



# UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

---

## FACULTAD DE CIENCIAS

MODELO DE ASOCIACIÓN MÚLTIPLE DE LA  
CONCENTRACIÓN PLASMÁTICA DE CITOCINAS CON  
LAS CARACTERÍSTICAS CLÍNICO-PATOLÓGICAS Y DE  
RESPUESTA EN PACIENTES CON CÁNCER DE  
PULMÓN DE CÉLULAS NO PEQUEÑAS (CPCNP)  
TRATADOS CON DOCETAXEL COMO MONOTERAPIA  
O EN COMBINACIÓN CON PEMBROLIZUMAB

# TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

**BIÓLOGO**

PRESENTA

**EDUARDO JOSUÉ MANRIQUE PERERA**

TUTOR PRINCIPAL DE TESIS

BIÓL. EDGAR MONTES SERVÍN

UNIDAD FUNCIONAL DE ONCOLOGÍA TORÁCICA Y  
LABORATORIO DE MEDICINA PERSONALIZADA  
INSTITUTO NACIONAL DE CANCEROLOGÍA

CIUDAD UNIVERSITARIA, CD. MX.

**2022**





Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**

**Tesis Digitales**

**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**

**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## **1. Datos del alumno**

Eduardo Josué Manrique Perera  
Universidad Nacional Autónoma de México  
Facultad de Ciencias  
Biología  
312277790

## **2. Datos del Asesor**

Biól. Edgar Montes Servín

## **3. Datos del Sinodal 1**

Dra. Patricia Cano Sánchez

## **4. Datos del Sinodal 2**

Dra. Paula Licon Limón

## **5. Datos del Sinodal 3**

Dra. Gabriela Concepción Alamilla García

## **6. Datos del Sinodal 4**

Dr. Rodrigo González Barrios de la Parra

## **7. Datos de la tesis.**

Modelo de asociación múltiple de la concentración plasmática de citocinas con las características clínico-patológicas y de respuesta en pacientes con Cáncer de Pulmón de Células No Pequeñas (CPCNP) tratados con Docetaxel como monoterapia o en combinación con Pembrolizumab.

192 páginas.

2022.

## **8. Palabras clave.**

“Citocinas”, “Cáncer de Pulmón de Células No Pequeñas (CPCNP)”, “Minería de datos”, “Inmunoterapia”, “Quimioterapia”, “Pembrolizumab”, “Docetaxel”, “Supervivencia Libre de Progresión”, “Sobrevida Global”, “Inmunoensayo Basado en Perlas”, “Características clínicas y patológicas”, “Biomarcador tumoral”.

## Agradecimientos

---

Al Instituto Nacional de Cancerología por brindar las instalaciones y material necesario para la realización de este trabajo.

Al Biól. Edgar Montes Servín por su conocimiento y soporte constante durante cada experimento y análisis efectuado, así como por su amistad, de total confianza y apoyo durante momentos que pudieron complicar la realización de este trabajo.

A Lolita, por su constante apoyo, cuidado, motivación y cariño desde aquél lejano miércoles de agosto de 2016 en el laboratorio de Procariontes, a los cuales debo la consecución de este trabajo y, yendo mucho más allá, cada uno de los aprendizajes que hemos tenido la fortuna de adquirir, por acierto y por error, en cada uno de los salones y pasillos de la facultad, en cada kilómetro recorrido durante las prácticas de campo, en cada rincón de la ciudad, en cada alegría, tristeza y tropiezo, de día a noche y de enero a diciembre.

A Susan, por batallar para asegurar mi bienestar todas las semanas durante 17 años que pudimos coincidir en este mundo, faltándome a día de hoy casi 10 años más de esa risa y presencia que llenaron aquél espacio en el segundo piso de una casa en la colonia Once Mártires, donde cada sábado y domingo jugábamos y crecíamos, tal vez uno más que otro.

Gracias Susan y Lola, por enseñarme que existen seres maravillosos por los cuales vale la pena luchar para obtener un mundo mejor. No podría vivir con el remordimiento de no hacer explícito el honor y reconocimiento que a ustedes debo, no tanto por “una tesis”, sino por todo lo que hicieron por mí para que haya podido llegar hasta aquí y por hacerme escribir mi eterno agradecimiento hacia ustedes en una página de un documento público que probablemente sólo yo revisaré en un futuro, que por más pena que me dé hacerlo dada la casualidad de que alguien se pueda detener a chismear en esto (saludos), me servirá como recordatorio del camino a seguir en momentos complicados.

# Índice

|                                                                                          |           |
|------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>Agradecimientos</b> .....                                                             | <b>3</b>  |
| <b>Índice</b> .....                                                                      | <b>4</b>  |
| <b>Resumen</b> .....                                                                     | <b>7</b>  |
| <b>Introducción</b> .....                                                                | <b>8</b>  |
| <b>I. Sistema inmune</b> .....                                                           | <b>8</b>  |
| Línea mieloide y respuesta inmune innata .....                                           | 9         |
| Línea linfoide y respuesta inmune adaptativa.....                                        | 12        |
| Linfocitos B .....                                                                       | 12        |
| Linfocitos T .....                                                                       | 14        |
| Células asesinas naturales (NK) .....                                                    | 15        |
| Maduración y activación de linfocitos T y B .....                                        | 15        |
| <b>II. Inflamación</b> .....                                                             | <b>17</b> |
| <b>III. Citocinas</b> .....                                                              | <b>18</b> |
| Interleucinas (IL) .....                                                                 | 19        |
| Factores de crecimiento .....                                                            | 19        |
| Factores Estimulantes de Colonias (CSF) .....                                            | 19        |
| Factor de Necrosis Tumoral (TNF) .....                                                   | 20        |
| Interferones (IFN).....                                                                  | 20        |
| Quimiocinas (C, CC, CXC, CX <sub>3</sub> C).....                                         | 20        |
| <b>III. Cáncer</b> .....                                                                 | <b>21</b> |
| Señalización de proliferación continua.....                                              | 21        |
| Evasión de supresores de crecimiento .....                                               | 22        |
| Resistencia a la muerte celular .....                                                    | 23        |
| Inmortalidad replicativa.....                                                            | 27        |
| Inducción de la angiogénesis .....                                                       | 27        |
| Capacidad de eludir el reconocimiento del sistema inmune y promover la inflamación ..... | 29        |
| Reprogramación del metabolismo energético .....                                          | 32        |
| Capacidad de invadir y generar metástasis .....                                          | 32        |
| Inestabilidad genómica .....                                                             | 34        |
| Clasificación histológica del cáncer.....                                                | 35        |
| <b>IV. Cáncer de pulmón (CP)</b> .....                                                   | <b>35</b> |
| Cáncer de pulmón de células no pequeñas (CPCNP).....                                     | 37        |
| <b>V. Principales factores etiológicos en CPCNP</b> .....                                | <b>38</b> |
| Tabaquismo.....                                                                          | 38        |
| Humo de leña.....                                                                        | 38        |
| Asbesto.....                                                                             | 39        |
| Radón .....                                                                              | 39        |
| Edad, factores hereditarios y genéticos .....                                            | 39        |
| Contaminación .....                                                                      | 39        |
| Consumo de alcohol.....                                                                  | 39        |
| <b>VI. Tratamientos en CPCNP</b> .....                                                   | <b>40</b> |
| Cirugía .....                                                                            | 41        |
| Radioterapia.....                                                                        | 42        |
| Quimioterapia .....                                                                      | 42        |
| Docetaxel .....                                                                          | 43        |
| Terapias dirigidas: inmunoterapia .....                                                  | 44        |
| Pembrolizumab.....                                                                       | 45        |
| <b>Antecedentes</b> .....                                                                | <b>46</b> |
| Herbst, R. S. et al. (2016). .....                                                       | 46        |

|                                                                                                                                                                                                                                                                      |            |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|
| Barrera, L. et al. (2015) .....                                                                                                                                                                                                                                      | 46         |
| Arrieta-Rodríguez, O. G. et al. (2020). .....                                                                                                                                                                                                                        | 47         |
| <b>Justificación</b> .....                                                                                                                                                                                                                                           | <b>48</b>  |
| <b>Hipótesis</b> .....                                                                                                                                                                                                                                               | <b>49</b>  |
| <b>Objetivos</b> .....                                                                                                                                                                                                                                               | <b>50</b>  |
| <b>Objetivo general</b> .....                                                                                                                                                                                                                                        | <b>50</b>  |
| <b>Objetivos específicos</b> .....                                                                                                                                                                                                                                   | <b>50</b>  |
| <b>Metodología</b> .....                                                                                                                                                                                                                                             | <b>51</b>  |
| <b>Diseño del estudio</b> .....                                                                                                                                                                                                                                      | <b>51</b>  |
| Criterios de inclusión .....                                                                                                                                                                                                                                         | 52         |
| Criterios de exclusión.....                                                                                                                                                                                                                                          | 54         |
| Criterios de eliminación .....                                                                                                                                                                                                                                       | 55         |
| Recopilación de datos clínico-patológicos .....                                                                                                                                                                                                                      | 57         |
| <b>Metodología experimental</b> .....                                                                                                                                                                                                                                | <b>57</b>  |
| Aislamiento de plasma de sangre periférica.....                                                                                                                                                                                                                      | 57         |
| Inmunoensayo basado en perlas (ensayo de cuantificación múltiple de analitos).....                                                                                                                                                                                   | 58         |
| <b>Valores referenciales de biometría hemática</b> .....                                                                                                                                                                                                             | <b>61</b>  |
| <b>Análisis estadístico</b> .....                                                                                                                                                                                                                                    | <b>62</b>  |
| <b>Pruebas estadísticas</b> .....                                                                                                                                                                                                                                    | <b>62</b>  |
| <b>Análisis por minería de datos</b> .....                                                                                                                                                                                                                           | <b>63</b>  |
| <b>Resultados</b> .....                                                                                                                                                                                                                                              | <b>65</b>  |
| <b>Características clínico-patológicas del total de pacientes y por grupo de tratamiento</b> .....                                                                                                                                                                   | <b>65</b>  |
| <b>Valores de biometría hemática por grupo de tratamiento y toma de muestra sanguínea</b> .....                                                                                                                                                                      | <b>67</b>  |
| <b>Curvas de concentración de las citocinas analizadas</b> .....                                                                                                                                                                                                     | <b>69</b>  |
| <b>Comparación de los valores de concentración de las citocinas por grupo de tratamiento y toma de muestra sanguínea</b> .....                                                                                                                                       | <b>74</b>  |
| <b>Análisis bivariado de las características clínicas de los pacientes de los grupos con las concentraciones de citocinas en la primera y segunda toma de muestra sanguínea</b> .....                                                                                | <b>77</b>  |
| <b>Análisis de correlación entre las concentraciones de citocinas de primera y segunda toma de muestra sanguínea</b> .....                                                                                                                                           | <b>87</b>  |
| <b>Análisis de correlación de los valores de biometría hemática con la concentración de citocinas en la primera y segunda toma de muestra sanguínea por grupo de tratamiento</b> .....                                                                               | <b>94</b>  |
| <b>Análisis de Supervivencia Libre de Progresión y Supervivencia Global en el total de pacientes y por grupo de tratamiento</b> ....                                                                                                                                 | <b>102</b> |
| <b>Análisis de correlación de la Supervivencia Libre de Progresión con las características clínico-patológicas y los valores de primera y segunda toma de muestra sanguínea de biometría hemática y de concentración de citocinas por grupo de tratamiento</b> ..... | <b>106</b> |
| <b>Análisis de correlación de la Supervivencia Global con las características clínico-patológicas y los valores de primera y segunda toma de muestra sanguínea de biometría hemática y de concentración de citocinas por grupo de tratamiento</b> .....              | <b>117</b> |
| <b>Análisis por minería de datos de las concentraciones plasmáticas de citocinas de los pacientes y su correlación con las características clínico-patológicas, valores de biometría hemática, Supervivencia Libre de Progresión y de Sobrevida Global</b> .....     | <b>127</b> |
| <b>Análisis de correlación de las características clínicas patológicas y valores de biometría hemática de primera y segunda toma de muestra sanguínea entre los pacientes asignados a un clúster por minería de datos</b> .....                                      | <b>133</b> |
| <b>Análisis de supervivencia de los valores de SLP y SG por grupo de tratamiento y toma de muestra sanguínea en los pacientes asignados a cada clúster generado por de minería de datos</b> .....                                                                    | <b>138</b> |
| <b>Discusión</b> .....                                                                                                                                                                                                                                               | <b>146</b> |
| <b>Supervivencia Libre de Progresión y Supervivencia Global en el total de pacientes y por grupo de tratamiento (figuras 13 a 16)</b> .....                                                                                                                          | <b>146</b> |

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |            |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|
| <b>Características clínico-patológicas (tabla 7) y su asociación con SLP (tabla 17) y SG (tabla 22)</b>                                                                                                                                                                                                                                              | <b>147</b> |
| Género                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               | 147        |
| Edad                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 | 148        |
| Historial de tabaquismo e índice tabáquico                                                                                                                                                                                                                                                                                                           | 148        |
| Exposición a humo de leña e índice de exposición a humo de leña                                                                                                                                                                                                                                                                                      | 148        |
| ECOG al momento del diagnóstico                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      | 149        |
| Histología                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           | 149        |
| Tipo de mutación (EGFR o ALK)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | 150        |
| Estado de expresión de PD-L1                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         | 150        |
| <b>Concentraciones obtenidas por biometría hemática (tabla 8) y su asociación con SLP (tablas 18 y 19) y SG (tablas 23 y 24) por toma de muestra sanguínea</b>                                                                                                                                                                                       | <b>151</b> |
| Plaquetas                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            | 152        |
| Neutrófilos                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | 152        |
| Linfocitos                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           | 153        |
| Monocitos                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            | 154        |
| Eosinófilos                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | 154        |
| Basófilos                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            | 155        |
| RPL                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  | 155        |
| RNL                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  | 155        |
| Albúmina                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | 156        |
| Antígeno Carcinoembrionario (ACE)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    | 156        |
| <b>Curvas de concentración de citocinas (figuras 9 a 12)</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                         | <b>157</b> |
| <b>Concentraciones de citocinas (tabla 9), su asociación con las características clínico-patológicas (tablas 10 y 11), las correlaciones existentes entre éstas mismas (tablas 12 a 14) y con las categorías de biometría hemática (tablas 15 y 16) y su asociación con SLP (tablas 20 y 21) y SG (tablas 25 y 26) por toma de muestra sanguínea</b> | <b>157</b> |
| IL-8 (CXCL8)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         | 158        |
| IP-10 (CXCL10)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       | 159        |
| Eotaxin (CCL11)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      | 160        |
| TARC (CCL17)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         | 160        |
| MCP-1 (CCL2)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         | 161        |
| RANTES (CCL5)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | 162        |
| MIP-1 $\alpha$ (CCL3)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                | 162        |
| MIG (CXCL9)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | 163        |
| ENA-78 (CXCL5)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       | 163        |
| MIP-3 $\alpha$ (CCL20)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               | 164        |
| GRO $\alpha$ (CXCL1)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 | 164        |
| I-TAC (CXCL11)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       | 165        |
| MIP-1 $\beta$ (CCL4)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 | 165        |
| IL-1 $\beta$                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         | 166        |
| IFN- $\alpha$                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | 167        |
| IFN- $\gamma$                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | 167        |
| TNF- $\alpha$                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | 169        |
| IL-6                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 | 170        |
| IL-10                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                | 171        |
| IL-12p70                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | 172        |
| IL-17A                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               | 173        |
| IL-18                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                | 174        |
| IL-23                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                | 175        |
| IL-33                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                | 176        |
| <b>Análisis por minería de datos (figuras 17-22 y 23-34 y tablas 27 a 30)</b>                                                                                                                                                                                                                                                                        | <b>177</b> |
| <b>Conclusiones</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  | <b>179</b> |
| <b>Referencias</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   | <b>180</b> |

El cáncer de pulmón representa la mayor causa de muerte relacionada al cáncer a nivel mundial, siendo el Cáncer de Pulmón de Células No Pequeñas (CPCNP) el tipo histológico más común. Una vez iniciado un tratamiento, los estudios físicos y de imagen sólo revelan el progreso de la enfermedad hasta que éste se manifiesta visiblemente, además existe un riesgo asociado a la toma de biopsia para el examen citológico, por lo cual es importante generar nuevas aproximaciones evaluativas y predictivas de respuesta-eficacia al tratamiento. El desarrollo de un modelo de expresión con un biomarcador a través de la minería de datos, que identifica patrones de comportamiento en conjuntos de datos y los agrupa de acuerdo a las características analizadas, puede representar una alternativa para la evaluación de la enfermedad antes, durante y después del tratamiento. En los últimos años, las citocinas han surgido como un potencial biomarcador en cáncer al fungir como medio de comunicación de la respuesta inmunológica y estar involucradas en la inflamación, angiogénesis, migración, crecimiento, diferenciación, proliferación y muerte celular, tanto a favor como en contra del desarrollo neoplásico, dependiendo del microambiente tumoral.

El objetivo del estudio fue cuantificar los niveles plasmáticos de citocinas en pacientes con CPCNP previamente tratados, para determinar la posibilidad de agrupación por minería de datos y su asociación con las características clínico-patológicas, valores de biometría hemática y de respuesta al tratamiento con Docetaxel como monoterapia o en combinación con Pembrolizumab.

Se cuantificaron 24 citocinas mediante un inmunoensayo basado en perlas de fluorescencia en 40 pacientes con CPCNP estadios avanzados, antes y después de la administración del tratamiento (primera [1T] y segunda [2T] toma de muestra sanguínea, respectivamente). Los resultados obtenidos fueron sometidos a pruebas de asociación y correlación estadística con las características clínico-patológicas y los valores de biometría hemática de los pacientes, así como con los parámetros de respuesta al tratamiento Supervivencia Libre de Progresión (SLP) y Supervivencia Global (SG) en 1T y 2T. Las concentraciones de citocinas se analizaron por minería de datos a través de los algoritmos RandomTree y K-Means.

De forma general, el grupo de la combinación de tratamiento logró una mayor media de SLP (11.81 Vs. 4.52 meses) que el de Docetaxel y viceversa en SG (53 Vs. 31.71 meses), aunque en este último parámetro más de la mitad de los pacientes no alcanzó a presentar el evento.

Se obtuvo una amplia diversidad de asociaciones y correlaciones, tanto positivas como negativas e incluyendo algunas previamente desconocidas en CPCNP, entre las concentraciones de citocinas con las características clínico-patológicas y los valores de biometría hemática en 1T y 2T por grupo de tratamiento. Asimismo, todas estas variables tuvieron, en mayor o menor medida, asociaciones con SLP y SG.

El análisis por minería de datos generó dos grupos (Clúster 0 y Clúster 1) en 1T y 2T por grupo de tratamiento, creando en cada caso distintas reglas de decisión que permitieron identificar patrones de concentraciones de citocinas asociados a respuesta al tratamiento, incluyendo respuestas diferentes a las obtenidas en los análisis individuales.

### I. Sistema inmune

Los organismos vertebrados cuentan con un mecanismo de protección interno ante patógenos, toxinas y células propias infectadas, dañadas o alteradas, conocido como sistema inmunológico, que comprende una red celular y molecular dinámica diseñada para la identificación de agentes anómalos particulares (antígenos) provenientes de estos. La mayoría de los antígenos son elementos estructurales (endógenos o exógenos anclados a membrana) y solubles de patógenos, así como de células infectadas por alguno de estos o que han sufrido una determinada alteración genética que supone un riesgo a la homeostasis del organismo. Una vez reconocida la amenaza a través de los antígenos, ésta es eliminada o neutralizada<sup>1</sup>. El componente molecular del sistema inmune está constituido principalmente por factores solubles como citocinas, sistema del complemento y moléculas asociadas al daño o muerte celular, mientras que el componente celular proviene de la médula ósea, donde células pluripotenciales, conocidas como células madre hematopoyéticas, originan dos líneas celulares por series de diferenciación: la línea mieloide y la línea linfóide<sup>1</sup> (figura 1).

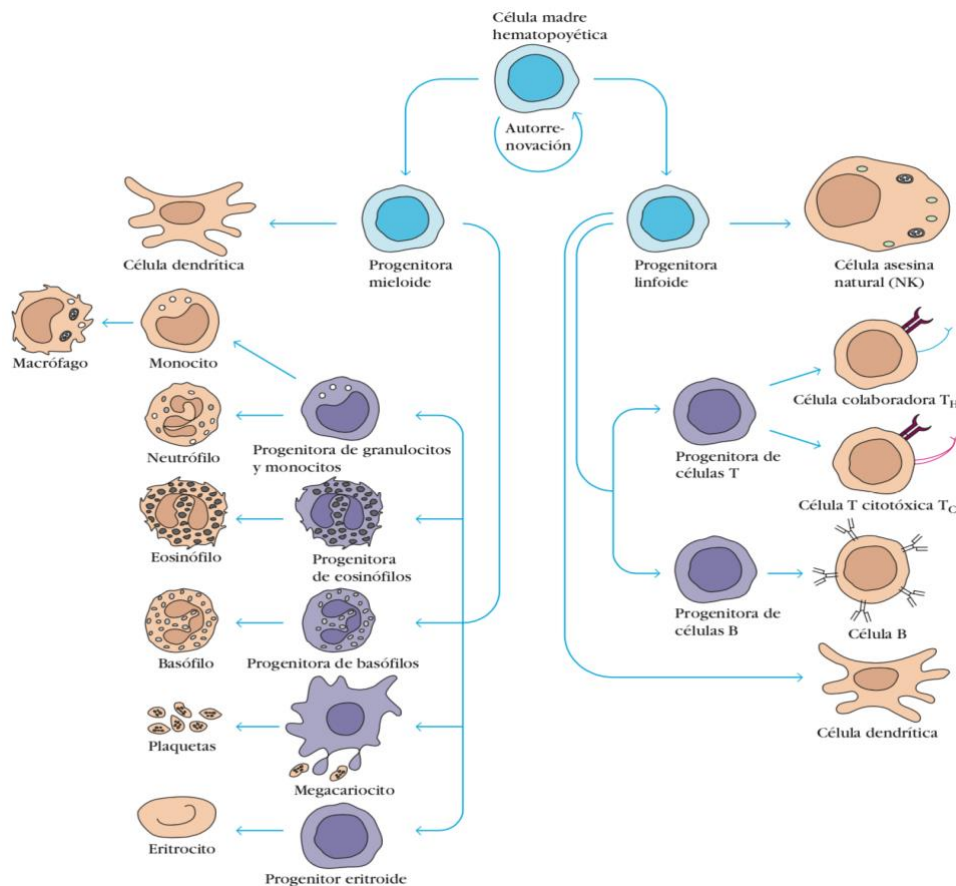


Figura 1. Proceso de hematopoyesis de línea mieloide (izquierda) y linfóide (derecha) a partir de células madre hematopoyéticas<sup>1</sup>. Las células dendríticas se muestran derivadas de ambas líneas dado que los fenotipos “convencional” y “derivado de plasmacitoide” de éstas pueden ser originados de progenitores mieloides y linfoides<sup>2</sup>.

## Línea mieloide y respuesta inmune innata

Los progenitores mieloides pueden diferenciarse en eritrocitos, plaquetas, monocitos, neutrófilos, células dendríticas, eosinófilos, mastocitos y basófilos (tabla 1)<sup>3</sup>.

