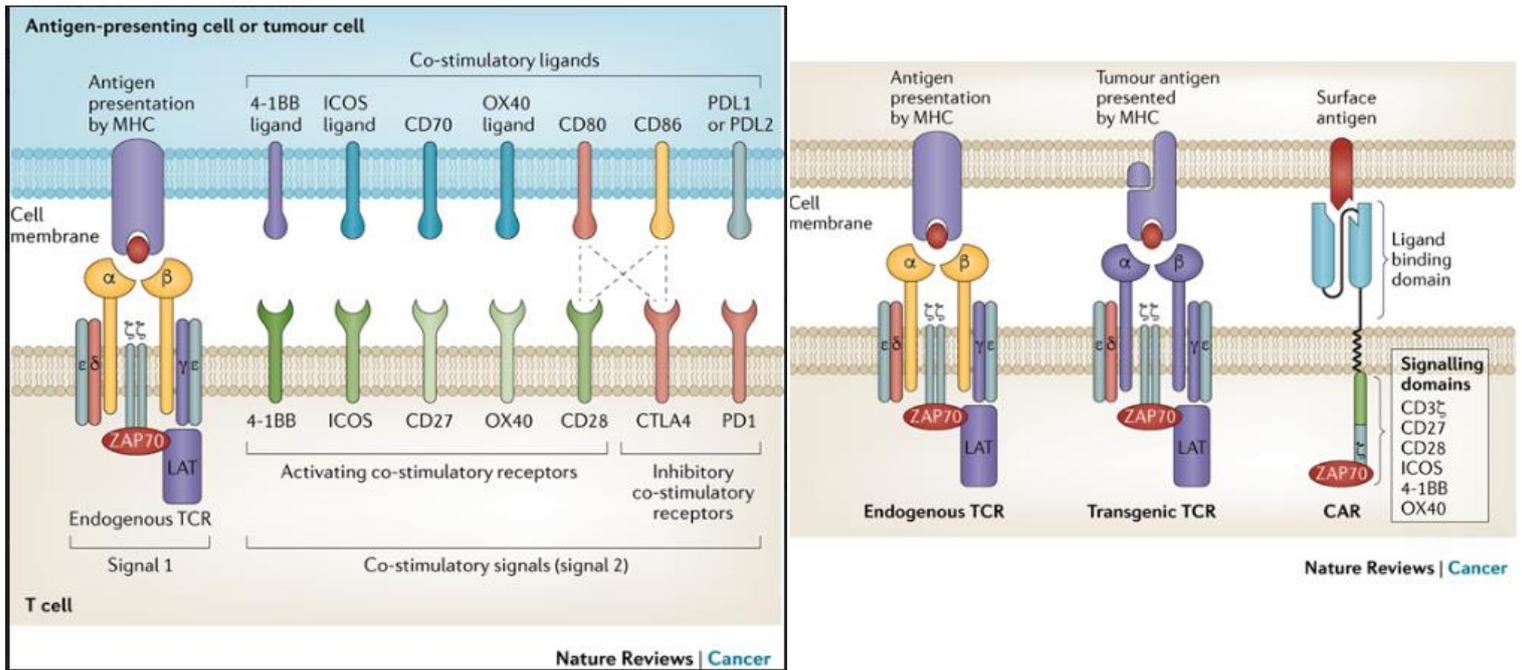
La terapia de células T con receptor de antígeno quimérico (CAR) es una opción terapéutica emergente para el cáncer de páncreas. Esta terapia utiliza células T modificadas genéticamente que se redirigen a antígenos específicos para provocar una potente actividad citotóxica. (22)

Las células T se obtienen de la sangre periférica del paciente mediante leucofóresis y se redirigen a un antígeno específico a través de la expresión viral de un receptor quimérico.



**Fig. 16: Proceso de obtención de células T-CAR.** Se obtienen de sangre periférica a través de leucofóresis y se redirigen a un antígeno específico a través de la expresión viral de un receptor quimérico. Una vez que se generan las células CAR T y se someten a expansión clonal en cultivo, se pueden infundir a los pacientes. (22)

Las CAR cuando se incorporan a las células T imitan la activación de TCR y redirigen la especificidad y la función efectora hacia un antígeno, con la ventaja de promover el reconocimiento de sin la mediación por MHC como se ve en las figuras 15a y 15b. (22)