Tabla 1. Características y funciones de las células mieloides.

| Tipo celular | Características                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | Funciones principales                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |
|--------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Eritrocitos  | Células de 6.2-8.2 µm de diámetro, discoides y flexibles, que pierden el núcleo, así como mitocondria, retículo endoplásmico y aparato de Golgi al madurar. Comprenden hasta un tercio de todas las células del cuerpo humano <sup>4</sup> .                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | Su citoplasma está cargado de hemoglobina, con lo cual son capaces de recorrer todo el sistema circulatorio suministrando esta molécula a órganos y tejidos y llevando de vuelta a los pulmones el dióxido de carbono (CO <sub>2</sub> ) para su exhalación <sup>5</sup> .                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |
| Plaquetas    | Fragmentos citoplasmáticos derivados de la fragmentación de megacariocitos, de 2 a 3 µm de diámetro, irregulares, delgadas, anucleadas y con algunos gránulos citoplasmáticos dispersos. Durante el proceso hemostático forman filopodios que facilitan la adhesión y agregación plaquetaria <sup>4</sup> .                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         | Forman agregados entre sí tras estimulación por trombina, colágeno, epinefrina o serotonina y se induce la precipitación de fibrina a su alrededor, para generar el coágulo que detiene hemorragias y permite la regeneración tisular <sup>4</sup> . Activan y reclutan linfocitos. Fagocitan patógenos y eliminan células infectadas mediante secreción de factores solubles <sup>6</sup> .                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
| Granulocitos | <p>Su nombre proviene de la presencia de abundantes gránulos citoplasmáticos cargados de factores necesarios para la eliminación de patógenos. Circulan por el torrente sanguíneo e ingresan a los tejidos en casos de infección o alergia. También son conocidas como células polimorfonucleares, ya que poseen núcleos multilobulados separados por hebras de cromatina. De acuerdo a la coloración que adquieren los gránulos por tinción de Giemsa se clasifican en tres tipos<sup>3</sup>:</p> <ol style="list-style-type: none"><li>1. Neutrófilos: células de 12-15 µm de diámetro, de 3 a 5 lóbulos y gránulos coloreados por tintes neutros. Leucocito más abundante en el torrente sanguíneo<sup>7</sup>.</li><li>2. Eosinófilos: células de 12-17 µm de diámetro, bilobuladas y cuyos gránulos</li></ol> | <p>Neutrófilos: fagocitos de patógenos o encargados de su eliminación mediante secreción de proteasas, proteína bactericida de incremento de la permeabilidad (BPI por Bactericidal/Permeability-Increasing Protein), defensinas, catelicidinas y especies reactivas de oxígeno y nitrógeno (ROS y RNS, por Reactive Oxygen y Nitrogen Species, respectivamente) y citocinas<sup>3</sup>. Pueden activar al sistema del complemento<sup>9</sup>.</p> <p>Eosinófilos: fagocitos de patógenos, aunque es mayormente conocida su función de secreción de contenido granular (degranulación) como la proteína básica mayor (MBP por Mayor Basic Protein), proteína catiónica de eosinófilo (ECP por Eosinophil Cationic Protein), proteasas y citocinas, que eliminan a aquellos de gran tamaño (como protozoos y helmintos). Activan al sistema del complemento y modulan la inflamación (incluyendo reacciones alérgicas)<sup>10, 8</sup>.</p> |

|                     |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
|---------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                     | <p>son teñidos por colorantes ácidos, como eosina, principalmente<sup>8</sup>.</p> <p>3. Basófilos: células de 10-12 µm de diámetro, bilobulados y cuyos gránulos son teñidos por tintes básicos. Leucocito menos abundante en sangre<sup>8</sup>.</p>                                                                                                                                                                                                                                                                                                  | <p>Basófilos: con gránulos cargados de histamina, heparán sulfato, heparina, citocinas y proteasas, por lo que son inductores de inflamación (incluyendo reacciones alérgicas). Fagocitan patógenos pequeños y eliminan a aquellos de gran tamaño por degranulación<sup>8, 11</sup>.</p>                                                                                                   |
| Mastocitos          | <p>Células discoides de 20-30 µm diámetro, provenientes de la misma célula progenitora que los basófilos. Poseen gránulos citoplasmáticos, por lo que pueden ser considerados granulocitos. Circulan por torrente sanguíneo y maduran al ingresar en tejidos<sup>8, 12</sup>.</p>                                                                                                                                                                                                                                                                       | <p>El contenido granular de los mastocitos es bastante similar al de basófilos, por lo que están fuertemente relacionados con estos desde el punto de vista funcional<sup>8</sup>.</p>                                                                                                                                                                                                     |
| Monocitos           | <p>Células de 15-18 µm, con núcleo en forma de herradura, gránulos citoplasmáticos y proyecciones de membrana plasmática. Al ingresar a tejidos pueden diferenciarse en macrófagos y células dendríticas<sup>7, 13</sup>.</p>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           | <p>Es el principal fagocito mononuclear en sangre y también se encarga de la secreción de mediadores solubles de la inflamación<sup>13</sup>.</p>                                                                                                                                                                                                                                          |
| Macrófagos          | <p>Mantienen en gran parte la morfología de su precursor monocítico, aunque aumentan significativamente de tamaño, hasta 15-25 µm de diámetro. Dependiendo del tejido al que ingrese el monocito, puede diferenciarse en cierto tipo de macrófago: células de Kupffer (hígado), histiocitos (tejido conectivo), histiocitos sinusales (ganglios linfáticos), osteoclastos, microglía (cerebro), mesangiales intraglomerulares, alveolares, pleurales e intersticiales (pulmones), intestino, médula ósea, timo y bazo, entre otros<sup>8, 11</sup>.</p> | <p>Actividad fagocítica similar a la de neutrófilos, secreción de mediadores de la inflamación y síntesis de proteínas del sistema del complemento. También están ligados a la respuesta inmune adaptativa al poseer la capacidad de presentar antígeno a linfocitos T y B, induciendo de esta forma su activación<sup>1</sup>.</p>                                                        |
| Células dendríticas | <p>Células de 10-15 µm de diámetro con proyecciones de membrana plasmática que asemejan a dendritas de neuronas (de ahí el nombre)<sup>14, 15</sup>. Principales fenotipos: derivadas de monocitos (o derivadas de mieloides) o de plasmacitoides, de Langerhans (epidermis), intersticiales, convencionales (de línea mieloide o linfóide) y foliculares (en folículos linfáticos; de origen mesenquimal y estromal)<sup>2, 1, 16</sup>.</p>                                                                                                           | <p>En estado inmaduro actúan como células fagocíticas en circulación sanguínea y tejidos. Al madurar por procesamiento de antígeno a través de la fagocitosis o pinocitosis, migran a ganglios linfáticos y bazo donde activan a linfocitos T y B por presentación antigénica. En ambos estados de madurez son capaces de secretar mediadores solubles de la inflamación<sup>17</sup>.</p> |

Los granulocitos, monocitos, macrófagos y células dendríticas, además de las células asesinas naturales (NK) de la línea linfóide, comprenden la respuesta inmune conocida como innata, que representa la primera línea de reconocimiento de patógenos, toxinas o alérgenos que ingresan al organismo<sup>17</sup>. Esta respuesta se caracteriza por actuar de forma inmediata (minutos u horas) una vez que algún patógeno, por ejemplo, logra ingresar al organismo tras superar las barreras anatómicas (piel y membranas mucosas) y químicas (ácido estomacal, proteasas, péptidos antimicrobianos solubles, etc.). Es de corta duración y no genera memoria inmunológica (que agiliza la respuesta ante ataques ulteriores de la misma amenaza)<sup>2</sup>. Se vale del reconocimiento de motivos estructurales altamente conservados conocidos como patrones moleculares asociados a patógenos (PAMP por Pathogen-Associated Molecular Patterns), así como de moléculas que en condiciones normales están en el interior de células propias, pero que son liberadas o expuestas al medio extracelular debido a la muerte celular por necrosis o apoptosis inmunogénica (llamadas DAMP por Damage-Associated Molecular Patterns)<sup>18</sup>. Dicho reconocimiento es llevado a cabo por receptores de reconocimiento de patrón (PRR): transmembranales como los tipo Toll (TLR por Toll-Like Receptors) o depuradores (también llamados receptores scavenger o SR por Scavenger Receptors), solubles como la lectina de unión a manosa (MBL por mannan-binding lectin), proteína C reactiva (CRP por C-Reactive Protein) o proteína de unión a lipopolisacárido (LPS por Lipopolysaccharide binding protein), e intracelulares como las proteínas del dominio de oligomerización y unión a nucleótido (NOD por Nucleotide-binding Oligomerization Domain-like receptors). Una vez ocurrida la unión de PAMPs o DAMPs-PRR ocurre la fagocitosis o lisis mediante factores extracelulares secretados y/o se activa el sistema del complemento (cuando la unión es mediante MBL)<sup>10, 2</sup>. El sistema del complemento también es considerado un componente de la respuesta inmune innata y consiste en un conjunto de proteínas solubles, denominadas con la letra C (C1-C9), que existen como precursores enzimáticos (zimógenos) hasta ser activadas por tres vías<sup>9</sup>:

1. Vía clásica: unión de fragmentos C1q a anticuerpos solubles (un IgM o dos IgG) que reconocieron y opsonizaron un antígeno en la superficie de patógenos. C1q se une a C1r y C1s, formando el complejo C1qrs. C1r convierte a C1s en una proteasa que escinde a los fragmentos C2 y C4 en C2a y C2b, así como C4a y C4b, respectivamente. C2b y C4a inducen la inflamación, mientras que C2a y C4b se unen para formar la convertasa de C3 que escinde a dicha proteína en C3a y C3b, siendo la primera un agente inflamatorio y la segunda una opsonina que se une a C2a y C4b para formar la convertasa de C5, que escinde a C5 en C5a, un agente inflamatorio, y en C5b, el cual se une a C6, C7, C8 y C9 para formar el complejo de ataque a membrana (MAC por Membrane Attack Complex). Éste último formará poros en la membrana plasmática o superficie del patógeno, provocando su lisis.
2. Vía alternativa: reconocimiento de polisacáridos y estructuras poliméricas similares como los lipopolisacáridos bacterianos por parte del fragmento C3. Puede converger con la vía clásica.
3. Vía de las lectinas: similar a la clásica, aunque el complejo receptor-antígeno al que se une el fragmento C1 es MBL o ficolinas, principalmente.

Una vez activado este sistema, se genera una respuesta inflamatoria por los propios fragmentos o por inducción celular de liberación de moléculas pro-inflamatorias, aumento de la extravasación de leucocitos, opsonización de patógenos (o sus toxinas) como señal para fagocitosis y eliminación de complejos antígeno-anticuerpo que ya no son necesarios para generar respuesta inmunológica<sup>17</sup>.

### Línea linfoide y respuesta inmune adaptativa

Los progenitores linfoides dan origen a linfocitos T y B, células asesinas naturales (NK por Natural Killer cells) y células dendríticas (convencionales o derivadas de plasmacitoides). La respuesta inmune adaptativa tiene como agentes principales a linfocitos T y B, así como a los anticuerpos secretados por los segundos. Se distingue de la innata al requerir un reto antigénico para ser iniciada (detección, procesamiento y presentación de antígeno) y por actuar de forma más tardía (4 a 6 días después de la detección del antígeno), pero con mayor especificidad, magnitud y con la generación de memoria inmunológica, de forma que los posteriores encuentros (inmunorreacción secundaria) con el mismo antígeno desencadenan una reacción inmunitaria más rápida y eficaz que la primera (inmunorreacción primaria). La diferencia de tiempo entre respuesta inmune innata y adaptativa recae en que la segunda precisa de la maduración y activación de los linfocitos T y B<sup>17</sup>.

### Linfocitos B

La denominación de linfocito “B” proviene de la bolsa de Fabricio, un órgano linfoide presente en aves donde fueron identificados por primera vez. Producidos en la médula ósea, adquieren por recombinación genética un receptor específico para un antígeno, el cual es un anticuerpo conocido como receptor de células B (BCR por B-cell Receptor). Los anticuerpos o inmunoglobulinas (Ig) son heterodímeros compuestos por dos cadenas pesadas (55 kilodaltones o kDa) y dos ligeras (22 kDa) unidas principalmente por puentes disulfuro, en cuyos extremos amino terminal poseen una región variable (paratopo), que le otorga al Ig la especificidad necesaria para reconocer una región particular de un antígeno, conocido como epítopo<sup>2</sup> (figura 2). El paratopo se une al epítopo del antígeno mediante enlaces no covalentes en una asociación de tipo llave-cerradura. Existen cinco tipos de Ig diferenciados por estructura y función: IgA, IgD, IgE, IgG e IgM. Los Ig no sólo existen asociados a membrana plasmática, sino que pueden ser secretados por un fenotipo específico de linfocitos B, conocido como linfocito B plasmático, que además poseen la capacidad de secretar más de un tipo de Ig a la vez con la misma especificidad antigénica. Aquellos que se unen a antígenos solubles o presentes en la superficie de patógenos, permiten su identificación y fagocitosis mediante endocitosis mediada por receptor<sup>17</sup>.

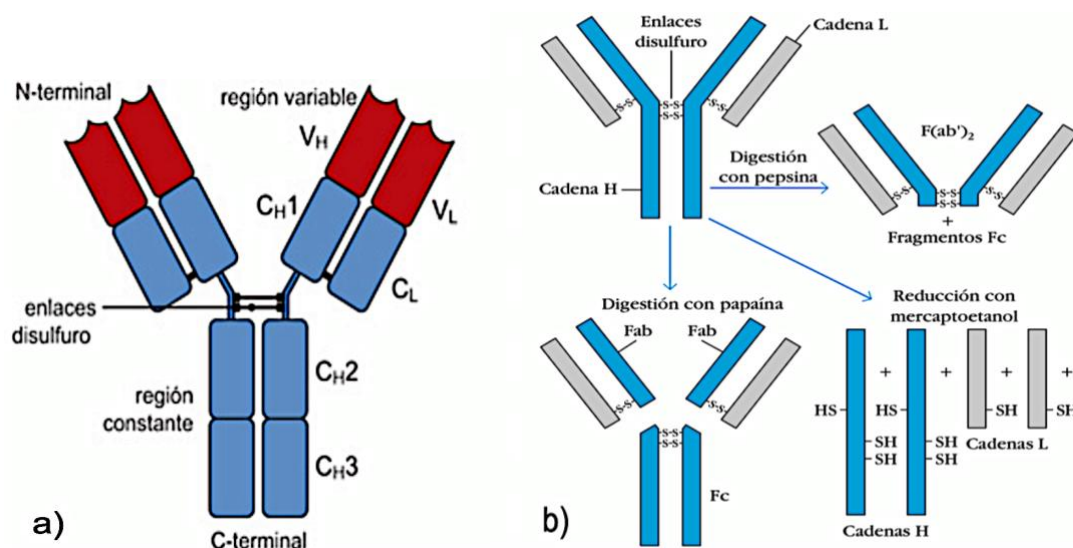


Figura 2. Representación de una inmunoglobulina IgG. a) Un Ig es un heterodímero compuesto por dos cadenas pesadas (H) idénticas y dos cadenas ligeras (L) idénticas, ambas poseen regiones constantes (C) y regiones variables (V) representadas en azul y rojo, respectivamente. Las regiones variables, ubicadas en el extremo amino terminal, corresponden al paratopo y reconocen un epítipo específico de un antígeno. La unión entre cadenas existe a través de puentes disulfuro, así como por interacciones no covalentes como enlaces iónicos, puentes de hidrógeno e interacciones hidrofóbicas<sup>17</sup>. b) Se representan en azul las cadenas pesadas y en gris las ligeras de una IgG unidas entre sí por puentes disulfuro, incluyendo la región bisagra que une ambas cadenas pesadas y que delimita los fragmentos de unión a anticuerpo (Fab por Antigen-Binding Fragment) y cristalizable (Fc por Fragment Crystallizable) descubiertos mediante digestión proteolítica, mientras que la reducción con mercaptoetanol ocasionó la ruptura de los enlaces disulfuro, permitiendo la identificación de las cadenas H y L<sup>1</sup>.

La respuesta inmunológica mediada por Ig también es conocida como respuesta inmunitaria humoral. Los Ig secretados por células B plasmáticas reconocen el epítipo del antígeno proveniente del patógeno o toxina y pueden unirse a estos formando agregados con varios antígenos para neutralizarlos u opsonizarlos. Una vez formado el agregado ocurre la interacción entre la fracción Fc del Ig con receptores Fc (FcR por Fc Receptors) ubicados en fagocitos, de forma que se induce la fagocitosis del complejo antígeno-anticuerpo; también pueden activar la vía clásica del sistema de complemento que provocará la lisis del patógeno y su posterior fagocitosis<sup>17</sup> (figura 3). Las células infectadas por patógenos intracelulares pueden también unirse por FcR a los Ig, de forma que son reconocidas y eliminadas por las células NK, un proceso conocido como citotoxicidad mediada por células dependiente de anticuerpo (ADCC por Antibody-Dependent Cellular Cytotoxicity). La unión Fc-FcR también puede provocar la diferenciación y activación de células del sistema inmune<sup>19</sup>.

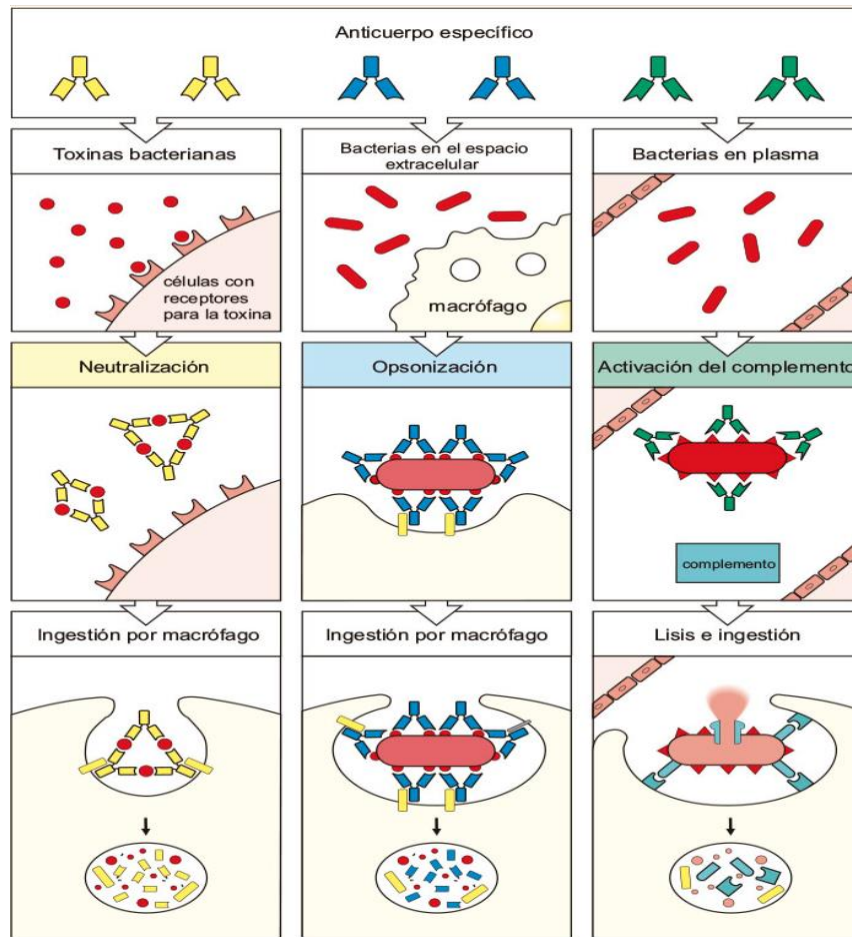


Figura 3. Principales mecanismos de acción de Ig secretados por células B plasmáticas. Columna izquierda: Ig (color amarillo) se unen y neutralizan a antígenos solubles para ser fagocitados en conjunto. Columna central: Ig opsonizan a patógenos y son reconocidos por receptores Fc de fagocitos e ingeridos. Columna derecha: una vez que los Ig han opsonizado, son reconocidos por C1, desencadenándose la vía clásica del sistema del complemento y la lisis del patógeno, seguida de la fagocitosis de los fragmentos de éste<sup>17</sup>.

### Linfocitos T

Los linfocitos T se originan en la médula ósea y maduran en el timo, de ahí la denominación "T". También poseen un receptor de reconocimiento de antígeno único, conocido como receptor de células T (TCR por T-cell Receptor), que, al igual que los Ig, contiene regiones constantes y variables, pero que a diferencia de estos, son heterodímeros bicatenarios (cadenas  $\alpha$  y  $\beta$  o  $\gamma$  y  $\delta$ ), sólo existen asociados a la membrana plasmática y reconocen péptidos antigénicos asociados a receptores en la superficie de otras células, conocidos como Complejo Mayor de Histocompatibilidad (MHC por Major Histocompatibility Complex). También expresan en su superficie un correceptor o grupo de diferenciación (CD por Cluster of Differentiation) de tipo CD3. Existe una amplia diversidad de CD entre todas las células del sistema inmune, pero son dos los principales que caracterizan a esta estirpe celular y determinan su fenotipo: CD4 (cooperadores) y CD8 (citotóxicos)<sup>3</sup>.

### Células asesinas naturales (NK)

Las células NK son linfocitos granulares ( $CD16^+ CD56^+ CD161^+$ ) que completan su diferenciación y maduración en médula ósea, bazo, timo y ganglios linfáticos. Activadas por interferón gamma ( $IFN-\gamma$ ) e IL-2, se encuentran constantemente en circulación sanguínea<sup>20</sup>. Eliminan, por inducción de apoptosis extrínseca mediante degranulación de granzimas y perforinas, células potencialmente tumorales o infectadas por patógenos, cuyo reconocimiento se lleva a cabo por ADCC<sup>1</sup>, unión directa a receptores de muerte (como el ligando Fas con su receptor FasR)<sup>21</sup>, baja expresión de MHC-I en la célula diana<sup>22</sup> o por sinapsis inmunológica entre la NK y la célula diana, conocida como grupo de activación supramolecular (SMAC por Supramolecular Activation Cluster) compuesta de receptores, moléculas de señalización, elementos del citoesqueleto y organelos que reconocen DAMPs<sup>23</sup>. Existe un subtipo de NK, conocido como células asesinas T (NKT por Natural Killer T-cells) que también pueden expresar otros marcadores de diferenciación como  $CD4^+$  y  $CD8^+$  (al igual que  $CD161^+$ )<sup>24</sup>; presentan TCR ( $\alpha\beta$ ) en su superficie que reconocen lípidos y glicolípidos en patógenos con ayuda de  $CD1$ <sup>25</sup>.

### Maduración y activación de linfocitos T y B

Los linfocitos T existen inicialmente como progenitores linfoides comunes que migran de médula ósea hacia el timo, donde se asientan en la corteza tímica y diferencian a timocitos, expresando hasta  $10^4$  TCR, siendo antigénicamente comprometidos y transitando de una condición doble negativa ( $CD4^- CD8^-$ ) a doble positiva ( $CD4^+ CD8^+$ ). La maduración de los timocitos o linfocitos T doble positivos depende de un punto de control en la corteza tímica mediado por una selección positiva y negativa<sup>26</sup>. La selección positiva consiste en la interacción de los linfocitos con los MHC-I o MHC-II de las células estromales tímicas (células epiteliales corticales y medulares, macrófagos y células dendríticas) para así identificar linfocitos capaces o incapaces de reconocer un MHC. En esta etapa los linfocitos progresan de una condición doble positiva a unipositiva del correceptor ( $CD4^+ CD8^-$  o  $CD4^- CD8^+$ ) dependiendo de si el antígeno reconocido por el TCR fue presentado mediante MHC-II o MHC-I, respectivamente. Mientras que la selección negativa consiste en la presentación al TCR por MHC de antígenos propios del organismo (autoantígenos) provenientes de la degradación normal de las proteínas, para descubrir a aquellos que reaccionan o no (autotolerantes) fuertemente a autoantígenos<sup>26</sup>. Los linfocitos T que no superan alguna de estas dos pruebas pueden atravesar por la edición del receptor (reordenamiento de los genes de la cadena  $\alpha$  del TCR para obtener dicho receptor con una nueva especificidad antigénica) o son eliminados por apoptosis (delección clonal). Aquellos que logran adquirir el fenotipo  $CD4^+$  (cooperadores o Th por T helper) o  $CD8^+$  (citotóxicos) son considerados linfocitos maduros y quedan arrestados en G0. Para ser activados, estos migrarán por hacia órganos linfoides secundarios (ganglios linfáticos, bazo y tejido linfoide asociado a mucosas o MALT por Mucosa-associated Lymphoid Tissue)<sup>27</sup>. Los linfocitos T- $CD4^+$  son activados cuando el TCR reconoce antígenos exógenos presentados mediante el MHC-II que se encuentra en la superficie de linfocitos B, macrófagos y células dendríticas, todas éstas llamadas células presentadoras de antígeno (APC

por Antigen-Presenting Cell) dada su capacidad de procesamiento, acarreamiento de antígeno al órgano linfóide secundario y su presentación al linfocito T-CD4<sup>+</sup>. Dependiendo del contexto de expresión de citocinas y factores de transcripción mientras ocurre la activación, las T-CD4<sup>+</sup> pueden diferenciarse en distintos fenotipos de Th que desencadenarán un efecto específico. Por ejemplo, Th<sub>1</sub> principalmente activará a T-CD8<sup>+</sup> y macrófagos, Th<sub>2</sub> a células B plasmáticas y Th<sub>3</sub> (CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup>) a los T reguladores (Treg), que regula negativamente la respuesta inmune. Por su parte, los linfocitos T-CD8<sup>+</sup> son activados por presentación antigénica mediante unión de TCR y MHC-I presente en células nucleadas (excepto neuronas y trofoblastos) que principalmente recurren a este mecanismo para alertar de daño intracelular (utilizando antígenos endógenos) y así estimular la secreción de granzimas y perforinas de T-CD8<sup>+</sup>. Tras su activación, también se pueden originar linfocitos T-CD8<sup>+</sup> Treg<sup>28</sup>. La activación de T-CD4<sup>+</sup> y TCD-8<sup>+</sup> induce su proliferación, generando tanto linfocitos T efectores como de memoria, quienes son más longevos que los primeros y están encargados de la respuesta inmune secundaria (las Treg también pueden generar linfocitos de memoria). Además, la activación requiere no sólo de la interacción TCR-MHC, sino de la participación de proteínas de superficie en APC, llamadas moléculas coestimuladoras como de la familia B7, específicamente B7-1 (CD80) y B7-2 (CD86 y CD40). Estas dos proteínas se unen a CD28 en linfocitos T, induciendo la síntesis de citocinas por parte de APC y linfocitos T, cuya estimulación de estos últimos de forma paracrina y autocrina, respectivamente, es necesaria para completar su activación e inducir su expansión clonal (proliferación)<sup>29</sup>. Por lo tanto, si no ocurre la interacción de proteínas coestimuladoras y citocinas con sus receptores afines en la superficie del linfocito, éste no podrá activarse y entrará en un estado conocido como anergia clonal, caracterizado por la incapacidad de proliferación de los linfocitos T en respuesta a un complejo péptido-MHC (con un tiempo de vida de sólo unos días)<sup>29</sup>.

La maduración y activación de linfocitos B acontecen en médula ósea, donde linfocitos pro-B comienzan a expresar el receptor de interleucina 7 (IL-7R) tras la secreción del ligando IL-7 por células estromales. La unión de IL-7R con IL-7 induce la proliferación de los pro-B y su diferenciación a pre-B, iniciando el reordenamiento genético de cadenas H y L que los convertirán en linfocitos B inmaduros antigénicamente comprometidos, expresando ya el BCR, primero de tipo IgM y posteriormente también IgD<sup>30</sup>. Posteriormente, los linfocitos B inmaduros son sometidos a selección positiva para identificar linfocitos B con BCR capaz de unirse a su respectivo antígeno y negativa para determinar quiénes reconocen o no fuertemente a autoantígenos mediante el BCR. Si un linfocito B no supera estas pruebas puede atravesar por edición del receptor (reordenamiento del locus del gen que codifica para la cadena ligera, otorgando un BCR con diferente especificidad antigénica) o si la adquisición de un nuevo receptor de unión específica a antígeno no evita la autorreactividad, sufrir delección clonal<sup>31</sup>. Una vez que el BCR se une con el antígeno indicado, el linfocito B inmaduro arrestado en G0 migra a órganos linfoides secundarios, donde proteínas en su superficie, como el ligando linfotóxina (LT) y el receptor del factor activador de linfocitos B (BAFF por B-cell Activating Factor), interactúan con el receptor LT y el ligando BAFF en células dendríticas foliculares, respectivamente, desembocando en la generación de linfocitos B maduros<sup>30</sup>. En esta etapa también comienzan a expresar MHC-II en su superficie y son activados de dos formas:

1. Independiente de linfocitos Th<sub>2</sub>: involucra el encuentro antígeno-BCR, expansión clonal (tránsito de G0 a G1) y diferenciación a célula B plasmática (secretora de IgM o de cualquier otro Ig con la misma especificidad antigénica, si ocurre un cambio de clase) o de memoria, que posee el mismo Ig asociado a membrana que la célula B progenitora<sup>32</sup>. La activación también puede través del sistema del complemento y por presentación antigénica efectuada por macrófagos y células dendríticas<sup>33</sup>.
2. Dependiente de linfocitos Th<sub>2</sub>: el BCR se encuentra con su antígeno, el cual ingiere por endocitosis, degrada y presenta en su MHC-II a un linfocito Th<sub>2</sub>, que al interaccionar con este mediante el TCR (y con la coestimulación de CD154 en las Th<sub>2</sub> con CD40 en linfocitos B) induce la proliferación y diferenciación a célula plasmática o de memoria mediante la secreción de las interleucinas 2, 4 y 5 (IL-2, IL-4 e IL-5) que se unen a sus respectivos receptores en el linfocito B<sup>32</sup>.

Los linfocitos B también cuentan con moléculas coestimuladoras (complejo de CD19, CD21 y CD81) que amplifican la señal del BCR para que se complete la activación y que también participan en la vía clásica del complemento. La falta de interacción con estas proteínas resulta en activación incompleta y anergia clonal<sup>32</sup>.

## **II. Inflamación**

La inflamación es la respuesta fisiológica en tejidos conectivos vascularizados a una lesión o patología, buscando aislar, neutralizar y eliminar el agente dañino, además de reparar el tejido u órgano lesionado por agentes físicos (mecánica, radiación ionizante, etc.), químicos (venenos, toxinas, etc.) o biológicos (patógenos y sus productos, alérgenos, autoinmunológicos y genéticos). A nivel inmunológico, representa el proceso por el que las células del sistema inmune son reclutadas en el sitio donde ocurrió el reconocimiento antigénico de PAMPs y DAMPs mediante PRR de células in situ<sup>34</sup>. Tras el reconocimiento antigénico, en estas células pueden activarse vías de señalización intracelular asociadas a la inflamación, como aquellas del factor nuclear kappa beta (NF-κB), de la proteína quinasa activada por mitógenos (MAPK por Mitogen-Activated Protein Kinase) y el transductor de señal y activador de transcripción (STAT por Signal Transducer and Activator of Transcription) de la quinasa Janus (JAK por Janus Kinase), conocido como JAK-STAT<sup>35</sup>. Cada vía desemboca en la síntesis y secreción de ciertos conjuntos de mediadores solubles de la inflamación (también conocidos como agentes inflamatorios) de carácter pro o anti-inflamatorio, en distintas fases de este proceso. Las citocinas suelen ser consideradas como los principales agentes inflamatorios, aunque también destacan los derivados de fosfolípidos (prostaglandinas, tromboxanos, prostaciclina, leucotrienos, lipoxinas y el factor activador de plaquetas), aminoácidos modificados (histamina y serotonina), subproductos del sistema del complemento (anafilotoxinas), péptidos solubles (calicreína, bradicinina y fibrinopéptidos), enzimas solubles (trombina, plasmina, elastasa, colagenasa y metaloproteinasas), neuropéptidos (sustancia P y neurocinina A) y óxidos (ROS y NOS)<sup>36</sup>. Durante las fases iniciales de la inflamación, los agentes pro-inflamatorios inducen la angiogénesis y vasodilatación para permitir una mayor afluencia de células necesarias para combatir la

amenaza e inducir la regeneración tisular, atraídas al sitio mediante gradientes de concentración de dichos factores, así como por el aumento de expresión y afinidad por de moléculas de adhesión celular (CAM por Cell Adhesion Molecule) en células endoteliales y células infiltrantes, respectivamente. El aumento del volumen sanguíneo (hiperemia) ruboriza e incrementa la temperatura del sitio, mientras que la ampliación de la permeabilidad vascular posibilita el ingreso de las células reclutadas (diapédesis o extravasación) y de líquido intersticial cargado de proteínas (como Ig) a tejidos extravasculares, resultando en edema y tumefacción. La lesión ocasionada por agentes físicos, químicos o biológicos junto con el subsecuente edema activan receptores del dolor. Estos fenómenos, aunados a la pérdida de función que puede ser ocasionada por el daño tisular generado por la lesión, por los patógenos y/o sus productos, así como por una reacción inmunológica exacerbada, representan las características típicas de la reacción inflamatoria local. Además de ser localizada, la reacción inflamatoria puede convertirse en sistémica o generalizada, caracterizada por fiebre, aumento del número de leucocitos (leucocitosis), síntesis de proteínas de fase aguda en el hígado (fibrinógeno, CRP, MBL, componentes del complemento y amiloide A sérico) y de hormonas como corticotropina (ACTH por Adrenocorticotropic Hormone) e hidrocortisona<sup>2</sup>. En las fases finales de la inflamación se secretan agentes anti-inflamatorios que regulan negativamente la respuesta inmune e inducen vasoconstricción con el fin de evitar el daño tisular, culminando la reacción inmunitaria aguda (con duración de horas a días), aunque ésta puede tornarse crónica (duración de semanas, meses o años) si los patógenos o células propias dañadas resisten la depuración inmunológica o existe algún fallo en este sistema, incluyendo la secreción continua de agentes pro-inflamatorios, la interrupción en la síntesis de aquellos anti-inflamatorios (o ausencia de respuesta a estos) o por alteraciones autoinmunes generadas por activación constante de linfocitos T mediante autoantígenos<sup>1, 3, 17</sup>.

### **III. Citocinas**

El término “citocina” proviene de la combinación de dos palabras griegas: “κύτος” (cyto) que significa “célula” y “κίνησις” (kinēsis o cinesis) que significa “movimiento”<sup>37</sup>. Las citocinas son glucoproteínas solubles (aunque también existen en forma de polipéptidos o proteínas) o intramembranales de bajo peso molecular ( $\leq 50$  kDa), consideradas el principal mediador soluble de la inflamación y de la respuesta inmune en general, que actúan en concentraciones reducidas (picomolares o femtomolares). Al interaccionar con receptores específicos en células diana funcionan como activadoras o inhibidoras de vías de señalización involucradas en procesos relacionados con proliferación, crecimiento, diferenciación, migración, comunicación, muerte celular, síntesis y/o secreción proteica, angiogénesis, inflamación, respuesta inmune y tumorigénesis<sup>38, 37</sup>. Su síntesis y efectos están dados prácticamente en cualquier estirpe celular del organismo (excepto eritrocitos) y según el contexto en el que se encuentren son capaces de comportarse como agentes pro o anti-inflamatorios. Dependiendo del sitio de acción, los efectos pueden ser autocrinos (secreción y unión al receptor transmembranal de la misma célula secretora), paracrinos (unión a receptores en células vecinas), endocrinos (unión a receptores en células de otros tejidos u órganos) y yuxtacrinos (cuando el ligando permanece anclado a la membrana plasmática de

forma que puede interaccionar por contacto con receptores en células adyacentes)<sup>39</sup>. Por otro lado, los tipos de efectos que generan se clasifican en pleiotrópicos (diferentes efectos sobre diferentes tipos de células diana), redundantes (múltiples citocinas con el mismo efecto), sinérgicos (efecto cooperativo de múltiples citocinas), antagonistas (inhibición de los efectos de una citocina por otra) y de inducción en cascada (mecanismo de retroalimentación de múltiples pasos para la producción amplificada de una citocina particular)<sup>40, 41</sup>. De esta forma, las citocinas no suelen actuar como agentes individuales, sino que forman una gran red mediante la cual la expresión-acción o inhibición de una resulta en el efecto potenciado, idéntico o contrario de otras, incluyendo sobre sus receptores<sup>42</sup>. Por lo tanto, pueden ser consideradas el medio de comunicación de células inmunes, convirtiéndolas en un gran blanco terapéutico y de investigación<sup>43</sup>. Hasta la fecha se conocen más de 200 citocinas y de forma general se engloban en interleucinas, factores de crecimiento, estimuladores de colonias y de necrosis tumoral, así como en quimiocinas e interferones<sup>38</sup>.

### Interleucinas (IL)

Nombradas de esta manera debido a que primero se reconoció su síntesis y acción entre leucocitos. Su nomenclatura se ha establecido de acuerdo a una numeración (IL-1, IL-2, IL-3, etc.) dada por el orden de descubrimiento<sup>44</sup>. Los subtipos de estas se suelen denominar con una letra del alfabeto griego precedida de su correspondiente numeración (como IL-1 $\alpha$  e IL-1 $\beta$ ), esto también se aplica para citocinas de otros grupos<sup>45</sup>.

### Factores de crecimiento

Los nombres de los factores de crecimiento normalmente describen la principal población celular encargada de su síntesis o sobre la cual ejercen efecto. Algunos ejemplos son el factor de crecimiento vascular endotelial (VEGF por Vascular Endothelial Growth Factor), factor de crecimiento epidérmico (EGF por Epidermal Growth Factor), factor de crecimiento de fibroblastos (FGF por Fibroblast Growth Factor), factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF por Platelet-Derived Growth Factor) y factor de crecimiento transformante (TGF por Transforming Growth Factor), estos últimos denominados de esta forma al observarse que inducían la transformación fenotípica de líneas celulares, aunque también pueden afectar o promover la proliferación o diferenciación, actuando como inhibidores o estimulantes del crecimiento<sup>46, 38</sup>.

### Factores Estimulantes de Colonias (CSF)

Los factores estimulantes de colonias (CSF por Colony-Stimulating Factor) inducen la hematopoyesis y la supervivencia, diferenciación y expansión de leucocitos, tal es el caso de la Eritropoyetina (EPO) y los CSF de macrófagos y granulocitos (GM-CSF por Granulocyte Macrophage Colony-Stimulating Factor), así como los

CSF de estas dos subpoblaciones de forma individual (de granulocitos G-CSF por Granulocyte-Colony Stimulating Factor y de macrófagos M-CSF por Macrophage-Colony Stimulating Factor)<sup>44</sup>.

### Factor de Necrosis Tumoral (TNF)

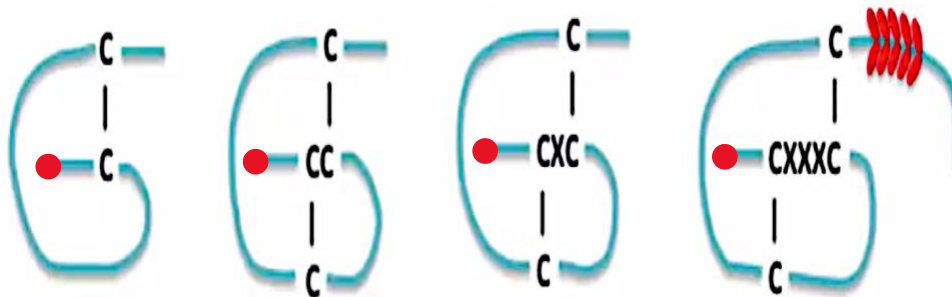
La denominación “factor de necrosis tumoral” (como TNF por Tumor Necrosis Factor) alusiona a su inducción in vitro de necrosis en células tumorales, aunque posteriormente se descubrió in vivo que generan apoptosis extrínseca en células infectadas por algún patógeno o con alguna alteración genética<sup>44</sup>.

### Interferones (IFN)

Para los interferones la designación proviene de su identificación en infecciones virales al ocasionar inhibición de la síntesis proteica viral o al inducir la apoptosis de células infectadas por estos agentes. Existen tres tipos de interferones: el tipo I incluye a los interferones alfa, beta, épsilon, kappa y omega (IFN- $\alpha$ , IFN- $\beta$ , IFN- $\epsilon$ , IFN- $\kappa$  e IFN- $\omega$ ), el tipo II al interferón gamma (IFN- $\gamma$ ) y el tipo III a los interferones lambda (IFN- $\lambda$  1-4)<sup>47</sup>.

### Quimiocinas (C, CC, CXC, CX<sub>3</sub>C)

Su nombre refiere a su capacidad de atracción de leucocitos a sitios específicos mediante la generación de gradientes de concentración (quimiotaxis). Existen cuatro familias cuyos nombres representan el orden de las primeras dos cisteínas (de dos o tres pares conservados) próximas al extremo amino terminal. De esta forma se tiene a la familia con motivo C o XC (carentes de la primer cisteína, donde “X” representa a cualquier aminoácido diferente a cisteína), CC, CXC y CX<sub>3</sub>C<sup>48</sup> (figura 4).



*Figura 4. Existen cuatro familias de quimiocinas diferenciadas por la ausencia o interferencia posicional de la primera y segunda cisteína por otros aminoácidos diferentes a ésta. De izquierda a derecha: familia C o XC, CC, CXC y CX<sub>3</sub>C. El extremo amino terminal (NH<sub>2</sub>) está representado por un círculo rojo. La familia CX<sub>3</sub>C posee un dominio de tipo mucina cerca del extremo carboxilo terminal (COOH)<sup>48</sup>.*

Varias citocinas pertenecientes a cierto grupo han sido clasificadas también como interleucinas, por ejemplo IL-8 que también puede ser identificada como CXCL-8 o IL-28 $\alpha$ , IL-28 $\beta$  e IL-29 que también son interferones de tipo III (IFN- $\lambda$  1, 2 y 3 respectivamente)<sup>45, 47</sup>.

A lo largos de los años de investigación se han descubierto que una misma citocina puede desenvolverse de distintas formas dependiendo del contexto fisiológico en el que se encuentren, por lo que la denominación de cada una no debe de ser interpretada como una descripción total o general de su efecto.

### **III. Cáncer**

El cáncer se define como conjunto de enfermedades originadas, a nivel molecular, por una serie de alteraciones genéticas que resultan en una sucesión adquisitiva de procesos característicos conocidos como “hallmarks”. La transición hacia un fenotipo celular neoplásico maligno ocurre en varios pasos que involucran alteraciones en los mecanismos internos de homeostasis celular debido a factores genéticos, ambientales e infecciosos que logren ocasionar, a través del daño genómico y celular, la generación y desarrollo de los hallmarks. Un tumor maligno se diferencia de uno benigno al poseer la capacidad de sobrevivir, proliferar sin control y alcanzar un fenotipo invasivo que permita generar metástasis<sup>50</sup>. Los hallmarks se engloban en ocho principales mecanismos de regulación modificados (que pueden variar en proteínas o genes diana, dependiendo del tipo de cáncer), asociados con la supervivencia, proliferación, diferenciación y muerte celular, descritos a continuación.

#### **Señalización de proliferación continua**

Los tejidos requieren mantener una estructura específica para su funcionamiento y por ello existe un control propio del crecimiento y proliferación de las células que lo componen a través de factores de crecimiento que inducen el inicio y progresión del ciclo celular al unirse a receptores específicos en la membrana plasmática, generando así la traducción del mensaje a través de una o varias vías de señalización intracelular<sup>50</sup>.

Una célula tumoral desarrollará una proliferación crónica por estimulación autocrina produciendo los ligandos y receptores afines de factores de crecimiento, o de manera parácrina induciendo a otras células a través de señales solubles para que éstas se encarguen de la secreción de las proteínas necesarias para la multiplicación celular. Adicionalmente, en el cáncer la viabilidad de dichos factores suele estar alterada (así como la de las enzimas que inducen su liberación o activación), de forma que pueden permanecer secuestrados y disponibles en la matriz extracelular. La sobreexpresión del receptor asociado a las vías de proliferación debido a la amplificación de genes codificantes o a la deficiencia en su sistema de degradación, provoca hiperreactividad a los niveles normales de los factores de crecimiento, como ocurre con algunos de los receptores de la familia del receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR por Epidermal Growth Factor, también conocido como ErbB-1 o HER1)<sup>51</sup>. Además, algunas mutaciones pueden llevar a una señalización independiente de ligando

mediante la modificación estructural del receptor (como la pérdida de gran parte del dominio citoplasmático de EGFR), de forma que existe una señalización continua sin necesidad de interacción ligando-receptor<sup>52</sup>.

La alteración de alguno de los componentes del circuito de traducción de señal río abajo del receptor es otro mecanismo desregulado en cáncer. Recae principalmente en la alteración de genes supresores tumorales y oncogenes, de manera que se torna innecesaria la activación del receptor por su ligando. Los genes supresores tumorales codifican para proteínas que forman complejos con aquellas proteínas involucradas en la promoción de la división celular, con el fin de inactivarlas. De esta forma, si ocurre una mutación en genes supresores tumorales (proceso conocido como pérdida de función, la cuál es de carácter recesivo), estos no podrán actuar sobre la proteína diana y comenzará la proliferación celular descontrolada. Un ejemplo es la pérdida de función por la metilación del promotor de la fosfatidilinositol-3,4,5-trisfosfato 3-fosfatasa (PTEN por Phosphatase and Tensin Homolog), una enzima que se une al fosfatidilinositol-3,4,5-trisfosfato (PIP3 por Phosphatidylinositol [3,4,5]-Trisphosphate) y cataliza su hidrólisis para degradarlo e interrumpir la señalización de la vía fosfatidilinositol 3-cinasa/ Proteína Cinasa B (también conocida como AKT/Objetivo Mamífero de Rapamicina o PI3K/AKT/mTOR por Phosphatidylinositol 3-Kinase/Protein Kinase B/Mammalian Target of Rapamycin)<sup>53</sup>. Por su parte, los oncogenes son genes potencialmente cancerígenos, que de forma fisiológica existen como genes reguladores llamados protooncogenes. Cuando un protooncogén sufre mutaciones en regiones específicas (proceso conocido como ganancia de función, que es carácter dominante) se denomina oncogén, ya que adquiere la capacidad de encontrarse constantemente activado, lo que lleva a la señalización continua de proliferación celular. Tal es el caso de las mutaciones oncogénicas en las proteínas de la familia sarcoma de rata (RAS), como en Kirsten-RAS (KRAS), que le permiten encontrarse en un estado sobreactivado (con GTP siempre unido) y, por lo tanto, las vías de señalización dependientes de ésta, como MAPK o PI3K/AKT/mTOR, ambas involucradas en la regulación del ciclo celular, entre otros procesos<sup>54</sup>.