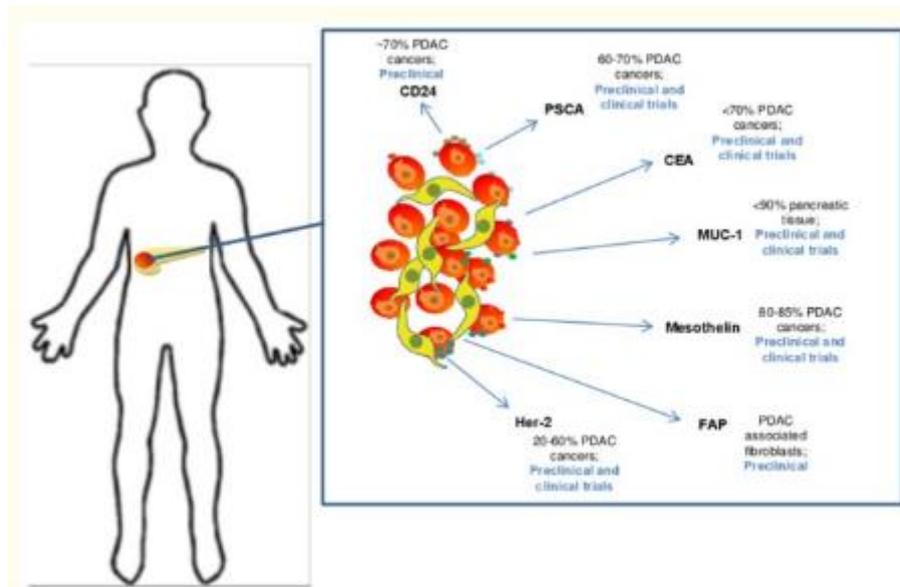


**Fig. 15a Relación de receptores para la activación de la célula T. Fig. 15b: Receptor de las células CAR T(23).** Estos receptores están formados por una región responsable de reconocer al antígeno celular que corresponde a la región variable de un anticuerpo, seguido de una serie de dominios coestimuladores de células T citotóxicas. Una de las principales ventajas de las CAR-T es la presencia de los dominios coestimuladores necesarios activar la célula T y por tanto solamente es necesario el reconocimiento del antígeno para llevar a cabo la activación.

Para poder maximizar la expansión in vivo y disminuir los linfocitos inhibidores los pacientes reciben un régimen de pre-acondicionamiento de quimioterapia para la linfodepleción antes de la infusión de células CAR-T. (22)

Aunque la terapia produce una buena eficacia, existe el riesgo de efectos adversos graves. Concretamente, el síndrome de liberación de citoquinas y la toxicidad neurológica se han observado en pacientes. (22)

Varios estudios demuestran la eficacia de las plataformas de terapia con células CAR-T en modelos preclínicos de cáncer de páncreas. (22)



**Fig. 17: Antígenos diana candidatos para la terapia con T CAR en el PDAC.** Se están estudiando tanto en ensayos clínicos como preclínicos. Estos antígenos se expresan en diferentes niveles en las células PDAC e incluyen CD24, antígeno de células madre de próstata (PSCA), CEA, MUC-1, mesotelina, FAP y Her-2. Pero, al probar estos antígenos diana se han observado efectos adversos en tejidos sanos como puede ser caquexia, toxicidad ósea letal, entre otras cosas. (22)

La terapia T CAR tiene una nueva diana prometedora, el CEACAM7, es una proteína diana específica para las células del cáncer de páncreas y no ha producido efectos tóxicos en tejido sano en un modelo de etapa tardía. CEACAM7 por inmunotinción es indetectable en tejido normal, pero si es detectable en muestras de PDAC, por ello es una buena molécula diana. (23)

CEACAM7 es miembro del grupo CEA que suelen estar alteradas en neoplasias malignas pero la función de CEACAM7 es desconocida. La expresión de CEACAM7 está restringida a las células ductales pancreáticas y las células epiteliales del colon adulto. En el estudio se trasplantó a ratones con injertos de pacientes con PDAC con enfermedad metastásica en etapa tardía, de alta agresividad, crecimiento rápido y metástasis extensas. En el ratón se controlaron hasta que alcanzaron un tamaño  $> 0.5$  cm cúbicos y se desarrollaron metástasis detectables para modelar con precisión la presentación de la enfermedad en etapa tardía en pacientes en etapa tardía. En esta etapa se les administró una dosis única de  $5 \times 10^6$  células CAR T contra CEACAM7 en 2 de los cinco animales que recibieron las células se observó una regresión completa de los tumores primarios y las metástasis hepáticas. Por tanto, estos resultados demuestran que las células T CAR son capaces de mediar la regresión completa de tumores grandes y metástasis en un modelo de xenoinjerto metastásico y agresivo con una representación similar a la

enfermedad humana en etapa tardía. Sin embargo, hay que destacar que los modelos de xenoinjerto de PDAC humano en animales inmunodeficientes no modelan la TME inmunosupresora. Por tanto, es posible que el uso clínico de células TCAR contra CEACAM7 deba complementarse con agentes dirigidos a la TME. (24)