### Evasión de supresores de crecimiento

Las señales antiproliferativas existen de forma soluble, en superficies celulares e incrustadas en la matriz extracelular y su fin es mantener la homeostasis tisular inhibiendo la división celular y/o induciendo el estado G0 o el diferenciado a través de interacciones ligando-receptor acopladas a vías de señalización intracelular<sup>49</sup>. Gran parte de las señales inhibitorias del crecimiento están relacionadas con la proteína del retinoblastoma (pRb) cuyo gen codificante es un gen supresor tumoral, así como con las proteínas p107 y p130 de la misma familia, ya que una de sus funciones es unirse a los factores de transcripción E2F que regulan la expresión de genes necesarios para el tránsito de G1 a la fase S. Para llevar a cabo su función, E2F requiere de la formación de un dímero con la proteína DP (Dimerization Partner o compañero de dimerización), pero tras la estimulación de pRb (desfosforilación) ésta puede unirse al complejo E2F-DP, inactivándolo y atrayendo a histonas desacetilasas a la cromatina, inhibiendo la transcripción de factores promotores de la fase S (como ciclina E y A) y por ende, la progresión del ciclo<sup>55</sup>. También puede ocurrir la síntesis de p15 y p21 por TGF- $\beta$ , que inhiben

la función de los complejos ciclina-cinasas dependientes de ciclina 2 y 4 (CDK2-CDK4), quienes fosforilan a pRb impidiendo su unión a E2F-DP<sup>56</sup>. Por lo tanto, TGF- $\beta$  promueve el arresto del ciclo celular. Sin embargo, en tumores malignos puede ocurrir una insensibilidad a TGF- $\beta$  por mutación en sus receptores, así como en los genes codificantes de proteínas como Smad4 (quien forma parte de la traducción de los receptores de TGF- $\beta$ ) o de p15, lo que provoca su eliminación. Además, pueden haber mutaciones en el dominio de interacción INK4A/B de CDK4, haciéndola insensible a la señal inhibitoria de p15<sup>57</sup>. Por otro lado, una proteína fundamental en la regulación de la proliferación y que funge como supresor tumoral es p53, siendo un gran supervisor del funcionamiento de los sistemas operativos intracelulares y que posee la capacidad de detener la proliferación (permitiendo la transcripción de p21) o inducir apoptosis en caso de daño o fallo irreparable, siempre y cuando no se una a Mdm2, ya que ésta provoca su ubiquitinización y degradación proteosómica. Las mutaciones en el gen p53 están presentes hasta en un 50% de tumores secuenciados. Mientras que para evitar la diferenciación terminal, las células cancerosas sobreexpresan el protooncogén de c-Myc, favoreciendo la formación del complejo Myc-Max, en lugar de Mad-Max, ya que éste es clave en la progresión de la diferenciación<sup>58, 59</sup>.

La expresión de moléculas de adhesión celular involucradas en la señalización antiproliferativa también puede ser desactivada por células cancerosas, siendo éste un mecanismo evasivo de la inhibición de proliferación por contacto, proceso necesario para conservar la morfología tisular. Un ejemplo de esto es el gen supresor tumoral Neurofibromatosis tipo 2 (NF2) que codifica para la proteína Merlina, quien inhibe de proliferación por contacto mediante el acoplamiento de moléculas de adhesión celular, como las cadherinas epiteliales (E-cadherina), a los receptores tirosina cinasa (RTC) como EGFR. De esta forma, Merlina acopla la interacción de las células en un tejido con las cascadas de señalización relacionadas a los receptores encargados de regular la proliferación celular. Si hay pérdida de función del gen NF2 se interrumpe la inhibición proliferativa por contacto<sup>60</sup>.

### Resistencia a la muerte celular

Condiciones estresantes, daño irreparable a estructuras o moléculas clave, ausencia de señales de supervivencia, desregularización en la expresión de los componentes de la maquinaria celular que mantienen en óptima función la replicación, metabolismo y homeostasis, infección intracelular por patógenos y la inducción a través de moléculas solubles o por unión de ligandos ubicados en las superficies celulares de ciertas células (como NK, T-CD8<sup>+</sup> o macrófagos) son fenómenos que pueden desencadenar la muerte celular, ya sea de forma regulada a través de cascadas de señalización y degradación en serie como ocurre en la apoptosis o bien, de forma repentina y descontrolada como en la necrosis, donde la membrana plasmática se corrompe y el material intracelular es liberado al espacio extracelular, generando amplias respuestas inflamatorias<sup>61</sup>.

La apoptosis es un tipo de muerte celular programada y se divide en dos tipos, intrínseca y extrínseca. La apoptosis extrínseca ocurre con gran estrés intracelular, daño irreversible al ADN o a estructuras celulares, insuficiente señalización de factores de supervivencia (como el factor de crecimiento similar a insulina o IGF, por Insulin-Growth Factor, en células epiteliales) o por sobreexpresión de oncoproteínas<sup>49</sup>. Proteínas como p53

sensan estos fenómenos para promover la unión de promotores a genes codificantes de proteínas inductoras de la apoptosis (pro-apoptóticas) de la familia del linfoma de células B-2 (Bcl-2 por B-cell lymphoma 2)<sup>62</sup>. Esta familia también incluye miembros inhibidores de la apoptosis (anti-apoptóticos), quienes inhiben la activación de las pro-apoptóticas, pero que ante una señal apoptótica en cascada que culmine en la activación de las pro-apoptóticas, no podrán hacer frente a la inserción en la membrana externa mitocondrial de las proteínas del subgrupo de Bcl-2 multidominio (tabla 2), provocando la apertura de un complejo de poros de transición de permeabilidad (PTPC por Permeability Transition Pore Complex) en dicha membrana, como el canal aniónico selectivo dependiente del voltaje (VDAC por Voltage-Dependent Anion-selective Channel) o el canal inducido por apoptosis mitocondrial (MAC por Mitochondrial Apoptosis-Induced Channel)<sup>63</sup>.

Tabla 2. Miembros pro y anti-apoptóticos de la familia Bcl-2. Todos se caracterizan por poseer de 1 a 4 dominios de homología Bcl-2 (BH). Las anti-apoptóticas conservan BH1 y BH2, aunque algunas pueden poseer hasta BH4, mientras que las pro-apoptóticas se dividen en aquellas que poseen BH3 más una combinación del resto o las que sólo contienen al primero, siendo el dominio necesario para su activación por dimerización con otra pro-apoptótica<sup>64</sup>.

| Pro-apoptóticas                   |                                                                    | Anti-apoptóticas                      |
|-----------------------------------|--------------------------------------------------------------------|---------------------------------------|
| Multidominio                      | Sólo dominio BH3                                                   |                                       |
| Bax, Bak, Bok, Bcl-xS y Bcl-rambo | Bid, Bad, Bim/Bod, Bik/Nbk, Hrk, Blk, Bmf, Nix, PUMA, Noxa y BNip3 | Bcl-2, Bcl-XL, A1, DIVA / BOO y NR-13 |

La apertura de los poros provoca la liberación citosólica de factores proapoptóticos como SMAC/DIABLO y Citocromo-C. El Citocromo-C, por ejemplo, una vez en el citosol se une al factor de activación tipo 1 de la proteasa apoptótica (Apaf-1) liberando su dominio de unión a ATP, molécula cuya inserción al complejo produce un cambio conformacional, formando un heptámero conocido como apoptosoma, que expone un dominio de unión a caspasas (CARD por Caspase Recruitment Domain) de Apaf-1<sup>65</sup>. Las cisteinil-aspartato proteasas (caspasas) son enzimas que existen de forma natural como zimógenos o proenzimas (procaspasas) y cuya activación a caspasa por escisión proteolítica puede darse por apoptosoma, proteínas adaptadoras asociadas a receptores de muerte, el complejo de señalización inductor de muerte (DISC por Death-Inducing Signaling Complex), inflamosomas o por otra caspasa<sup>66</sup>. En humanos se conocen 12 caspasas divididas en tres subgrupos, las iniciadoras (2, 8, 9 y 10) que son las primeras en activarse ante una señal apoptótica y cuya función es escindir (mediante un proceso conocido como cascada de caspasas) al segundo tipo, las efectoras (3, 6 y 7). Las iniciadoras 8 y 10 contienen un dominio efector de muerte (DED por Death Effector Domain), mientras que los tipos 2 y 9 poseen dominios CARD, esto con el fin de poder interaccionar con las proteínas que transmiten la señal de apoptosis. El tercer grupo corresponde a aquellas caspasas (1, 4, 5, 11 y 12) involucradas principalmente en procesos inflamatorios<sup>67</sup>. Cuando la procaspasa 9 se une al apoptosoma, se

convierte en caspasa 9 quien a su vez activará a la procaspasa 3. La caspasa 3 escindirá a otras procaspasas 3, así como a las tipo 6 y 7, iniciándose así una serie de proteólisis intracelular y la activación de endonucleasas, como la ADNasa activada por caspasas (CAD por Carbamoyl-Phosphate Synthetase 2), que corta el ADN en varios fragmentos<sup>68</sup>. La activación de procaspasa 3 es un paso que intersecta con la apoptosis extrínseca, que depende de la interacción de ligandos con receptores asociados a proteínas activadoras de caspasas. Los ligandos pueden provenir de forma soluble como TNF- $\alpha$  secretada por macrófagos, T-CD4<sup>+</sup>, NK, eosinófilos y neutrófilos, granzimas liberadas por NK y T-CD8<sup>+</sup> (empaquetadas en gránulos junto con perforina, que permite la entrada de granzima a la célula al formar poros en la membrana plasmática en una forma dependiente de calcio) o asociados a la superficie de NK y T-CD8<sup>+</sup>, como la proteína Fas. Las granzimas pueden escindir directamente a las procaspasas 3 o indirectamente al activar a Bid, para la inserción de las proteínas pro-apoptóticas Bax y Bak en la membrana mitocondrial externa<sup>21</sup>. Los receptores TNF y Fas poseen un dominio de muerte citoplasmático que, al ocurrir la activación por ligando, genera la unión de proteínas adaptadoras como la proteína asociada al dominio de muerte del receptor TNF (TRADD por Tumor Necrosis Factor Receptor Type 1-Associated Death Domain Protein) o Fas (FADD por Fas-Associated Death Domain Protein), respectivamente. Las proteínas adaptadoras inducen la agregación y activación de procaspasas 8 y 10 gracias a su dominio DED. Éstas inducen la apoptosis al activar a Bid o al escindir a las procaspasas 3, 6 y 7<sup>69</sup>.

Los cambios morfológicos celulares en apoptosis corresponden a la contracción y redondeo celular debido a la degradación del citoesqueleto, apreciándose un citoplasma denso con los organelos próximos entre sí, mientras que la cromatina comienza a condensarse contra la envoltura perinuclear (picnosis). Posteriormente, el núcleo se fragmenta en trozos con cromatina condensada (cariorrhexis). Ocurre la formación de protuberancias en membrana plasmática que se conforman en vesículas independientes, llamadas cuerpos apoptóticos, cuyo interior posee el material intracelular<sup>70</sup>. Los cuerpos apoptóticos muestran señales superficiales, que en condiciones normales se encuentran en la parte citoplasmática de la célula, como la calreticulina o fosfatidilserina (gracias a la activación de escramblasas y a la falta de acción de flipasas y flopasas) para ser reconocidas y fagocitadas<sup>71</sup>. De esta forma se reciclan elementos celulares y se evita la exposición al tejido de enzimas tóxicas, oxidantes, proteasas o patógenos y, por tanto, se evade una respuesta inmune amplificada<sup>72</sup>.

En el cáncer la apoptosis intrínseca puede verse regulada negativamente con la pérdida de función de p53, lo que resulta en una insuficiente detección del daño y estrés intracelular, así como una regulación a la alza y a la baja de proteínas anti-apoptóticas y pro-apoptóticas, respectivamente (sumado a la sobreexpresión de c-Myc que promueve la proliferación y reprime la apoptosis al inhibir a p21)<sup>73, 74</sup>. La sobreexpresión de proteínas anti-apoptóticas también puede darse de forma independiente a p53 con la mutación del gen Bcl-2 (protooncogén)<sup>75</sup>. La vía PI3K/AKT, involucrada en la señalización anti-apoptótica, puede estar constantemente activada debido a la pérdida de función de PTEN o a la sobreexpresión de IGF-1/IGF-2 e IL-3<sup>76</sup>. Por su parte, la alteración de la apoptosis extrínseca ocurre en el cáncer cuando las señales de muerte, como FAS-L, son evadidas por las células tumorales con la expresión de un receptor señuelo (DcR3 por Human decoy Receptor 3) que se unen a

este ligando, interrumpiendo la interacción con su debido receptor, bloqueando la señal pro-apoptótica<sup>77</sup>. Otro arquetipo en este mecanismo inhibitorio es la proteína inhibidora de la enzima convertidora de interleucina-1 tipo FADD (c-FLIP por Cellular FLICE [FADD-Like IL-1 $\beta$ -Converting Enzyme]-Inhibitory Protein), un homólogo catalíticamente inactivo de las caspasas 8 y 10 con capacidad de inhibir la interacción de estas con DISC<sup>78</sup>.

La autofagia es otro tipo de muerte celular programada que recicla compuestos intracelulares en condiciones de estrés con el fin de obtener catabolitos para mantener la biosíntesis y metabolismo energético basal hasta, en caso extremo de inanición, atravesar un umbral degradativo de no retorno que culmina en muerte celular. Se consideran tres tipos de autofagia: autofagia mediada por chaperonas (CMA por Chaperone-Mediated Autophagy), microautofagia y macroautofagia; la diferencia radica en la escala de degradación, pero todas convergen en el requerimiento de lisosomas para llevar a cabo la escisión de compuestos intracelulares<sup>79</sup>. CMA es una eliminación selectiva de proteínas que presentan la secuencia de aminoácidos KFERQ como motivo de reconocimiento por chaperonas<sup>80, 81</sup>. En la microautofagia ocurre una invaginación de la membrana lisosomal, diferenciándose dicha región en un tubo autofágico con vesículas en la parte superior que internan el material citoplasmático<sup>82</sup>. Y la macroautofagia es la forma más conocida de autofagia e inicia con la formación de una estructura de doble membrana denominada fagóforo (autofagosoma), que se elonga para internar compuestos citosólicos y se fusiona con lisosomas (generando autolisosomas)<sup>83</sup>. Existe controversia sobre el papel de la autofagia en el cáncer, ya que puede regular negativamente el crecimiento celular o eliminar de fuentes de estrés oxidativo, proteínas y organelos disfuncionales. Pero, por otro lado, podría ser un mecanismo fundamental en la supervivencia de células tumorales o en la amortiguación del estrés oxidativo producido por algunas quimioterapias<sup>84</sup>. Además, aquellas que sobreviven a la radioterapia y/o quimioterapia pueden activar la autofagia para permanecer en un estado de latencia promoviendo la recurrencia y progresión tumoral<sup>85</sup>.

El tercer tipo de muerte celular más conocido es la necrosis asociada a lesiones mecánicas y químicas, lisis celular, daño generado por la intrusión de patógenos o sus toxinas, desregulación osmótica y la escasez de ATP<sup>86</sup>. Una célula en un proceso necrótico sufre un aumento del volumen celular que involucra una hinchazón de los organelos y vacuolización del citoplasma, cambios en la morfología nuclear pero sin condensación de la cromatina, ADN fragmentado en piezas de 200 pares de bases (pb) y ruptura de la membrana plasmática, lo que conlleva a una liberación del material citosólico al espacio intracelular, incluyendo compuestos que actúan como señales pro-inflamatorias, ocasionando el desencadenamiento de la respuesta inmune<sup>87</sup>.

La necrosis solía interpretarse como un fenómeno en donde no existía un control molecular, pero en años recientes se ha visto que, en otras circunstancias acontece como una forma de muerte celular programada (necroptosis), llevada a cabo en condiciones donde la apoptosis es inhibida<sup>88</sup>. Sin embargo, la necrosis cumple un papel positivo en el desarrollo del cáncer al promover la inflamación, promoviendo el flujo de células inmunitarias capaces de fomentar la angiogénesis, proliferación y metástasis. Además, con la lisis celular pueden ser liberadas citocinas como IL-1 $\alpha$  que estimula la proliferación de células vecinas viables<sup>89</sup>.

### Inmortalidad replicativa

Las células no sólo limitan su proliferación a través de vías de señalización, sino que además cuentan con un potencial replicativo finito, conocido como senescencia celular, generado por el acortamiento de telómeros e inversamente relacionado con la expresión de p53 y pRb<sup>90</sup>. Los telómeros corresponden a los extremos de los cromosomas que protegen a dicha región del deterioro o de la fusión con otros cromosomas. Están compuestos por miles de repeticiones en tándem de secuencias de 6 pb y durante cada ciclo celular se pierden de 50 a 100 pb de ADN telomérico, debido a que las ADN polimerasas son incapaces de replicar los extremos 3' de la cadena retardada al eliminarse el cebador de ARN necesario para la síntesis de fragmentos de Okazaki. En células madre de línea germinal y de tejidos fetales, cuando parte de los telómeros se pierde en una división de celular, una ribonucleoproteína llamada telomerasa repone la misma secuencia de desoxirribonucleótidos (5'-TTAGGG-3') utilizando como molde una secuencia de ARN monocatenario, dado su papel de transcriptasa inversa. Sin embargo, esta enzima se encuentra progresivamente reprimida en células somáticas desde el nacimiento<sup>91</sup>. Una vez que se ha perdido gran parte de información contenida en los telómeros después de cierto número de repeticiones, conocido como el límite de Hayflick, los extremos cromosómicos desprotegidos sufren fusiones con otros cromosomas (desorden cariotípico), desembocando en muerte celular<sup>92</sup>. En experimentos in vitro con fibroblastos humanos con expresión reprimida de p53 y pRb, se obtuvieron mayores tasas de duplicación a los 40-70 ciclos normales. Posteriormente experimentaron muerte celular masiva, fusión de cromosomas y en algunos se halló una capacidad de replicación sin límite (inmortalización replicativa)<sup>93</sup>. Este mismo fenotipo replicativo se observa en cultivos de células tumorales donde el 80-90% de éstas lo logran a través de la activación de la telomerasa<sup>94</sup> y el resto mediante la regulación positiva de un mecanismo independiente de telomerasa nombrado "alargamiento alternativo de telómeros" (ALT por Alternative Lengthening of Telomeres), donde el ADN telomérico homólogo sirve como plantilla para la extensión o bien, que el propio telómero forme una especie de bucle, de modo que puede utilizar su propia secuencia de ADN como plantilla<sup>95</sup>. La activación de la telomerasa puede generarse de forma tardía en células cancerosas, dando lugar a cariotipos aberrantes que aumentan la inestabilidad genómica y por lo tanto, incrementan la probabilidad de que existan mutaciones promotoras de tumores; consecutivamente, la expresión de la telomerasa asegura un genotipo mutante con capacidad replicativa ilimitada<sup>96</sup>. Incluso mantener la longitud de los telómeros por encima de un umbral que genere un fenotipo inmortal puede ser prerequisite en la inducción tumoral<sup>97</sup>.

### Inducción de la angiogénesis

Un vaso sanguíneo intercambia, suministra y transporta gases, nutrientes, metabolitos y células en la sangre. En la embriogénesis ocurre la síntesis de nueva vasculatura cuando células del mesoderma que rodean la pared del saco vitelino se diferencian en hemangioblastos, que migran y conjuntan formando islotes donde se diferencian a hemocitoblastos (células madre hematopoyéticas), dando origen a leucocitos y angioblastos<sup>98</sup>. La

diferenciación a angioblastos depende de estímulos dados por la proteína morfogénica ósea 4 (BMP4 por Bone Morphogenetic Protein 4), Indian Hedgehog (IHH), VEGF y FGF2<sup>99</sup>. Asimismo, la concentración en regiones específicas de proteínas, como VEGF-A y semaforina-3A (SEMA3A), guían la migración de angioblastos a sitios donde se diferenciarán a células endoteliales que, junto con tejido conectivo y lámina basal, formarán al vaso<sup>98</sup>. La síntesis inicial de vasos sanguíneos se conoce como (neo)vasculogénesis y precede a la angiogénesis (producción de estos a partir de vasos preexistentes). La angiogénesis también ocurre en el adulto durante la cicatrización, formación de placenta y menstruación, así como en enfermedades como psoriasis, endometriosis, artritis reumatoide, diabetes mellitus y cáncer<sup>100</sup>. La angiogénesis inicia con la migración y proliferación de células endoteliales, las cuales eventualmente se unen gracias a moléculas de adhesión célula-célula y célula-matriz, para finalmente madurar en vasos sanguíneos cuando pericitos y células de músculo liso (que otorgan soporte mecánico y fisiológico a las células endoteliales) las recubren<sup>101</sup>. El sistema VEGF A-D, el factor de crecimiento placentario (PGF por Placental Growth Factor) y sus respectivos receptores en células endoteliales son los principales actores en la activación de la angiogénesis<sup>102</sup>. La expresión de VEGF aumenta con estímulos hipóxicos y/o isquémicos mediados por el factor inducible de hipoxia-1 $\alpha$  (HIF-1 $\alpha$  por Hypoxia-Inducible Protein 1-Alpha), EGF, TGF- $\alpha/\beta$ , factor de crecimiento de queratinocitos (KGF por Keratinocyte Growth Factor), IGF-1, PDGF y FGF, así como IL-1 e IL-6, estrógenos, óxido nítrico (NO) y mutaciones en oncogenes y genes supresores tumorales como Ras y p53, respectivamente<sup>103</sup>. Una vez surgida la interacción de VEGF con su receptor, se induce la proliferación de células endoteliales y el aumento de la permeabilidad vascular. También se promueve la migración celular al estimular la producción de metaloproteinasas de matriz (MMP por Matrix Metalloproteinases) y angiopoyetina-2 (ANG2), ya que entre células endoteliales y pericitos existe una membrana basal de proteínas de matriz extracelular la cual es degradada por las MMPs, mientras que ANG2 impulsa su desacoplamiento, promoviéndose así la invasión y metástasis<sup>104</sup>. Las células endoteliales también se ven sujetas a modificaciones morfológicas que resultan en un nuevo subtipo conocido como células punta, cuya característica principal es el poseer filopodios y lamelipodios que guían la ramificación vascular y la diferenciación de las células tallo mediante la expresión de VEGF-A, haciendo también que estas proliferen elongando así la neovasculatura que en este punto ya contará con el lumen necesario para el tránsito de sangre y solutos<sup>105</sup>. En cáncer, la angiogénesis permite el suministro de O<sub>2</sub> y nutrientes, al igual que el desecho de metabolitos secundarios y CO<sub>2</sub>. Para lograrlo se vale de la activación de inductores de la angiogénesis como VEGF debido a la ganancia y pérdida de función del gen Ras y Von Hippel-Lindau (VHL)<sup>106</sup>, respectivamente, de la activación de FGF<sup>107</sup> y la inhibición de represores de este proceso como la tromboespondina-1 (TSP-1) a través de la pérdida de función de p53, quien regula positivamente a TSP-1. TSP-1 interactúa con CD36 en células endoteliales, regulando negativamente en éstas las vías de supervivencia celular al impedir el acceso de factores de crecimiento o al promover la expresión de Fas-L en otros tipos celulares para que estos induzcan apoptosis en las células endoteliales<sup>108</sup>. La red vascular formada por el tumor se caracteriza por una gran cantidad de ramificaciones enrevesadas, donde frecuentemente ocurren microhemorragias y que poseen un tamaño mayor al existente en condiciones fisiológicas, así como una menor cobertura de pericitos<sup>109</sup>.

Células potencialmente cancerígenas surgen todos los días dentro del organismo, pero éstas son reconocidas y eliminadas por el sistema inmune. Por ende, el desarrollo de un tumor también depende de su capacidad de evadir el reconocimiento inmune disminuyendo la cantidad de células cancerosas altamente inmunogénicas e incorporando a su favor a las células de este sistema. Esto es sólo parte final de una serie de tres eventos (eliminación, equilibrio y escape) conocidos en conjunto como inmunoedición. Este proceso describe la detección natural de los fenotipos tumorales, así como el sobrepaso paulatino del umbral en el que el sistema inmune es incapaz de eliminar la amenaza cancerígena y actúa en favor del cáncer<sup>110</sup>.

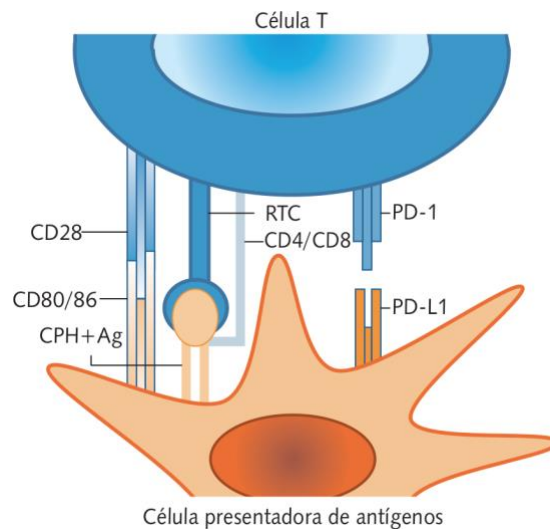
La fase de eliminación es conocida como inmunovigilancia, en donde las células tumorales son eliminadas por el sistema inmune. Si la eliminación es parcial existirá un estado dinámico de eliminación y supervivencia (fase de equilibrio), donde gran parte de las células tumorales son eliminadas, pero aquellas sobrevivientes podrán permanecer latentes o continuar adquiriendo modificaciones genéticas que, por un lado, aumenten su potencial cancerígeno y, por el otro, las sigan manteniendo lo insuficientemente inmunogénicas para continuar evadiendo el reconocimiento inmune, contando cada vez más con estirpes altamente inmunogénicas y dando inicio a la progresión tumoral que corresponde a la última fase de la inmunoedición (fase de escape)<sup>111</sup>.

En un inicio de la progresión tumoral el organismo promueve la infiltración al microambiente tumoral de células del sistema inmune. Sin embargo, eventualmente las células tumorales logran que las acciones efectoras de estas células se tornen a su favor. Lo anterior, aunado a la secreción de factores proinflamatorios por parte de las células tumorales o de las células del microambiente tumoral inducidas por las primeras, son los principales mecanismos mediante los cuales el tumor provoca el estado inflamatorio crónico, mecanismo de retroalimentación positiva que funge como medio para la gestación de esta conversión funcional<sup>49</sup>. La expresión aberrante de MHC-I en la superficie de células cancerosas, la secreción de TGF- $\beta$  o el reclutamiento de células inmunosupresoras como Tregs o de origen mieloide (MDSC por Myeloid-Derived Suppressor Cells), puede inhibir la proliferación y funciones de linfocitos T-CD8<sup>+</sup> y NK infiltrantes antitumorales<sup>112, 113</sup>. Los leucocitos que auxilian en la progresión tumoral induciendo el estado de inflamación crónica, lo realizan a través de una presencia e infiltración tumoral recurrente y una secreción constante de moléculas proinflamatorias. También pueden sintetizar proteinasas como MMPs, catepsina y heparanasa para degradar componentes de la matriz extracelular<sup>115</sup>. Estos factores estimulan la aparición y/o mantenimiento de la mayoría de hallmarks<sup>114, 116, 49</sup>.

La degranulación de neutrófilos libera al medio proteasas como MMPs o la elastasa que promueve el crecimiento tumoral al inducir la proliferación celular hiperactivando la vía de PI3K<sup>117</sup>. Los fagolisosomas de los neutrófilos infiltrantes contienen enzimas como la nicotinamida adenina dinucleótido fosfato (NADPH) que reduce el O<sub>2</sub> en anión superóxido (O<sub>2</sub><sup>-</sup>), que puede convertirse en peróxido de hidrógeno (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>). Estos dos últimos son ROS altamente reactivos debido a que en su última capa energética contienen un electrón de valencia desapareado que puede ionizar al ADN o proteínas, produciendo efectos genotóxicos o proteotóxicos que favorecen la tumorigénesis<sup>118</sup>.

Las células tumorales pueden secretar lactoferrina y expresar CD47 que interaccionan con la proteína alfa reguladora de señal (SIRPα por Signal Regulatory Protein α) en fagocitos, funcionando como señal inhibitoria de fagocitosis<sup>119</sup>. La expresión a la alza del antígeno carcinoembrionario (ACE) y mucina-1 (MUC1) inhibe la presentación antigénica a células T al limitar los antígenos fagocitados por células dendríticas a endosomas tempranos, impidiendo así su completo procesamiento y presentación. La secreción constante de IL-10 por las células tumorales detiene la maduración de células dendríticas. La producción de la linfopoyetina estromal tímica (TSLP por Thymic Stromal Lymphopoietin) induce la expresión del ligando del miembro 4 de la superfamilia de receptores de TNF (TNFSF4) que promueve la generación de Th2, involucradas la tumorigénesis al secretar IL-4 e IL-13 que previenen la apoptosis de células tumorales y promueven su proliferación<sup>120</sup>.

Un mecanismo ampliamente estudiado en las últimas décadas son las proteínas del punto de control inmunitario, receptores que al interactuar con sus respectivos ligandos son capaces de inactivar la respuesta inmune y que dentro del contexto tumoral se encuentran sobreexpresadas: el gen-3 de activación de linfocitos (LAG-3 por Lymphocyte Activation Gene 3), inmunoglobulina de células T mucina-3 (TIM-3 por T cell Immunoglobulin and Mucin-domain Containing-3), molécula-1 de adhesión celular relacionada con el antígeno carcinoembrionario (CEACAM-1 o CD66a por Carcinoembryonic Antigen-related Cell Adhesion Molecule 1), receptor CD200 (CD200R), inmunoreceptor de células T con dominios Ig e ITIM (TIGIT por T cell Immunoreceptor with Ig and ITIM domains), antígeno-4 asociado al linfocito T activado (CTLA-4 o CD152 por Cytotoxic T-lymphocyte Antigen 4) y el receptor de muerte celular programada-1 (PD-1 o CD279 Programmed Death Cell Protein 1), siendo éstas dos últimas las de mayor relevancia clínica<sup>121</sup>. CTLA-4 se encuentra en la superficie de linfocitos T-CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> activados y es un homólogo de la proteína coestimuladora CD28, por lo tanto, en la superficie de los linfocitos T compite con ésta última, con mayor afinidad y avidéz por la unión con CD80 (B7-1)/CD86 (B7-2) en la superficie de las APC<sup>122</sup>. En el cáncer, CTLA-4 se encuentra altamente expresado en la superficie celular de los linfocitos T-CD4<sup>+</sup>, así una vez que ocurre la interacción de APC's con estos, la doble unión CD28 + CD152 con CD80/CD86 o la unión simple de CTLA-4 con CD80/CD86 inhibe la señal coestimuladora necesaria para la activación de los linfocitos T-CD4<sup>+</sup> vírgenes a partir de varios mecanismos. Algunos de estos incluyen el impedir la acumulación de factores de transcripción en el núcleo de los T-CD4<sup>+</sup> como NF-κB, la proteína activadora-1 (AP-1 por Activating Protein 1) y del factor nuclear de células T activadas (NFAT por Nuclear Factor of Activated T-cells), disminuyendo de esta manera la síntesis de citocinas<sup>123</sup>. También puede controlar la proliferación celular al inhibir a la ciclina D3 y a las ciclinas dependientes de cinasas 4 y 6 o por otra parte interrumpir en el papel de citocinas en la activación, como IL-2, al disminuir los niveles de actividad de la quinasa regulada por señal extracelular (ERK) y de las quinasas c-Jun N-terminal (JNK), induciendo la inhibición de su síntesis<sup>122</sup>. Por otra parte, PD-1 se encuentra en las membranas plasmáticas de los linfocitos B, células dendríticas, NK, macrófagos, linfocitos T-CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>, así como en estos mismos después de la activación<sup>124, 125</sup> (figura 5).



*Figura 5. El MHC I o II muestran el antígeno (CPH + Ag) al linfocito T  $CD8^+$  o  $CD4^+$ , respectivamente, quienes lo reconoce mediante el TCR (RTC) y son activados por coestimulación gracias a la unión CD28-CD80/CD86. Aproximadamente 24 horas después de esta interacción, las moléculas de coestimulación negativa, como PD-1, se expresan en la superficie de los linfocitos, quienes interaccionan con sus respectivos ligandos en APC o células endoteliales y epiteliales para inhibir la respuesta inmune<sup>126</sup>.*

Con el fin de detener la respuesta inmune y evitar un estado de inflamación crónica que puede desencadenar en daño tisular, PD-1 se une a sus ligandos PD-L1 (B7-H1 o CD274) en células epiteliales, endoteliales, dendríticas, macrófagos, fibroblastos, linfocitos B y T ( $CD4^+$  y  $CD8^+$ ), y a PD-L2 (B7-DC o CD273) en linfocitos T y B, células dendríticas, endoteliales, monocitos y macrófagos<sup>127, 128</sup>. En el timo, la interacción de PD-1 con sus ligandos inhibe la diferenciación e induce la apoptosis de linfocitos T que no reconocen los autoantígenos y que, por lo tanto, representan una amenaza potencial de desarrollo de enfermedad autoinmune. En tejidos periféricos, dicha interacción limita la activación (al interactuar con CD80), expansión y diferenciación de los linfocitos T hacia el estado efector, así como su anergia o agotamiento o la apoptosis de aquellos ya activados<sup>129</sup>. Sin embargo, las células tumorales adquieren la capacidad de expresar ambos ligandos de PD-1 en su superficie (a modo de impedir el ataque inmunitario) gracias al estado inflamatorio crónico que conduce al aumento en la secreción de IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , IL-2, IL-7, IL-10 e IL-15 por parte de linfocitos T, NK y otras células del microambiente tumoral, que regulan la expresión de PD-1 y PD-L1, así como por IL-4 y GM-CSF en el caso de PD-L2<sup>130</sup>. Las mutaciones en PTEN, ALK y EGFR también se han relacionado íntimamente con la expresión a la alza de PD-L1<sup>131</sup>. La sobreexpresión de CTLA-4 y PD-1 (así como de otras proteínas del punto de control inmunitario) en el cáncer no es mutuamente excluyente (aunque esta doble condición no siempre está presente), sino que pueden actuar en las mismas fases del desarrollo tumoral si se habla de inhibir la activación de los linfocitos T o bien, en diferente contexto si PD-1 y sus ligandos evitan la eliminación inmunológica de las células tumorales.

### Reprogramación del metabolismo energético

Un hallazgo inesperado en el estudio del cáncer fue la identificación de un metabolismo prevalentemente anaeróbico en las células tumorales, ya que el acelerado crecimiento, división y proliferación de éstas apoyaban la suposición de una posible desregulación en la fosforilación oxidativa a favor de la neoplasia para solventar la demanda de ATP. En 1930, Otto Warburg denominó un efecto de forma homónima, en donde las células tumorales obtienen la gran mayoría de su ATP por medio de glucólisis (incluso en presencia de O<sub>2</sub>), metabolismo únicamente utilizado por encima de la fosforilación oxidativa en medios anaeróbicos<sup>132</sup>. Este estado, denominado “glucólisis aeróbica”, se ve favorecido al regularse a la alza la expresión de transportadores de glucosa GLUT1 en la superficie de células tumorales, fenómeno asociado a la mutación en P35, RAS y Myc<sup>133</sup>. La necesidad de un metabolismo glucolítico se aprecia en un enfoque extracelular, ya que la proliferación celular en un tumor excede a la angiogénesis inducida, por lo que el suministro de O<sub>2</sub> se ve progresivamente limitado a aquellas células próximas a vasos sanguíneos, mientras el resto es sometido a hipoxia. Esta condición induce la activación de HIF-1 $\alpha$  y HIF-2 $\alpha$ , que también están involucrados en la regulación de la glucólisis<sup>134</sup>.

A nivel intracelular se piensa que el optar por este metabolismo es la clave para dirigir los metabolitos intermedios de la glucólisis a las vías biosintéticas de nucleósidos y aminoácidos, necesarios para la formación de macromoléculas y organelos, facilitándose así la acelerada división celular. Por su parte, el piruvato producido al final de la vía es convertido a ácido láctico; una subpoblación de células tumorales se distingue por secretar el lactato hacia el medio y otra subpoblación, la que recibe mayor aporte de O<sub>2</sub>, por tomar el lactato secretado para generar piruvato que es dirigido a la mitocondria para llevar a cabo el ciclo de Krebs<sup>135</sup>. Así se asegura una provisión energética a aquellas células en hipoxia y además se reciclan intermediarios de la vía como parte de una red de cooperación metabólica, un fenómeno similar al que ocurre en células musculares.

### Capacidad de invadir y generar metástasis

Dentro de un tejido las células epiteliales mantienen la integridad de éste al permanecer ordenadas y unidas a través uniones celulares que, dependiendo el tipo, lograrán conectar a la célula con aquellas contiguas a ella y/o con su matriz extracelular. Las principales uniones celulares son las estrechas (occludinas, claudinas, PDZ y JAM), de anclaje (desmosomas y adherentes como el cinturón de adhesión), formadoras de canales, también conocidas como comunicantes o gap junctions (conexinas) y célula-matriz (adhesiones focales y hemidesmosomas)<sup>9</sup>. La mayoría de estas uniones se manifiestan a través de un grupo de moléculas de adhesión celular (CAM por Cell Adhesion Molecules) transmembranales, cuyo extremo intracelular se conecta con el citoesqueleto, mientras el extremo extracelular interactúa con los diversos componentes en el medio. Las CAM son de tipo homofílicas si la interacción es con una molécula homóloga (cadherina con cadherina, por ejemplo) y heterofílicas si la molécula es también capaz de unirse a otras de diferente tipo. Existen cuatro CAM homofílicas (cadherinas) y/o heterofílicas (integrinas, selectinas e IgSF) principales<sup>9, 136</sup>:

1. Cadherinas: CAM dependientes de calcio. Se unen a los microfilamentos del citoesqueleto.
2. Integrinas: receptores de adhesión que transportan señales extracelulares en membrana plasmática.
3. Selectinas: receptores de adhesión que funcionan como señal para la unión de células de origen hematopoyético y que, por lo tanto, están involucradas en la respuesta inflamatoria.
4. Superfamilia de las Inmunoglobulinas (IgSF): poseen un dominio estructural conocido como Plegamiento de inmunoglobulina. Esta familia abarca varias de las proteínas transmembranales mencionadas con anterioridad, como TCR, Ig, MHC, receptores de citocinas, correceptores, moléculas de coestimulación e inhibición, así como a moléculas de adhesión intercelular (ICAM por Intercellular Adhesion Molecules) y de células vasculares (VCAM por Vascular Cell Adhesion Molecule), entre otras.

En las células de carcinoma generalmente se observan alteraciones en morfología y uniones intercelulares, principalmente de tipo CAM. Estos acontecimientos son la base del fenómeno de invasión y metástasis, el cual está dividido en una secuencia de eventos conocida como cascada de invasión-metástasis<sup>137</sup>:

1. Invasión local: invasión del espacio tisular próximo al tumor primario.
2. Invasión del sistema vascular: una vez disociadas de matriz extracelular y del resto de tejido, las células tumorales pueden circular libremente hacia los vasos sanguíneos y linfáticos cercanos al tejido de origen.
3. Invasión de tejidos adyacentes y distantes mediante extravasación.
4. Micrometástasis: Formación de pequeños nódulos de células cancerosas.
5. Colonización: crecimiento de lesiones micrometastásicas a tumores macroscópicos (tumor secundario).

Una vía por la cual se reconoce la adquisición de la capacidad de invasión es la transición epitelio-mesenquimal (EMT por Epithelial Mesenchymal Transition), es decir, el conjunto de procesos que conducen a la conversión de células epiteliales en mesenquimales (células madre que pueden generar tejido óseo y conectivo). En condiciones normales, la EMT sólo se observa en embriogénesis o regeneración tisular, pero en condiciones patológicas como el cáncer, participan un conjunto de factores de transcripción (Snail, Twist, Zeb1/2, Slug), cuyos efectos incluyen la pérdida de uniones intercelulares, cambios en la conformación del citoesqueleto (alternando a una morfología celular fusiforme) y del colágeno extracelular, desorganización de membrana plasmática, síntesis de MMPs, aumento de motilidad, resistencia a apoptosis, decremento en la expresión de E-cadherina y aumento de N-cadherina y vimentina, así como pérdida de la polaridad apicobasal. Este conjunto de fenómenos resultan en delaminación y migración celular<sup>138, 139</sup>. Las células del estroma también participan en la adquisición de la capacidad invasiva, como células madre mesenquimales secretoras de CCL5 o macrófagos en la periferia del tumor sintetizando MMPs al ser estimulados por IL-4 producido por células tumorales<sup>139</sup>. Una vez que una célula tumoral migra deja de estar influenciada por estímulos estromales y de EMT, por lo que entra en un estado no invasivo. Debido a ello, estas células recurren a una estrategia reversiva,

la transición mesenquimal-epitelial (MET por Mesenchymal–Epithelial Transition) para que las células colonizadoras exhiban un fenotipo similar al del tumor primario antes de someterse de nuevo a EMT<sup>140</sup>.

Además de EMT y MET, existen otras vías para la adquisición de la capacidad invasiva. La invasión colectiva involucra la migración en conjunto de nódulos de células cancerosas hacia los tejidos adyacentes al tumor primario. También existe el tipo de invasión ameboide donde las células tumorales experimentan una plasticidad morfológica que les permite desplazarse a través de intersticios entre la matriz extracelular con una locomoción ameboide, evitando así la necesidad de proteasas que despejen el camino<sup>141</sup>. Por último se encuentran las células del sistema inmune atraídas hacia el microambiente mediante citocinas para que produzcan los factores necesarios para el crecimiento invasivo, ya sea para que las células cancerosas eviten hacerlo por ellas mismas si es compleja la entrada al estado EMT o bien, como parte de un proceso de cooperativo<sup>142</sup>.

Antes de la metástasis ocurre la micrometástasis, que puede no estar siempre seguida por la primera y carecer de la capacidad de inducir angiogénesis, por lo que la colonización es un proceso complejo que requiere del establecimiento de un microambiente tumoral permisivo con clara participación del estroma, al igual que de la supervivencia y adaptación de las células invasoras a través de la expresión de diferentes subtipos de integrinas (como  $\alpha 3 \beta 1$  o  $\alpha V \beta 3$ ) que se unan a distintos componentes del estroma degradados por proteasas en lugar de componentes de la matriz extracelular presente en el epitelio normal. También se requiere la expresión a la alza de los genes de proteasas extracelulares (y su activación) y a la baja de los genes inhibidores de estas<sup>143, 144</sup>. La metástasis representa el 90% de las muertes por cáncer en humanos y consta de la diseminación a tejidos distantes del tumor primario, la adaptación final de las células cancerosas colonizadoras y la transición de micrometástasis a tumor macroscópico<sup>145</sup>. Una vez alcanzada la colonización, el tumor secundario puede diseminarse a otros tejidos o invadir el propio tumor primario. Si bien la invasión y metástasis pueden ser un mecanismo intrínseco de la tumorigénesis, la disponibilidad de nutrientes y  $O_2$  asociados a una creciente masa celular en un tejido, también motivan a la adquisición de dichos caracteres<sup>146</sup>.

### Inestabilidad genómica

Cada uno de los hallmarks del cáncer mencionados posee a última escala y como factor común, la progresiva alteración genómica que lleva a la adquisición del fenotipo neoplásico. Este fenómeno tiene como base a la selección natural, ya que a través de sucesivas expansiones clonales se puede proveer a una célula de ciertas ventajas de supervivencia y proliferación sobre el resto gracias a las mutaciones genómicas originadas de forma espontánea, a la exposición a agentes mutagénicos y a los mecanismos epigenéticos (como la metilación del ADN y modificaciones de histonas), que conducen a la adquisición de las funciones asociadas a la progresión tumoral. Esto lleva a una célula a atravesar por fallas en su maquinaria de reparación genómica y de detección de errores, así como a la pérdida de integridad del genoma (como la eliminación progresiva de ADN telomérico, lo cual se ha visto directamente asociado a la inestabilidad cariotípica y a la amplificación y delección de segmentos cromosómicos) y al desarrollo de una mayor sensibilidad a los agentes mutagénicos<sup>49</sup>.

### Clasificación histológica del cáncer

El cáncer puede ser clasificado por su lugar de origen en: primario (si las células tumorales son propias del tejido en donde se presenta la enfermedad) y secundario (si las células tumorales provienen de un tejido diferente a donde se originó un tumor primario)<sup>147</sup>. A nivel histológico la clasificación depende del tipo de tejido en donde se origina el cáncer<sup>148</sup>. Existen seis grandes grupos descritos en la tabla 3.