## **5.Conclusiones**

- 1) Los PDAC están precedidos de neoplasias intraepiteliales pancreáticas (PanIN) y neoplasias mucinosas papilares intraductales (IPMN).
- 2) La señalización oncogénica de KRAS es fundamental para el comienzo del desarrollo de PDAC.
- 3) El microambiente inflamatorio que existe en PDAC, las citocinas inflamatorias y la señalización KRAS promueve el inicio y la progresión de PDAC.
- 4) Citocinas como IL6, IL13, IL 17, TNF- $\alpha$  y TGF- $\beta$  participan en el desarrollo del PDAC.
- 5) Las citocinas generadas en el microambiente inflamatorio por macrófagos del tipo M1 hacen que comience la metaplasia acinar ductal.
- 6) La ADM es reversible y es necesaria la mutación oncogénica de KRAS de las células pancreáticas para progresar a células preneoplásicas PanIN.
- 7) Son necesarias las mutaciones de forma consecutiva de CDKN2A, TP53 y SMAD4 que, junto con el proceso inflamatorio y el posterior cambio del microambiente tumoral de inflamatorio a inmunosupresor liderados por Treg y Macrófagos M2, hace que los PanIN progresen en los diferentes estadios hasta convertirse en PDAC.
- 8) La utilización de anticuerpos monoclonales dirigidos a neutralizar a las citosinas relacionadas con el PDAC, aunque pueden influir en algunos procesos, por ahora no han podido eliminar el PDAC.
- 9) El uso de células T CAR dirigidas al marcador tumoral CEACAM7 son capaces de mediar la regresión completa de tumores grandes y metástasis en un modelo de xenoinjerto metastásico y agresivo con una representación similar a la enfermedad humana en etapa tardía.

## 6. Referencias.

1. Células del Sistema Inmune de José Antonio Borreguero Rolo [Internet]. Cienciasnaturales.es. [citado el 1 de junio de 2021]. Disponible en: <https://cienciasnaturales.es/sistemainmunecelulas.html>
2. Filella X, Molina R, Ballesta AM. Estructura y función de las citocinas. *Med Integr.* 2002;39(2):63–71.
3. Vasquez L, Castro D, León J de, Beltrán B. Inmunoterapia en cáncer: de los inicios al premio Nobel. *Rev Peru Med Exp Salud Publica.* 2020; 37 (1): 115–21.
4. Marinovic M. MA. Inflamación, daño y reparación en enfermedades reumáticas. *Medwave* [Internet]. 2008;8(6). Disponible en: <http://dx.doi.org/10.5867/medwave.2008.06.502>
5. Francisco Sánchez Madrid, Pilar Martín. Avizores del Sistema Inmune, Guardianes del Organismo. *Revista Anales RANF* [Internet] 2011. Disponible en: <http://anales.ranf.com/ojs/2012/01/09.htm>
6. Ehu.eus. [citado el 1 de junio de 2021]. Disponible en: [http://www.ehu.eus/immunologia/iwiki/?2\\_1\\_Inmunidad\\_innata\\_frente\\_a\\_bacterias\\_extracelulares](http://www.ehu.eus/immunologia/iwiki/?2_1_Inmunidad_innata_frente_a_bacterias_extracelulares)
7. Morrison AH, Byrne KT, Vonderheide RH. Immunotherapy and Prevention of Pancreatic Cancer. *Trends Cancer.* 2018 Jun;4(6):418-428. doi: 10.1016/j.trecan.2018.04.001. Epub 2018 Apr 30. PMID: 29860986; PMCID: PMC6028935.
8. Grant TJ, Hua K, Singh A. Molecular Pathogenesis of Pancreatic Cancer. *Prog Mol Biol Transl Sci.* 2016;144:241-275. doi: 10.1016/bs.pmbts.2016.09.008. Epub 2016 Oct 15. PMID: 27865459; PMCID: PMC6260831.
9. McGuigan A, Kelly P, Turkington RC, Jones C, Coleman HG, McCain RS. Pancreatic cancer: A review of clinical diagnosis, epidemiology, treatment and outcomes. *World J Gastroenterol.* 2018 Nov 21;24(43):4846-4861. doi: 10.3748/wjg.v24.i43.4846. PMID: 30487695; PMCID: PMC6250924.
10. Artandi SE. Telomeres, telomerase, and human disease. *N Engl J Med.* 2006 Sep 21;355(12):1195-7. doi: 10.1056/NEJMp068187. PMID: 16990382.
11. Padoan A, Plebani M, Basso D. Inflammation and Pancreatic Cancer: Focus on Metabolism, Cytokines, and Immunity. *Int J Mol Sci.* 2019 Feb 5;20(3):676. doi: 10.3390/ijms20030676. PMID: 30764482; PMCID: PMC6387440.
12. Jano Medicina y Humanidades. Elsevier Espana S. A. Las células del estroma favorecen la expansión del cáncer - JANO.es - ELSEVIER [Internet]. Jano.es. [citado el 1 de junio de 2021]. Disponible en: <https://www.jano.es/noticia-las-celulas-del-estroma-favorecen-7361>
13. F, Guo F, Zhu Y, Zhou Q, Li T, Xiang H, Shang D. IL-17 in pancreatic disease: pathogenesis and pharmacotherapy. *Am J Cancer Res.* 2020 Nov 1;10(11):3551-3564. PMID: 33294254; PMCID: PMC7716161.