Tabla 3. Clasificación histológica del cáncer<sup>149</sup>.

| Clasificación    | Origen                                   | Ejemplos                                                 |
|------------------|------------------------------------------|----------------------------------------------------------|
| <b>Carcinoma</b> | Tejido epitelial                         | Adenocarcinoma o carcinoma de células pequeñas           |
| <b>Sarcoma</b>   | Tejido muscular, conjuntivo y de soporte | Osteosarcoma, miosarcoma, condrosarcoma, liposarcoma     |
| <b>Mieloma</b>   | Células B plasmáticas de médula ósea     | IgG, IgA, IgD, IgE, IgM y de cadena ligera o Bence Jones |
| <b>Leucemia</b>  | Leucocitos de médula ósea                | Linfocítico o mielocítico                                |
| <b>Linfoma</b>   | Nódulos linfáticos                       | Linfoma de Hodgkin o Linfoma no Hodgkin                  |
| <b>Mixto</b>     | Combinación                              | Carcinomas adenoescamosos, carcinosarcomas, etc.         |

#### **IV. Cáncer de pulmón (CP)**

De entre todos los tipos de cáncer, el CP ocupó el tercer lugar en incidencia (2,206,771 casos) y primer lugar en mortalidad a nivel mundial (1,796,144 defunciones; tasa de mortalidad del 81.39%) en 2020. En hombres ocupó el primer lugar en ambos aspectos (1,435,953 casos y 1,188,679 defunciones) y en mujeres el tercer y segundo lugar (770,828 casos y 607,465 defunciones)<sup>150</sup>. La gran tasa de mortalidad del CP es principalmente debida a que la mayoría de los diagnósticos se realizan en etapas avanzadas ( $\geq 90\%$  de los diagnósticos)<sup>151</sup>. En México, durante el 2020 se reportaron 195,499 casos de cáncer. 105,963 ocurrieron en mujeres (54.2%) y 89,536 en hombres (45.79%). De ese total, 7,588 fueron en CP, 4,503 en hombres (59.34%) y 3,085 (40.65%), con una mortalidad del 93.46%. 7,092 personas fallecieron a causa de esta enfermedad, 4,299 hombres (60.61%) y 2,793 mujeres (39.38%), otorgando al CP el onceavo y sexto lugar en incidencia y mortalidad en nuestro país (cuarto y segundo lugar en hombres y décimo y séptimo lugar en mujeres, respectivamente)<sup>150</sup>.

Histológicamente, el CP se divide en dos grandes carcinomas con base en el aspecto morfológico de las células tumorales: cáncer de pulmón de células pequeñas (CPCP) o microcítico y cáncer de pulmón de células no

pequeñas (CPCNP) o no microcítico, siendo este último el de mayor incidencia (> 80%)<sup>152</sup>. Los otros tipos de CP son los tumores carcinoides pulmonares (5% de todos los CP), adenoides quísticos, linfomas y sarcomas<sup>153</sup>.

Los síntomas asociados al CP dependen de la localización del tumor y su diseminación. Los tumores pulmonares localizados son los responsables de ocasionar disnea, hemoptisis, tos crónica, dolor torácico y enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), aunque este último también puede ser un factor etiológico. El derrame pleural, derrame pericárdico, disfonía, síndrome de vena cava superior o síndrome de Pancoast son síntomas asociados a diseminación intratorácica, mientras que astenia, dolor óseo, problemas neurológicos y pérdida de peso se asocian a metástasis distal. Las etapas tempranas suelen ser asintomáticas, de ahí el porqué los sujetos acudan al médico mayoritariamente en etapas avanzadas<sup>154, 155</sup>. Su diagnóstico recae en imágenes obtenidas por radiografías de tórax, tomografía computarizada (TC) y tomografía por emisión de positrones (TEP), estudios de laboratorio (biometría hemática, química sanguínea, pruebas de función hepática, tiempos de coagulación y marcadores tumorales como el antígeno carcinoembrionario), broncoscopia y biopsia<sup>156, 155</sup>.

Una vez diagnosticado el CP, se realiza su estadificación, que no es más que un análisis del grado de desarrollo y esparcimiento de la enfermedad desde su sitio de origen con el fin de determinar el tratamiento y pronóstico del paciente. En CP se utiliza la clasificación TNM: características/extensión del tumor (T), afectación de nódulos linfáticos regionales (N) y metástasis distal (M). La octava edición TNM en CP clasifica de la siguiente forma<sup>157</sup>:

T:

- Tx: confirmado histopatológicamente por presencia de células malignas en lavados o secreciones broncopulmonares, sin poder ser medido o demostrado broncoscópicamente y/o por radiografías.
- T0: sin evidencia de tumor primario. Tis: carcinoma in situ.
- T1: tamaño de la masa tumoral  $\leq 3$  cm.
  - T1mi: adenocarcinoma poco invasivo. T1a: extensión superficial con componente invasivo limitado a pared bronquial. T1b:  $> 1$  cm y  $\leq 2$  cm. T1c: tamaño  $> 2$  cm y  $\leq 3$  cm.
- T2: tamaño  $> 3$  cm y  $\leq 5$  cm. T3: tamaño  $> 5$  cm y  $\leq 7$  cm. T4: tamaño  $> 7$  cm.

N:

- Nx: los nódulos linfáticos regionales no pueden ser evaluados.
- N0: sin afectación de los nódulos linfáticos regionales.
- N1: afectación de los nódulos linfáticos hiliares ipsilaterales y/o peribronquiales ipsilaterales.
- N2: afectación de los nódulos linfáticos mediastínicos y/o subcarinales ipsilaterales.
- N3: afectación de cualquiera de los siguientes grupos de nódulos linfáticos: mediastinal contralateral, hilar contralateral, escaleno contralateral o ipsilateral y nódulos supraclaviculares.

M:

- M0: sin metástasis distal.
- M1: con metástasis distal.
  - Subdivisiones: M1a (nódulos tumorales separados en un lóbulo contralateral al del tumor primario o a tumores con nódulos pleurales, pericárdicos o con derrame maligno). M1b (metástasis extratorácica única). M1c (múltiples metástasis extratorácicas en uno o más órganos).

Dada cierta clasificación de T, N y M, estos se pueden clasificar en diferentes estadios:

- Carcinoma oculto: TxN0M0. Estadio 0: TisN0M0.
- Estadio IA1: T1aN0M0 y T1(mi)N0M0, IA2: T1bN0M0, IA3: T1cN0M0 o IB: T2aN0M0.
- Estadio IIA: T2bN0M0 y IIB: T(1-2)N1M0 o T3N0M0.
- Estadio IIIA: T(1-2)N2M0, T3N1M0 o T4N(0-1)M0, IIIB: T(1-2)N3M0 o T(3-4)N2M0 y IIIC: T(3-4)N3M0.
- Estadio IVA: cualquier T con cualquier N y M1a,b y estadio IVB: cualquier T con cualquier N y M1c.

Los pacientes de CPCNP diagnosticados en estadios I tienen una tasa de supervivencia de hasta el 80%, en comparación con aquellos diagnosticados en estadios IV, cuya tasa decae hasta el 5%. Generalmente, el 50% de los pacientes no sobrevive más de un año desde el diagnóstico y sólo del 15% al 18% de los pacientes tratados sobreviven más de 5 años. El 70% de los pacientes son diagnosticados en estadios tardíos<sup>158</sup>.

### Cáncer de pulmón de células no pequeñas (CPCNP).

El CPCNP tiene una menor tasa de crecimiento y expansión tumoral que el CPCP, aún así se reconoce como un cáncer de alta agresividad, desarrollándose y convirtiéndose en metastásico en un período de tiempo relativamente corto. Se desarrolla a partir de células epiteliales pulmonares (desde alvéolos terminales hasta bronquios principales). Posee varios subtipos y por determinación histopatológica se pueden clasificar en diferenciados (apariencia similar a células de origen), moderadamente diferenciados (con pocas características morfológicas de las células de origen) y pobremente diferenciados (apariencia muy distinta a células de origen). Existen tres subtipos histológicos principales de acuerdo al lugar de origen tumoral en el tejido pulmonar<sup>159, 155</sup>:

1. Adenocarcinoma: 40% de todos los casos de CPCNP. Se forma en el tejido pulmonar periférico (en células alveolares tipo II, principalmente) y el nombre proviene de su semejanza con células glandulares. Principalmente ocurre en fumadores o ex fumadores, aunque también es el subtipo de CPCNP principal en no fumadores o en pacientes con enfermedades pulmonares previas. Existen subtipos histológicos de adenocarcinoma cuyo nombre proviene de su aspecto morfológico o semejanza a otras células de vías respiratorias: bronquioalveolar (mucinoso y no mucinoso), células claras, adenoescamoso, papilar, micropapilar, epidermoide (o mucoepidermoide), acinar, sólido y lepidico.

2. Carcinoma de células escamosas: del 25% al 30% de todos los casos de CPCNP. Se origina próximo a un bronquio central en células escamosas de tracto respiratorio. Mayormente asociado a tabaquismo. Los subtipos conocidos son: carcinoma epidermoide de células claras, papilar y basaloide.
3. Carcinoma de células largas (o células grandes): del 10% al 15% de todos los casos de CPCNP. Se presenta en tejido pulmonar periférico o central, por lo que puede ser hallado en cualquier parte del pulmón. Su nombre hace referencia al exceso de citoplasma, núcleos grandes y nucleolos conspicuos de las células tumorales. De rápido crecimiento y esparsión. Es otro tipo de carcinoma no epidermoide o no escamoso (como el adenocarcinoma). Los subtipos conocidos son el carcinoma de células grandes o largas, neuroendocrino, de células claras, de tipo linfopitelioma, rabdoide y basaloide.

## **V. Principales factores etiológicos en CPCNP**

### **Tabaquismo**

El tabaquismo provoca cada año el 22% de muertes por cáncer y el 71% por CPCNP a nivel mundial<sup>155</sup>. Hasta el 75% de todos los casos de CPCNP se deben a tabaquismo<sup>160</sup>. Una persona que ha consumido una cajetilla diaria por 40 años, posee un riesgo 20 veces mayor de desarrollar CPCNP, comparado con una persona que jamás ha fumado<sup>155</sup>. El riesgo es directamente proporcional a la duración e intensidad del hábito, este puede ser medido a través del Índice Tabáquico (IT), calculado con la siguiente fórmula:

$$\frac{(\text{Números de cigarrillos al día}) (\text{Número de años como fumador})}{20} = \text{Número de paquetes de cigarro al año}$$

Los fumadores pasivos poseen hasta un 30% más de probabilidad de desarrollar la enfermedad en comparación con individuos no expuestos<sup>161</sup>. El 1.6% de los casos de CPCNP corresponden a fumadores pasivos<sup>162</sup>.

### **Humo de leña**

La combustión de leña despliega una mezcla de gases y partículas (material particulado o PM) que se alojan en el tracto respiratorio provocando inflamación, así como compuestos orgánicos cancerígenos como hidrocarburos policíclicos aromáticos, formaldehído, acroleína y benceno (agentes mutagénicos que pueden llevar al desarrollo de CPCNP<sup>163</sup>). La exposición a humo de leña se calcula conociendo el número de horas y cantidad de años que se ha estado expuesto a este factor. Por ejemplo, cinco horas al día por 20 años de exposición equivalen a 100 h/año. Valores por encima de 200 h/año ya se consideran de riesgo en CPCNP<sup>155</sup>.

### Asbesto

Las fibras de silicatos del asbesto son inhaladas y alojadas en el tejido pulmonar donde pueden incrustarse provocando daño, alteraciones en membranas pulmonares y una respuesta inmune exacerbada que ocasiona inflamación crónica (asbestosis). Estas alteraciones pueden desembocar en CPCNP. La exposición puede ser directa en la industria, construcción y minería o indirecta por presencia en materiales de vivienda<sup>164</sup>.

### Radón

El radón es un gas noble radiactivo producto de la desintegración del uranio presente en rocas subterráneas, el cual emana a la superficie a través de grietas y aberturas en ésta. Una vez inhalado, las partículas radiactivas se adhieren al tejido pulmonar, donde continúan emitiendo radiación alfa que ioniza moléculas, lo que puede ocasionar daño en ADN, generando mutaciones que desemboquen en CPCNP<sup>165</sup>.

### Edad, factores hereditarios y genéticos

La edad avanzada (el promedio de diagnóstico en CPCNP es de 63 años), con historial familiar de CPCNP, polimorfismos en los cromosomas 5, 6 y 15, así como mutaciones en el gen p53 representan factores de riesgo en CPCNP. El 8% de todos los tumores pulmonares se deben a factores hereditarios<sup>156, 166, 167</sup>. Los oncogenes que normalmente presentan mutaciones en CPCNP son EGFR, HER2, KRAS, ALK, BRAF, AKT1, ROS1, NRAS y MAP2K1, siendo aquellas en EGFR y KRAS las de mayor frecuencia. También se han detectado mutaciones en ERBB2, ALK-EML4 y KIF5B-RET. Normalmente, las mutaciones en estos oncogenes son mutuamente exclusivas, mientras que pueden presentarse de forma simultánea mutaciones en p53, pRb y PI3KA<sup>168</sup>.

### Contaminación

Los aerosoles de sulfatos, partículas PM de 2.5-10 µm de diámetro y dióxido de nitrógeno (NO<sub>2</sub>) por arriba de las 10 partes por millón (ppm), emisiones ricas en varios compuestos de hidrocarburos aromáticos policíclicos y metales pesados en alimentos y agua de uso diario representan la causa del 1-2% de CPCNP, probablemente por estrés oxidativo, inflamación crónica y disfunción del sistema nervioso autónomo<sup>156, 162</sup>.

### Consumo de alcohol

El consumo diario de  $\geq 30$  g de alcohol otorga 1.21 y 1.16 veces más riesgo de contraer la enfermedad en hombres y mujeres, respectivamente, con respecto a los no consumidores. Esto posiblemente debido a la oxidación de etanol hacia acetaldehído (molécula carcinogénica), a la acción prooxidativa del etanol sobre tejidos

como el pulmonar o sobre lípidos como los que conforman la membrana plasmática, a la inducción por parte del etanol de la expresión de enzimas relacionadas al metabolismo carcinogénico en células asociadas al tejido pulmonar o a la inclusión de otras moléculas de carácter carcinogénico en las bebidas alcohólicas<sup>169</sup>.

## **VI. Tratamientos en CPCNP**

Las características clínicas y patológicas (clínico-patológicas) del paciente, como el desarrollo y extensión de la enfermedad, factores etiológicos de exposición, peso, estatura, etc. determinan el tipo de tratamiento en cáncer. Los objetivos del tratamiento son la curación (terapia curativa), que corresponde a la consecución de una estado libre de la enfermedad en términos clínicos y patológicos, la paliación (terapia paliativa) de los síntomas y/o la prolongación de la supervivencia tratando de mantener el estado funcional del paciente. Dentro de estos intentos se pueden integrar los estudios experimentales (ensayos clínicos) que buscan probar e identificar alternativas con los tratamientos farmacológicos disponibles, ya sea modificando las indicaciones terapéuticas de administración, generando combinaciones o comparando los tratamientos en distintos grupos de pacientes<sup>170</sup>.

Los ensayos clínicos se realizan con pacientes (algunos pueden incluir voluntarios sanos), condiciones controladas y siguiendo un protocolo específico. Representa un mecanismo para obtener respuestas a cuestiones clínicas con el menor sesgo posible. Existen 4 tipos de ensayos clínicos, conocidos como “fases”<sup>171</sup>:

- Fase I: en pacientes con tumores refractarios a tratamientos convencionales o en pequeños grupos de voluntarios sanos. Se caracterizan las propiedades de la droga como la farmacología, farmacocinética, farmacodinámica, toxicidad aguda, máxima dosis tolerada, toxicidad tolerable y limitante, para caracterizar la seguridad del tratamiento y la pauta de administración para estudios posteriores.
- Fase II: se busca determinar la actividad antitumoral y el perfil exacto de toxicidad del fármaco a corto plazo en un grupo relativamente homogéneo de pacientes, estableciéndose relaciones dosis-respuesta.
- Fase III: se estudia la eficacia y seguridad del fármaco en el régimen de tratamiento para determinar su actividad terapéutica y toxicidad con respecto a los tratamientos estándar. Se distingue por incluir una gran cantidad de pacientes estratificados en grupos comparables por factores pronósticos. Posteriormente, los pacientes son aleatorizados para recibir el tratamiento experimental o control.
- Fase IV: estudios post-comercialización y multicéntricos para evaluar la administración de un fármaco. Así se pueden determinar nuevas indicaciones y esquemas de dosificación, seguridad y toxicidad a largo plazo que hayan sido pasados por alto en los ensayos previos. Pueden incluir miles de pacientes y se realizan una vez que el fármaco ha sido utilizado en la práctica clínica.

Los ensayos clínicos son evaluados a través de una serie de parámetros aceptados por la Organización Mundial de la Salud (OMS)<sup>170, 172, 173</sup>.

- Progresión de la enfermedad (PE): nuevas masas tumorales o crecimiento  $\geq 25\%$  de cualquier masa medible.
- Enfermedad estable (EE): reducción en  $< 50\%$  o crecimiento en  $< 25\%$  de cualquier masa medible.
- Respuesta completa (RC): desaparición del tumor en al menos 2 observaciones separadas por 4 semanas.
- Respuesta parcial (RP): reducción en  $\geq 50\%$  del tamaño tumoral y sin progresión o aparición de durante cuatro semanas mínimo, incluyendo aquellas masas medibles diseminadas.
- Supervivencia global (SG): período de tiempo en el que el paciente sobrevive desde el diagnóstico de la enfermedad o el comienzo del tratamiento de primera línea hasta el fallecimiento del paciente. Normalmente se reporta como una tasa de supervivencia a cinco años.
- Supervivencia libre de enfermedad (SLE): período de tiempo en el que el paciente sobrevive sin síntomas o signos de la enfermedad después de finalizar el tratamiento.
- Supervivencia libre de progresión (SLP): período de tiempo durante y después del término de la administración del tratamiento en el que el paciente sobrevive sin presentar PE.
- Duración de la respuesta (DR): período de tiempo que transcurre desde la confirmación de una RP, RC o EE hasta la PE. Para los pacientes que logran la RC, DR es equivalente a la SLE.
- Tiempo hasta la progresión (TP): período de tiempo que abarca la entrada al tratamiento hasta la PE.
- Tasa de respuesta (TR): determina si un paciente está respondiendo al tratamiento con base en criterios de evaluación como la Evaluación de Respuesta en Tumores Sólidos (RECIST).
- Tasa de respuesta objetiva (TRO): porcentaje del total de pacientes con RP o RC al término del tratamiento.
- Toxicidad asociada al tratamiento: evaluación de los efectos adversos asociados al tratamiento mediante escalas como Criterios Comunes de Toxicidad (CTC) que clasifica la toxicidad en 5 grados (de 0 a 4).
- Estado Funcional: evaluación de la efectividad en la realización de actividades cotidianas con la escala ECOG (Eastern Cooperative Oncology Group), que clasifica de 0 (plena actividad) a 5 (fallecimiento) o mediante la escala de Karnofsky, que evalúa la severidad de la enfermedad de acuerdo a los síntomas y grado de discapacidad que produce, desde el 100% (sin síntomas ni discapacidad) hasta el 0% (fallecimiento).

Para el CPCNP se pueden emplear varias modalidades terapéuticas, siendo las más comunes la cirugía (resección), radioterapia y quimioterapia, así como combinaciones entre éstas. Pero en la última década las terapias dirigidas, como las inmunoterapias, han surgido como una alternativa con una mayor eficacia en los resultados obtenidos en comparación con la mayoría de radioterapias y quimioterapias<sup>155</sup>.

### Cirugía

La cirugía es una terapia local que se realiza para extirpar total o parcialmente un tumor. La resección total del tumor sigue siendo el mejor tratamiento en CPCNP y en todos los CP, en general. Sin embargo, algunos tumores son inoperables especialmente en pacientes con enfermedad avanzada, debido al esparcimiento de la neoplasia o bien, porque se localiza en una región inoperable. Es por ello que la mayoría de candidatos a cirugía son

pacientes con CPCNP en estadios tempranos (I-IIIa). Las intervenciones quirúrgicas más comunes en CPCNP son la segmentectomía (resección de una pequeña parte de tumor y tejido pulmonar), lobectomía (extirpación del lóbulo donde se localiza el tumor), neumonectomía (resección de todo el pulmón afectado) y la linfadenectomía mediastínica (se retiran los ganglios linfáticos situados entre los dos pulmones)<sup>174</sup>.

### Radioterapia

La radioterapia consiste en la exposición del paciente a rayos X de alta energía emitidos por un acelerador lineal sobre un área específica en el cuerpo para producir la muerte celular (directamente con el daño al ADN o indirectamente por la producción de ROS). Suele administrarse en pacientes con enfermedad tardía (curativa o paliativa), aunque también en aquellos con enfermedad temprana que no fueron aptos para cirugía para reducir el tamaño del tumor y hacer viable la resección o tras la cirugía con el fin de eliminar remanentes tumorales<sup>175</sup>. Así como en la cirugía, la radioterapia arroja mejores resultados curativos que las terapias farmacológicas cuando se trata de tumores localizados (estadios I-II) y presenta escaso valor en el tratamiento de enfermedad diseminada (estado más común en CPCNP dado su frecuente diagnóstico tardío)<sup>170</sup>. Por ello es común que la radioterapia sea aplicada en combinación con quimioterapia (terapia concomitante o quimioradioterapia) con intenciones curativas sobre todo en aquellos con tumores irresecables<sup>176</sup>. Los tipos de radioterapia más comunes en CPCNP son la radioterapia de haz externo (EBRT por External Beam Radiation Therapy), estereotáctica de cuerpo (SBRT por Stereotactic Body Radiation Therapy) y la radioterapia hiperfraccionada<sup>177</sup>.

### Quimioterapia

La quimioterapia consiste en la administración intravenosa, regional u oral de fármacos (llamados antineoplásicos o citostáticos/citotóxicos) de tipo alcaloides vegetales, agentes alquilantes, agentes hormonales, antibióticos antitumorales, inhibidores de topoisomerasas o antimetabolitos. Estos tienen la capacidad de interrumpir el desarrollo, crecimiento y/o ciclo celular. Su uso puede tener fines curativos o paliativos y dependiendo del momento en el que se administre será de tipo de inducción (primera línea con enfermedad avanzada<sup>178</sup>), neoadyuvante (administración antes de terapia principal para reducir el tamaño tumoral), adyuvante (administración después de la resección total para eliminar remanentes tumorales) o concomitante (etapas avanzadas de la enfermedad o con neoplasias irresecables)<sup>179</sup>. Cada tratamiento de quimioterapia se administra por un número determinado de ciclos. Cada ciclo suele consistir en dos sesiones quincenales. Dentro de los parámetros recomendados para cada fármaco, la dosis a administrar también dependerá de la extensión y agresividad de la enfermedad, así como la respuesta del paciente a la droga. Si la administración de un fármaco es continua por encima de 4-6 ciclos se conoce como terapia de mantenimiento. En pacientes con enfermedad avanzada se suelen administrar combinaciones de 2 fármacos (esta segunda droga puede ser también una terapia dirigida) por 4 y 6 ciclos<sup>180</sup>. La quimioterapia (y radioterapia), afecta a todas

las células en general, pero el mayor daño es sobre aquellas con las mayores tasas de división, como las células cancerosas. Esta es la razón de la mayoría de efectos adversos que presentan los pacientes, ya que las células del sistema digestivo, de folículos capilares y de origen hematopoyético se dividen con mayor frecuencia que el resto, aunque a diferencia de las células cancerosas éstas pueden recuperarse, haciéndolos temporales<sup>177</sup>.

### Docetaxel

Los pacientes con CPCNP estadios  $\geq$  IIIA no suelen ser aptos para cirugía o ésta otorga un pronóstico bajo de supervivencia, por lo que en ellos el tratamiento de primera línea suele ser quimioterapia basada en agentes alquilantes, como cisplatino o carboplatino, en combinación con taxanos o bien, estos últimos como monoterapia en segunda línea<sup>11</sup>. Los taxanos son terpenos derivados de plantas del género *Taxus* que pueden ser producidos sintéticamente. Se les considera agentes antimitóticos porque impiden la división celular al unirse directamente a la  $\beta$ -tubulina en el sitio de unión luminal de los microtúbulos, lo que promueve la polimerización y estabilización de microtúbulos e inhibe la despolimerización de protofilamentos, ocasionando el bloqueo mitótico en el límite de metafase-anafase, observándose a nivel celular una placa incompleta de cromosomas en metafase y microtúbulos del huso mitótico con una organización anormal. El resultado final es la apoptosis asociada a la inhibición por fosforilación de Bcl-2. Además, utilizados de forma concomitante magnifican los efectos de la radioterapia arrojando a las células en las fases G2 y M, las más radiosensibles del ciclo celular<sup>181</sup>. Docetaxel es un fármaco semisintético análogo al taxano Paclitaxel derivado de la 10-deacetilbaccatina III, extraído de las hojas de *Taxus baccata*<sup>182</sup>. Ambos presentan una rápida absorción en tejidos, semividas de eliminación prolongadas y disposición hepática sustancial, pero Docetaxel posee una afinidad de unión a  $\beta$ -tubulina 1.9 veces mayor que Paclitaxel e induce la polimerización del microtúbulo a una concentración crítica de tubulina 2.1 veces menor. Además, la pendiente inicial de la reacción de ensamblaje de microtúbulos, la cantidad de polímero formado y la citotoxicidad in vitro y en xenoinjertos tumorales también es mayor con Docetaxel<sup>183, 184</sup>. En 1996 fue aprobado su uso en cáncer de mamá y en 1999 para CPCNP por la Administración de Alimentos y Medicamentos de Estados Unidos (FDA)<sup>185</sup>. En combinación con platinos se administra a una dosis de 75 mg/m<sup>2</sup> seguida de la misma dosis del platino de elección, ambos mediante infusión intravenosa por goteo durante 1 hora cada tres semanas hasta completar 4-6 ciclos. Si se indica como monoterapia es en segunda línea con los mismos lineamientos de administración. A modo de premedicación se administran corticosteroides orales como dexametasona (8 mg dos veces al día, por tres días iniciando en el día previo a la administración de Docetaxel) para reducir la incidencia y gravedad de retención de líquidos y reacciones de hipersensibilidad<sup>186</sup>. Existe la posibilidad de que se adquiriera resistencia al tratamiento con taxanos como Docetaxel. Las células cancerosas pueden poseer  $\beta$ -tubulinas deterioradas en su capacidad de polimerización, tasa reducida de ensamblaje de microtúbulos, expresiones diferenciales de isotipos de tubulinas, disminución en la formación de haces de microtúbulos o en la expresión de Bcl-2, así como una amplificación en la expresión de fosfoglicoproteínas de membrana que funcionan como bombas de eflujo del fármaco<sup>181</sup>.

### Terapias dirigidas: inmunoterapia

Las terapias dirigidas consisten principalmente en la administración oral o intravenosa de ciertos fármacos que tienen como objetivo proteínas o moléculas celulares específicas. Esto les otorga una mayor efectividad que la quimioterapia, pero sólo si la neoplasia y/o el microambiente tumoral contienen la molécula diana. Además, dada la plasticidad y la alta tasa mutacional del cáncer, en muchas ocasiones las células tumorales adquieren resistencia contra el fármaco<sup>177</sup>. En CPCNP existen terapias dirigidas contra algunas de las mutaciones más comunes asociadas a esta enfermedad, como en los genes codificantes de la proteínas linfoma quinasa plástica (ALK por Anaplastic Lymphoma Kinase), oncogén c-ros 1 (ROS1 por Protooncogene Tyrosine-Protein Kinase) o EGFR. Drogas como Alectinib y Ceritinib (anti-ALK), Crizotinib (anti-ALK y ROS1), Erlotinib, Afatinib y Gefitinib (anti-EGFR) se unen a estas proteínas para inhibir su función<sup>187</sup>. Otro tipo de terapia dirigida es la inmunoterapia, que se basa en el uso de fármacos que estimulan y magnifican la respuesta del sistema inmune o bien, que permiten su correcto funcionamiento al inhibir proteínas específicas que interfieren con los mecanismos de identificación y eliminación. Los tipos más reconocidos de inmunoterapia se resumen en la tabla 4.

Tabla 4. Principales inmunoterapias en el tratamiento oncológico, su función y administración: oral (O), intravenosa (IV), intramuscular (IM), intraperitoneal (IP) o tópica (T).

| Inmunoterapia                                       | Función                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         | Administración |
|-----------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------|
| Inhibidores del punto de control inmunitario (ICIs) | Anticuerpos, generalmente monoclonales, que inhiben a las proteínas que desactivan la respuesta inmune.                                                                                                                                                                                                                                                                                         | O e IV         |
| Receptor de antígeno quimérico de células T (CAR-T) | Se extraen células T de un paciente para combinarlas con un virus inactivo que interfiere con el material genético de la célula para que ésta exprese en su superficie el receptor CAR que reconocerá un antígeno específico en células tumorales. Posteriormente estos linfocitos CAR-T se administran al mismo paciente para que reconozcan e induzcan el ataque hacia las células tumorales. | IV             |
| Citocinas                                           | Citocinas administradas para que activen o aumenten la respuesta inmune.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | IV e IM        |
| Vacunas contra el cáncer                            | Inducen la respuesta inmune al constar de células cancerosas, partes individuales o antígenos de éstas o bien, de linfocitos extraídos del paciente y expuestos in vitro a los antígenos tumorales, para reconocer el tumor y atacarlo.                                                                                                                                                         | IM             |
| Inmunomoduladores                                   | Fármacos que estimulan (cáncer) o suprimen la respuesta inmune (enfermedades autoinmunes y trasplante de órganos para evitar el rechazo).                                                                                                                                                                                                                                                       | IV, IM, IP y T |
| Virus oncolíticos                                   | Virus modificados genéticamente que infectan y eliminan células cancerosas.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | IV e IM        |

Los inhibidores del punto de control inmunitario, como Pembrolizumab, Ipilimumab, Atezolizumab, Durvalumab y Nivolumab, entre otros, son de las inmunoterapias más utilizadas en CPCNP<sup>189, 190</sup>.

### Pembrolizumab

En el caso de los inhibidores del punto de control inmunitario, CTLA-4 y PD-1/PD-L1 son las proteínas para las cuales se han desarrollado la mayor cantidad de anticuerpos monoclonales. Ipilimumab se une a CTLA-4 en la superficie de los linfocitos T, pero en la actualidad sólo ha sido aprobado por la FDA para el tratamiento de melanoma, persistiendo en fases de prueba para otras neoplasias malignas, como el CPCNP<sup>191</sup>. Para el eje PD-1/PD-L1 se han desarrollado diferentes opciones en CPCNP. En el caso de PD-L1, Atezolizumab (Tecentriq) y Durvalumab (Imfinzi) son los fármacos aprobados para CPCNP, mientras que para PD-1 se cuenta con Pembrolizumab (MK-3475 o Keytruda) y Nivolumab (Opdivo)<sup>192</sup>.

Pembrolizumab es un anticuerpo monoclonal IgG4-κ que al unirse a PD-1 en la superficie de los linfocitos T impide su interacción con los ligandos PD-L1 y PD-L2, permitiendo así la respuesta inmune por parte de esta subpoblación celular en contra del tumor<sup>193</sup>. Fue aprobado en 2016 por la FDA para el tratamiento de CPCNP y suele ser el inhibidor de PD-1 por elección en primera línea como agente único para pacientes con enfermedad localmente avanzada o metastásica, negativos a las mutaciones en EGFR y ALK y con una proporción tumoral (TPS, el porcentaje de células tumorales viables que muestran tinción parcial o completa de la membrana plasmática para este receptor) de PD-1  $\geq 50\%$  en estadios IV o bien, en estadios III que no fueron aptos para cirugía o quimioterapia concomitante. En primera línea también puede ser administrado en combinación con platinos-Pemetrexed y Carboplatino-Paclitaxel en aquellos pacientes con CPCNP metastásico no escamoso. En segunda línea está aprobado como monoterapia en aquellos pacientes que tuvieron progresión de la enfermedad después de la quimioterapia con platinos con un TPS de PD-1  $\geq 1\%$ . Pembrolizumab sólo es administrado en pacientes EGFR y ALK positivos que tuvieron un progreso de la enfermedad después de recibir un tratamiento ante estas mutaciones<sup>192</sup>. La dosis suministrada es de 200 mg cada tres semanas (antes de la quimioterapia si es en combinación) mediante infusión intravenosa durante 30 minutos por un lapso de hasta 24 meses si antes no se detecta progresión de la enfermedad o toxicidad inaceptable<sup>194</sup>.

### Herbst, R. S. et al. (2016).

La terapia de Docetaxel en combinación con Pembrolizumab no ha sido probada con anterioridad en CPCNP, pero el primer ensayo clínico que buscó comparar directamente (aunque de forma individual) a ambos fármacos en términos de SG y SLP en pacientes con CPCNP estadio IV fue KEYNOTE-010<sup>195</sup>. El estudio se llevó a cabo entre 2013 y 2015 en 202 centros médicos académicos en 24 países, con 1034 pacientes hombres y mujeres > 18 años, TPS PD-L1  $\geq 1\%$  y que progresaron a una primera línea de quimioterapia doble basada en platino o a la terapia con inhibidores de tirosina cinasa (TKI) en aquellos positivos a las mutaciones de EGFR, ALK-ROS1 o BRAF. Los sujetos de estudio fueron asignados por aleatorización 1:1:1 a uno de tres grupos: Pembrolizumab (2 mg/kg), Pembrolizumab (10 mg/kg) y Docetaxel (75 mg/m<sup>2</sup>). Cada tratamiento fue administrado de forma intravenosa cada 3 semanas hasta la progresión o fallecimiento. A su vez, los sujetos de estudio fueron analizados en dos grupos: población total y TPS  $\geq 50\%$  de PD-L1. Para todos los pacientes, el valor de SG para ambos tratamientos de Pembrolizumab (2 y 10 mg/kg) fue significativamente mayor al de Docetaxel y esto, aunado a una mejora significativa en SLP, se obtuvo en aquellos pacientes TPS  $\geq$  PD-L1 (tabla 5). La frecuencia de pacientes que sufrieron efectos adversos grado 3-5 fue de 13% y 16% para los tratamientos con Pembrolizumab frente al 35% con Docetaxel. Esto demuestra los beneficios del tratamiento con inmunoterapia especialmente en sujetos con una gran expresión de inhibidores del punto de control inmunitario como PD-L1 en estadios avanzados de la enfermedad.

La relevancia de este trabajo para el presente estudio consta en que fue el primer ensayo clínico fase 3 en evaluar la respuesta y determinar diferencias significativas, en términos de supervivencia, del tratamiento con Pembrolizumab o Docetaxel en pacientes con CPCNP.

### Barrera, L. et al. (2015)

El desarrollo de un panel de expresión de citocinas en CPCNP ha sido previamente desarrollado en México entre el 2013 y el 2014, resultado de un trabajo en conjunto de investigadores del Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias y el Instituto Nacional de Cancerología<sup>196</sup>. El estudio constó de 110 pacientes con CPCNP de tipo histológico adenocarcinoma en estadios IIIB y IV sin tratamiento previo, así como 25 sujetos sanos como control de entre 45 y 75 años, que no recibieron tratamiento farmacológico de cualquier tipo dos semanas previas al inicio de la toma de muestra sanguínea, que no tuvieron antecedentes familiares de cáncer de pulmón, propios de alguna enfermedad autoinmune, enfisema pulmonar o algún otro tipo de diagnóstico oncológico. Todos los pacientes en el estudio tuvieron un valor de ECOG entre 0 y 2 (o Karnofsky  $\geq 60\%$ ).

El modelo fue generado a través de minería de datos y el perfil abarcó la expresión plasmática de 14 citocinas asociadas a procesos inflamatorios al momento del diagnóstico (IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12p70, IL-

17A, IL-27, IL-29, IL-31, IL-33, IFN- $\gamma$  y TNF- $\alpha$ . Los pacientes con CPCNP tuvieron concentraciones significativamente mayores de IL-6, IL-8, IL-12p70, IL-17A e IFN- $\gamma$  y significativamente menores de IL-29 e IL-33 con respecto a los controles. De las concentraciones de las 14 citocinas analizadas, 13 se asociaron positiva o negativamente con al menos una característica clínico-patológica bajo estudio. Las medianas de SLP y SG de los pacientes fueron de 9.1 y 16.4 meses, respectivamente. La citocina IL-6 fue la única que presentó una relación significativa con alguno de estos parámetros, ya que estuvo asociada con los valores más bajos de SG, siendo aquellos pacientes con los mayores niveles de concentración de esta citocina ( $> 8.2$  pg/mL) los que presentaron una mediana de 11.7 meses de SG, comparados con los 22 meses obtenidos con aquellos que tuvieron una concentración  $\leq 8.2$  pg/mL. El análisis de minería de datos fue efectuado a través de los algoritmos de K-Means y EM (Expectation-Maximization) para formar los clústers de pacientes de acuerdo a los niveles de concentración de las 14 citocinas presentados por estos. De esta forma, se obtuvieron 3 clústers, 1, 2 y 3, de 16, 80 y 14 pacientes, respectivamente. Con estos clústers formados, realizaron un análisis de correlación sobre las características clínico-patológicas y los valores de biometría hemática, hallando diferencias significativas en los valores de hemoglobina (entre las medianas de los clústers 2 y 3) y albúmina (entre la mediana del clúster 3 con las medianas de los clústers 1 y 2). De igual manera, se encontró una diferencia significativa entre los valores de mediana de SG entre el clúster 2 (16.9 meses) y el clúster 3 (5.1 meses).

La importancia de este antecedente para el presente estudio recae en que demostró que es factible realizar un perfil de concentración de citocinas en CPCNP que se asocie con las características clínico-patológicas a través de clústers de concentración generados a través de minería de datos.

Arrieta-Rodríguez, O. G. et al. (2020).

El presente trabajo forma parte del ensayo clínico aleatorizado fase dos llevado a cabo en el Instituto Nacional de Cancerología en la Ciudad de México cuyo objetivo principal consistió en evaluar, desde diciembre de 2016 hasta mayo de 2019, la seguridad y eficacia de la combinación del tratamiento Pembrolizumab (200 mg) más Docetaxel (grupo 1), en comparación con la monoterapia de Docetaxel (grupo 2), en 78 pacientes con CPCNP avanzado (estadios IIIB y IV), sin importar su estatus de EGFR ni expresión de PD-L1, con valor ECOG 0 y 1, enfermedad medible de acuerdo a los criterios de evaluación de respuesta en tumores sólidos (RECIST por Response Evaluation Criteria In Solid Tumors) versión 1.1 y que fallaron al tratamiento de primera línea con platinos (y de TKI para aquellos con mutaciones en EGFR)<sup>197</sup>. Los pacientes fueron aleatorizados 1:1 hacia ambos grupos de tratamiento. Las variables clínicas de respuesta analizadas fueron RO, SLP, SG y la seguridad del tratamiento. La combinación Pembrolizumab más Docetaxel mostró una adecuada tolerancia a su administración y mejoró sustancial y significativamente los valores de OR y SLP, en comparación con el tratamiento de Docetaxel como monoterapia.

De dicho ensayo clínico fase 2 fueron seleccionados los 40 pacientes (de los 78 totales) para la elaboración del presente trabajo y cuyos resultados pueden contrastarse directamente con los obtenidos en éste.

El cáncer de pulmón es la principal causa de muerte relacionada con cáncer a nivel mundial. Para los sujetos con CPCNP (representando hasta el 85% de todas las neoplasias malignas pulmonares) en estadios avanzados (IIIB y IV) que presentan un tumor no inducido por mutaciones o sin asociación a la expresión de PD-L1  $\geq 1\%$ , existen pocas opciones de tratamiento después de una primera línea. Para los candidatos a una segunda línea, el uso de quimioterapia con un solo agente, como Docetaxel, resultaba el cuidado estándar después del fracaso al tratamiento de primera línea. En años recientes, la terapia con Pembrolizumab ha resultado una alternativa esperanzadora en tratamientos de primera y segunda línea. A pesar de esto, los valores históricos de las tasas de SLP y SG en CPCNP son de escasos meses debido a la agresividad de la enfermedad<sup>197</sup>. Lo anterior refleja la importancia de generar nuevas alternativas de tratamiento a los esquemas de monoterapia, como lo es la combinación de Pembrolizumab y Docetaxel, cuyos efectos sobre los valores de respuesta han sido superiores, en comparación con los obtenidos con la administración de Docetaxel como monoterapia<sup>195, 197</sup>. Además, deben desarrollarse nuevos métodos de análisis que permitan predecir o determinar la eficacia del tratamiento, así como posibilitar la identificación del estado y evolución de la enfermedad con mayor detalle. En este aspecto, las citocinas representan un potencial biomarcador en pacientes con CPCNP, ya que pueden calcularse los valores de concentración plasmática al momento del diagnóstico, con el objetivo de asociarlo de forma pronóstica a las opciones de tratamiento. De igual forma, pueden ser medidos los cambios específicos en dichas concentraciones durante el tratamiento, de manera que podría determinarse la eficacia de éste de forma temprana, permitiendo el reajuste anticipado del esquema de tratamiento. Por lo tanto, este campo de investigación poco desarrollado en el área de evaluación clínica representa un método poco invasivo y de rápida obtención, en comparación con otros métodos como los de imagen que requieren de una progresión visible (que en ocasiones no suele hallarse hasta que la enfermedad ha progresado de forma letal) o cuyos métodos de obtención pueden llegar a ser altamente invasivos, al grado de poner en riesgo la vida del paciente y por ende optarse por no realizarse, como en el caso de las biopsias para los análisis histológicos.

Previo al estudio de Arrieta y colaboradores en 2020, del cual desemboca este trabajo, no existía algún ensayo clínico aleatorizado que hubiese determinado la respuesta en términos de supervivencia a la combinación de Pembrolizumab con Docetaxel en pacientes con CPCNP previamente tratados con una quimioterapia basada en platinos (esquema base en aquellos que no son candidatos a resección y que representan la gran mayoría de las personas diagnosticadas con esta enfermedad en México), ni que asociara las características clínico-patológicas y de respuesta con las concentraciones plasmáticas de citocinas, antes y después de la administración del tratamiento. El desarrollo de un modelo de expresión plasmática de citocinas permitirá generar un modelo de valores pronósticos de la enfermedad que determine el mejor tratamiento, así como valores que demuestren la necesidad de cambio o reajuste en éste, de forma ágil, especializada y con menor riesgo a la integridad de cada paciente con CPCNP.

## **Hipótesis**

---

H0:

No existen diferencias significativas en las concentraciones plasmáticas de citocinas entre los pacientes con Cáncer de Pulmón de Células No Pequeñas tratados con Docetaxel como monoterapia o en combinación con Pembrolizumab que permiten generar agrupaciones por perfiles de expresión de éstas a través de minería de datos y que se asocian con las características clínico-patológicas, los valores de biometría hemática y de respuesta al tratamiento.

H1:

Existen diferencias significativas en las concentraciones plasmáticas de citocinas entre los pacientes con Cáncer de Pulmón de Células No Pequeñas tratados con Docetaxel como monoterapia y en combinación con Pembrolizumab que permiten generar agrupaciones por perfiles de expresión de éstas a través de minería de datos y que se asocian con las características clínico-patológicas, los valores de biometría hemática y de respuesta al tratamiento.

## Objetivos

---

### **Objetivo general**

Cuantificar los niveles plasmáticos de citocinas en pacientes con cáncer de pulmón de células no pequeñas previamente tratados con una primera línea de quimioterapia basada en platinos para determinar si es posible su agrupación por minería de datos y si existe una asociación con las características clínico-patológicas, los valores de biometría hemática y de respuesta al tratamiento con Docetaxel como monoterapia o en combinación con Pembrolizumab.

### **Objetivos específicos**

1. Recopilar los datos de las características clínico-patológicas de los sujetos bajo estudio.
2. Aislar el plasma de las muestras de sangre periférica.
3. Evaluar la concentración plasmática de las citocinas.
4. Determinar los valores de tasa de respuesta objetiva, supervivencia libre de progresión y supervivencia global.
5. Correlacionar la concentración plasmática de las citocinas con las características clínico-patológicas y de respuesta.
6. Generar perfiles de expresión plasmática de citocinas asociados a las características clínico-patológicas y de respuesta.
7. Evaluar los perfiles de expresión de citocinas como un potencial biomarcador de respuesta al tratamiento.

### Diseño del estudio

El estudio constó de 78 pacientes de CPCNP del Instituto Nacional de Cancerología asignados aleatoriamente a dos grupos de tratamiento: Docetaxel (40) y Docetaxel más Pembrolizumab (38)<sup>197</sup>. De estos, para el análisis de concentración plasmática de citocinas se eligieron a aquellos de los que se dispusiera de ambas muestras sanguíneas, dado que algunos pacientes no contaban con la segunda toma al término del 4-6 ciclo de Docetaxel (por pérdida de seguimiento o fallecimiento). Como resultado, este estudio incluyó 21 pacientes del grupo de Docetaxel más Pembrolizumab y 19 del grupo de Docetaxel como monoterapia (figura 6).