14. Follicular helper T cells in immunity and systemic autoimmunity Joseph E. Craft Nature Reviews Rheumatology. 2012;8:337–347.
15. Zenobia C, Hajishengallis G. Basic biology and role of interleukin-17 in immunity and inflammation. Periodontol 2000. 2015 Oct;69(1):142-59. doi: 10.1111/prd.12083. PMID: 26252407; PMCID: PMC4530463.
16. Liou GY, Bastea L, Fleming A, Döppler H, Edenfield BH, Dawson DW, Zhang L, Bardeesy N, Storz P. The Presence of Interleukin-13 at Pancreatic ADM/PanIN Lesions Alters Macrophage Populations and Mediates Pancreatic Tumorigenesis. Cell Rep. 2017 May 16;19(7):1322-1333. doi: 10.1016/j.celrep.2017.04.052. PMID: 28514653; PMCID: PMC5510483.
17. Abbas AK, Lichtman AH, Pillai S. Cellular and molecular immunology: WITH student consult online access. 7a ed. Filadelfia, PA, Estados Unidos de América: Saunders; 2011.
18. Krueger JG, Wharton KA Jr, Schlitt T, Suprun M, Torene RI, Jiang X, Wang CQ, Fuentes-Duculan J, Hartmann N, Peters T, Koroleva I, Hillenbrand R, Letzkus M, Yu X, Li Y, Glueck A, Hasselberg A, Flannery B, Suárez-Fariñas M, Hueber W. IL-17A inhibition by secukinumab induces early clinical, histopathologic, and molecular resolution of psoriasis. J Allergy Clin Immunol. 2019 Sep;144(5):750-763. doi: 10.1016/j.jaci.2019.04.029. Epub 2019 May 24. PMID: 31129129.
19. Bagnasco D, Ferrando M, Varricchi G, Passalacqua G, Canonica GW. A Critical Evaluation of Anti-IL-13 and Anti-IL-4 Strategies in Severe Asthma. Int Arch Allergy Immunol. 2016;170(2):122-31. doi: 10.1159/000447692. Epub 2016 Aug 3. PMID: 27637004.
20. Ho WJ, Jaffee EM, Zheng L. The tumour microenvironment in pancreatic cancer - clinical challenges and opportunities. Nat Rev Clin Oncol. 2020 Sep;17(9):527-540. doi: 10.1038/s41571-020-0363-5. Epub 2020 May 12. PMID: 32398706; PMCID: PMC7442729.
21. Waldman AD, Fritz JM, Lenardo MJ. A guide to cancer immunotherapy: from T cell basic science to clinical practice. Nat Rev Immunol. 2020;20(11):651–68.
22. Drugtargetreview.com. [citado el 1 de junio de 2021]. Disponible en: <https://www.drugtargetreview.com/news/81454/car-t-cells-targeting-the-ceacam7-protein-show-promise-in-pancreatic-cancer/>
23. Fesnak CHJ, Levine BL. Engineered T cells: the promise and challenges of cancer immunotherapy Andrew D. Nature Reviews Cancer. 2016;16:566–581.
24. Raj D, Nikolaidi M, Garces I, Lorzio D, Castro NM, Caiafa SG, Moore K, Brown NF, Kocher HM, Duan X, Nelson BH, Lemoine NR, Marshall JF. CEACAM7 Is an Effective Target for CAR T-cell Therapy of Pancreatic Ductal Adenocarcinoma. Clin Cancer Res. 2021 Mar 1;27(5):1538-1552. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-19-2163. Epub 2021 Jan 21. PMID: 33479048.