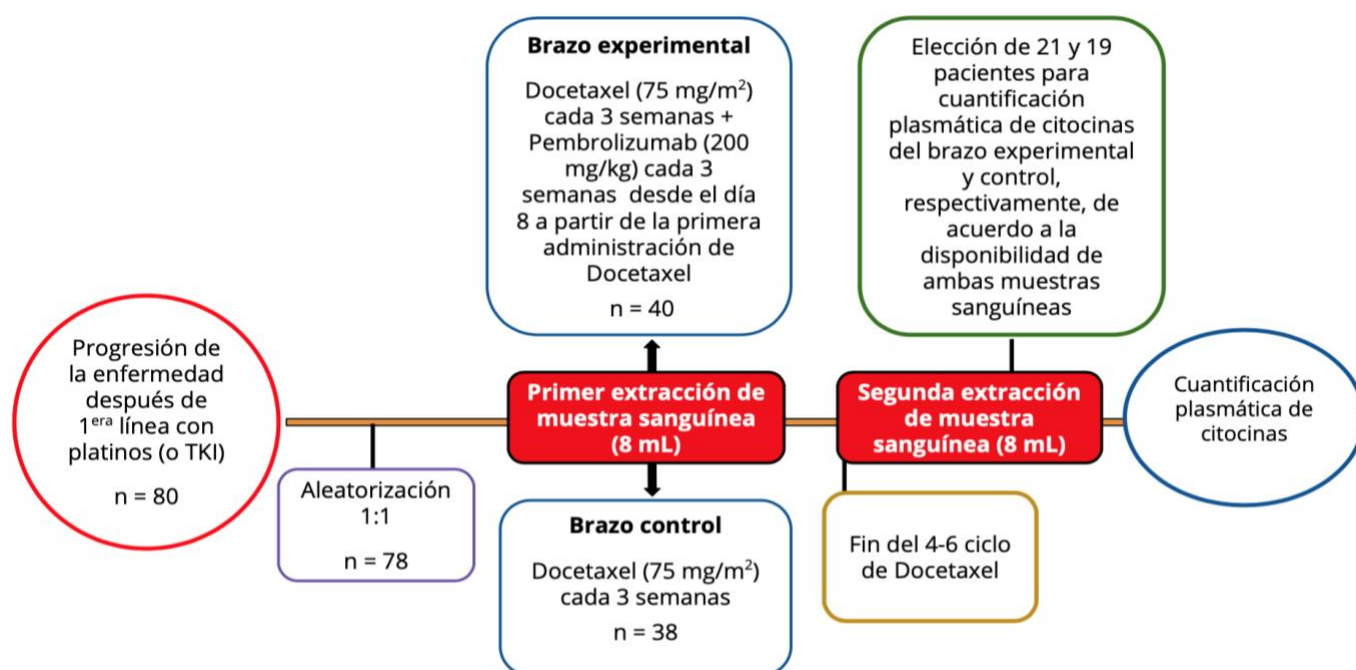


Figura 6. Diseño estadístico del estudio. En un inicio se contó con 80 pacientes con CPCNP del Instituto Nacional de Cancerología que progresaron después de una primera línea de quimioterapia doble basada en platinos o con inhibidores de tirosina quinasa (TKI por Tyrosine Kinase Inhibitors) en aquellos sujetos con perfil mutacional positivo (EGFR, ALK-ROS1 y/o BRAF). Ocurrieron dos casos de retiro de consentimiento, por lo que 78 pacientes entraron a la aleatorización. Se asignaron 40 y 38 pacientes al brazo experimental (Docetaxel más Pembrolizumab) y control (Docetaxel), respectivamente. En ambos grupos, las muestras de sangre periférica (8 mL) se obtuvieron justo antes de la primera administración de Docetaxel y al término del 4-6 ciclo de este mismo. Para el análisis de la concentración plasmática de citocinas se eligieron 21 y 19 pacientes del brazo experimental y control, respectivamente, dada la disponibilidad de ambas tomas de muestra sanguínea periférica y ajustando a un tamaño de muestra de 1:1.

**1) Consentimiento informado escrito firmado**

- a) Los pacientes firmaron una forma de consentimiento (ver consideraciones éticas) aprobada por el Consejo de Revisión Institucional/Comité Independiente de Ética (IRB/IEC por Institutional Review Board/Independent Ethics Committee) de conformidad con las directrices regulatorias e institucionales. Ésta fue obtenida antes de la realización de cualquier procedimiento relacionado con el protocolo que no fuera parte de la atención normal.
- b) Los pacientes debieron estar dispuestos y capaces de cumplir las visitas programadas, el programa de tratamiento y pruebas de laboratorio incluyendo el llenado de los cuestionarios de los resultados reportados por el paciente.

**2) Población objetivo**

- a) Sujetos con CPCNP de células no escamosas localmente avanzado, documentado histológica o citológicamente, Estadio IIIB/IV o enfermedad recurrente después de haber recibido tratamiento con radiación o cirugía.
- b) Hombres y mujeres  $\geq 18$  años de edad.
- c) Estado de desempeño ECOG  $\leq 1$ .
- d) Enfermedad medible mediante tomografía computarizada o resonancia magnética según los criterios RECIST 1.1, así como por Evaluación Radiográfica del Tumor realizada en el lapso de 28 días antes de la aleatorización.
- e) Las lesiones blanco pudieron estar localizadas en un campo previamente irradiado si existió progresión de la enfermedad documentada (radiográfica) en ese sitio.

Los sujetos debieron haber experimentado progresión o recurrencia de la enfermedad durante o después de un régimen previo de quimioterapia que contenga platino para enfermedad metastásica. Esto incluye a los sujetos que cumplieron los siguientes criterios:

1. Sujetos que recibieron Pemetrexed, Bevacizumab o Erlotinib como tratamiento de mantenimiento (no progresores con quimioterapia doble basada en platino) y progresaron, fueron elegibles. Sin embargo, se excluyeron los pacientes con EGFR tipo silvestre que recibieron un inhibidor de tirosina cinasa después del fracaso de un tratamiento previo basado en platino.
2. Que recibieron quimioterapia doble basada en platinos adyuvante o neoadyuvante (después de cirugía y/o radiación) y desarrollaron enfermedad recurrente o metastásica en el lapso de 6 meses después de terminar el tratamiento.
3. Con enfermedad recurrente  $> 6$  meses después de recibir quimioterapia adyuvante o neoadyuvante basada en platino, quienes también progresaron posteriormente durante o después de un régimen doble basado en platino para tratar las recurrencias.
4. Con mutación de EGFR y que recibieron TKI (Erlotinib, Gefitinib o experimental) y quimioterapia doble basada en platinos (sin importar el orden de administración). Así como sujetos con translocación de ALK que recibieron quimioterapia doble basada en platino y un inhibidor de ALK (Crizotinib o experimental).

5. Que hayan recibido > 30 Gy al tórax, quienes debieron de haber esperado mínimo 6 meses desde el término del esquema de radiación al comienzo de Pembrolizumab.
- f) Debió de estar disponible una muestra de sangre para la evaluación de biomarcadores.
- g) Todos los requisitos basales de laboratorio fueron evaluados y obtenidos antes de los 14 días de la aleatorización. Los valores de laboratorio de escrutinio debieron cumplir los siguientes criterios:
  - i) Conteo de glóbulos blancos (WBC por white blood count)  $\geq 2000/\mu\text{L}$
  - ii) Neutrófilos  $\geq 1500/\mu\text{L}$
  - iii) Plaquetas  $\geq 100 \times 10^3/\mu\text{L}$
  - iv) Hemoglobina  $\geq 9.0 \text{ g/dL}$
  - v) Creatinina sérica  $\leq 1.5$  o depuración de creatinina  $> 40 \text{ mL/minuto}$  (utilizando la fórmula de Cockcroft/Gault):

Mujeres:  $\text{CrCl} = \frac{(140 - \text{edad en años}) (\text{peso en kg}) (0.85)}{(72) (\text{creatinina sérica en mg/dL})}$

Hombres:  $\text{CrCl} = \frac{(140 - \text{edad en años}) (\text{peso en kg}) (1.00)}{(72) (\text{creatinina sérica en mg/dL})}$

- h) Se completó el tratamiento previo con radioterapia o radiocirugía al menos 2 semanas antes de la aleatorización.
- i) Los pacientes con antecedente de metástasis cerebrales previamente tratadas pudieron participar dado que se encontraban estables (sin evidencia de progresión comprobada por imagen por al menos cuatro semanas con síntomas neurológicos que hayan recuperado a valores basales), sin evidencia de metástasis nuevas o crecimiento de las mismas, sin uso de esteroides por al menos 7 días previo al inicio del tratamiento del estudio o bajo una dosis estable  $\leq 10 \text{ mg}$  diarios. Esta excepción no incluye meningitis carcinomatosa

### 3) Edad y Estado Reproductivo

- a) Las mujeres en edad fértil (WOCBP por Women of Childbearing Potential) debieron utilizar métodos de anticoncepción altamente eficaces (tasa de falla menor de 1% por año).
- b) WOCBP debieron presentar una prueba negativa de embarazo en suero u orina (sensibilidad mínima de 25 IU/L o unidades equivalentes de la hormona gonadotropina coriónica humana o hCG) 24 horas antes de iniciar el producto en investigación.
- c) Las mujeres no debían estar lactando.
- d) Los hombres sexualmente activos con pareja WOCBP debieron utilizar cualquier método anticonceptivo con una tasa de falla menor de 1% por año. Los hombres que son sexualmente activos con WOCBP debieron seguir las instrucciones de control natal durante un periodo de 90 días, más el tiempo requerido para que el fármaco en investigación se sometiera a cinco vidas medias.

## **1. Excepciones para la Enfermedad Blanco**

- a) Sujetos con meningitis carcinomatosa.
- b) Con metástasis activas en sistema nervioso central (SNC). Los sujetos fueron elegibles si las metástasis de SNC se trató de forma adecuada y si los sujetos retornaron neurológicamente al nivel basal (excepto por síntomas o signos residuales relacionados con el tratamiento del SNC) al menos durante 2 semanas antes del reclutamiento. Además, los sujetos no debieron estar tomando corticosteroides, a menos de recibir una dosis estable o que estuviesen en proceso de disminución de  $\leq 10$  mg diarios de prednisona (o equivalente).

## **2. Historia Clínica y Enfermedades Concurrentes**

- a) Cualquier trastorno médico serio o no controlado, así como alguna infección activa de hepatitis o VIH.
- b) Otras neoplasias malignas que requirieran intervención concurrente.
- c) Sujetos con cáncer previo (excepto de piel distintos a melanoma, de vejiga, gástrico, colon, cervical, endometrial, melanoma o mama) se excluyeron a menos que hubiesen logrado remisión completa de mínimo 2 años antes de entrar al estudio y que no requirieran tratamiento adicional durante el periodo del estudio.
- d) Sujetos con una condición que requiriera tratamiento sistémico con corticosteroides ( $> 10$  mg diarios de prednisona o equivalente) u otros medicamentos inmunosupresores en el lapso de 14 días antes de la aleatorización. Los corticosteroides inhalados o tópicos y las dosis de esteroides por reemplazo adrenal ( $>10$  mg diarios o equivalente) se permitieron en ausencia de enfermedad autoinmune activa.
- e) Sujetos con enfermedad autoinmune conocida activa o sospecha de la misma. Se aceptaron sujetos con vitíligo, diabetes mellitus tipo I e hipotiroidismo residual que requiriera reemplazo hormonal.
- f) Todas las toxicidades atribuidas a un tratamiento previo contra el cáncer que no sean alopecia y fatiga, resueltas a grado 1 de acuerdo a la versión 4 de los criterios comunes de terminología para eventos adversos (CTCAE por Common Terminology Criteria for Adverse Events) del National Cancer Institute de los Estados Unidos, o haber regresado al nivel basal, antes de la administración del fármaco del estudio.
- g) Tratamiento previo con vacunas contra el tumor u otros agentes antitumorales inmunoestimulantes.
- h) Tratamiento previo con anticuerpos anti PD-1, anti PD-L1, anti PD-L2, anti CD-137 o anti CTLA-4 (incluyendo cualquier otro fármaco dirigido a la coestimulación de células T o las vías de puntos de control inmunitario).
- i) Tratamiento previo con Docetaxel.
- j) Sujetos con historia de enfermedad intersticial pulmonar.
- k) Los sujetos debieron estar recuperados de los efectos de alguna cirugía mayor o de lesión traumática significativa al menos 14 días antes de la primera dosis del tratamiento en el estudio.

### **3. Hallazgos Físicos y de las Pruebas de Laboratorio**

- a) Pruebas positivas para el antígeno de superficie del virus de la Hepatitis B (sAg de VHB) o ácido ribonucleico para Hepatitis C (ARN de VHC) que indiquen infección aguda o crónica.
- b) Historia conocida de prueba positiva para el Virus de la Inmunodeficiencia Humana (VIH).

### **4. Alergias y Reacciones Adversas al Fármaco**

- a) Historia de hipersensibilidad severa a otros anticuerpos monoclonales.
- b) Historia previa de reacción severa de hipersensibilidad a Paclitaxel.
- c) Alergia o evento adverso inaceptable a los componentes del fármaco del estudio o infusiones con Polisorbato 80.

### **5. Estado Sexual y Reproductivo**

- a) WOCBP embarazadas o que estuviesen lactando.
- b) Mujeres con una prueba de embarazo positiva en el reclutamiento o antes de la administración del medicamento.

### **6. Tratamientos Prohibidos y/o Tratamientos Restringidos**

- a) Administración en curso o planeada de tratamientos contra un cáncer distinto a los especificados en este estudio.
- b) Uso de corticosteroides o de otros medicamentos inmunosupresores.
- c) Inhibidores potentes del Citocromo P450 3A4 (CYP3A4).
- d) Tratamiento con cualquier fármaco 28 días antes de la primera administración del tratamiento del estudio.

### **7. Otros Criterios de Exclusión**

- a) Cualquier otro trastorno médico serio o no controlado, infección activa, hallazgo en la exploración física, hallazgo de laboratorio, estado mental alterado o condición psiquiátrica que, en opinión del investigador, limitaría la capacidad de un sujeto para cumplir con los requisitos del estudio, que aumentara de forma importante el riesgo para el sujeto o que afectara la interpretabilidad de los resultados del estudio.

Los criterios de elegibilidad de este estudio han sido considerados cuidadosamente para garantizar la seguridad de los sujetos del estudio y para asegurar que los resultados del estudio pudieran ser utilizados.

#### **Criterios de eliminación**

Pacientes que retiraron el consentimiento informado, con progresión de la enfermedad de acuerdo al RECIST 1.1 o que presentaron toxicidad inaceptable.

## Consideraciones éticas

### **Buenas Prácticas Clínicas**

El estudio fue realizado de acuerdo con las Buenas Prácticas Clínicas, definidas por la Conferencia Internacional sobre Armonización (ICH por International Council for Harmonisation) y cumpliendo con los principios éticos de la Directiva de la Unión Europea 2001/20/EC y el Código de Reglamentos Federales de Estados Unidos, Título 21, Parte 50 (21CFR50).

El protocolo de este estudio y cualquiera de sus enmiendas, así como el consentimiento informado del sujeto, recibieron aprobación/opinión favorable del IRB/IEC antes de iniciar el estudio. Todas las potenciales violaciones debieron ser reportadas de inmediato. Se consideró violación seria a aquella infracción de las condiciones y principios de las GCP relacionados con el estudio o con el protocolo, que pudieran afectar, en un grado significativo, la seguridad o integridad física o mental de los sujetos del estudio o el valor científico de éste. El personal involucrado en la realización de este estudio se encontró calificado por su nivel de estudios, entrenamiento y experiencia para realizar sus respectivas tareas.

### **Consejo de Revisión Institucional / Comité de Ética Independiente**

Antes del inicio del estudio, el investigador redactó y fechó la aprobación/opinión favorable del IRB/IEC para el protocolo, forma de consentimiento, reclutamiento del paciente, materiales/procesos y cualquier otra información escrita que fue proporcionada a los pacientes. El investigador o patrocinador también proporcionó al IRB/IEC una copia del manual del Investigador o ficha técnica del producto, la información que se proporcionó a los pacientes, cualquier actualización u y otra información (por ejemplo, reportes de seguridad urgentes, enmiendas y cartas administrativas) de conformidad con los requerimientos regulatorios o procedimientos institucionales. El estudio fue llevado a cabo de acuerdo con la Declaración de Helsinki y las directrices de Buenas Prácticas Clínicas del Consejo Internacional para la Armonización de Requisitos Técnicos para Productos Farmacéuticos de Uso Humano. No hubo compensación por la participación.

### **Consentimiento informado**

Los investigadores garantizaron que los pacientes estuvieran totalmente informados sobre el propósito, riesgos potenciales y otros asuntos críticos relacionados con los estudios clínicos en los que participaron voluntariamente. En situaciones en las que el consentimiento no pudo ser otorgado por los pacientes, sus representantes legalmente aceptables fueron informados sobre el propósito, riesgos potenciales y otros asuntos críticos relacionados con los estudios clínicos en los que los pacientes habrían de participar. Los investigadores debieron:

- 1) Proporcionar una copia de la forma de consentimiento sobre el estudio en el idioma en el que el paciente sea más hábil antes de su participación en el estudio clínico. El idioma debió no ser técnico, además de ser fácilmente comprensible.
- 2) Dar el tiempo necesario para que el paciente o su representante legal preguntaran sobre los detalles del estudio.
- 3) Obtener un consentimiento informado firmado y fechado personalmente por el paciente o el representante legalmente aceptable del paciente y por la persona que llevó a cabo la discusión del consentimiento informado.

4) Obtener la aprobación de la forma de consentimiento del IRB/IEC y cualquier otra información que fue proporcionada a los pacientes, antes del inicio del estudio y después de que todas las revisiones fueran completadas.

5) Si el consentimiento informado fue inicialmente otorgado por el representante legal y el paciente posteriormente llegó a ser capaz de realizar su consentimiento durante el estudio, entonces éste debió ser adicionalmente obtenido del paciente.

6) Revisar el consentimiento informado siempre que se encontrara disponible nueva información importante que fuera relevante para el consentimiento del paciente. El investigador debió informar de manera documentada al paciente o representante legal, de todos los aspectos pertinentes del estudio y de cualquier nueva información relevante para que el paciente voluntariamente continuara con su participación en el estudio. Esta comunicación debió ser documentada.

La forma de consentimiento también incluyó una declaración de que la MSD y las autoridades regulatorias tuvieron acceso directo a los registros del sujeto. Los derechos, la seguridad y el bienestar de los sujetos del estudio fueron las consideraciones más importantes y fueron impuestos sobre los intereses de la ciencia y la sociedad. De acuerdo a la Ley General de Salud en Materia de Investigación se firmó el formato por 2 testigos.

El estudio se condujo de acuerdo a lo señalado en:

- Declaración de Helsinki.
- Buenas Prácticas Clínicas.
- Normas establecidas en la Ley General de Salud.

### Recopilación de datos clínico-patológicos

La recolección de datos clínico-patológicos se realizó a través del expediente electrónico INCANET y por entrevista directa en el consultorio de la clínica cáncer de pulmón del Instituto Nacional de Cancerología. La información recolectada corresponde a las variables: edad, género, síntomas, fecha de diagnóstico, tabaquismo, índice tabáquico, tipo y subtipo histológico y mutación de EGFR y/o ALK, así como exposición a humo de leña, radón y asbesto.

## **Metodología experimental**

### Aislamiento de plasma de sangre periférica

Se obtuvieron dos muestras de sangre venosa periférica (8 ml) de los 78 pacientes (una muestra antes del inicio del tratamiento y otra al término del 4-6 ciclo de Docetaxel) en tubos estériles con ácido etilendiaminotetraacético (EDTA). Los tubos fueron inmediatamente centrifugados a 1500 rpm por 15 minutos a 4°C para separar la fracción plasmática formada en el gradiente<sup>198</sup> (figura 7), la cual fue recolectada y dividida en alícuotas en microtubos de 1.5 ml, para después ser almacenada a -80°C hasta el posterior análisis de cuantificación.

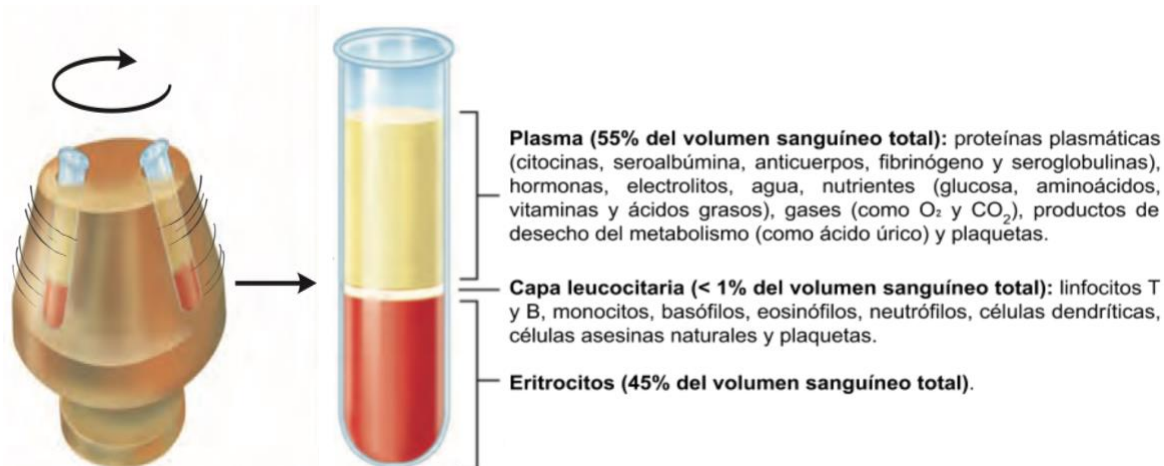


Figura 7 (modificada). Fraccionamiento de los componentes sanguíneos (plasma, capa leucocitaria y hematocrito) por centrifugación en tres fases<sup>199</sup>.

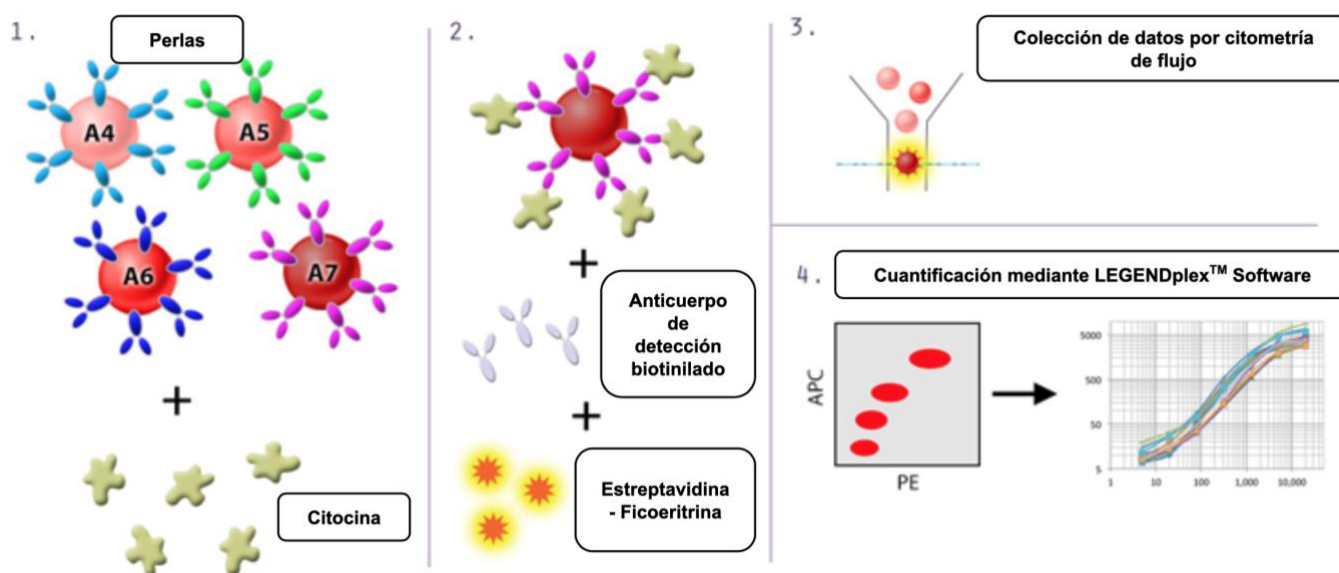
#### Inmunoensayo basado en perlas (ensayo de cuantificación múltiple de analitos)

La cuantificación plasmática de citocinas se realizó mediante el inmunoensayo basado en perlas sintéticas fluorescentes, que permitió la cuantificación múltiple de citocinas en cada muestra. La elección del kit se basó en los tipos de citocinas de interés, buscando que se incluyeran a las citocinas asociadas a la inflamación dada su relación directa con la tumorigénesis y el desarrollo tumoral, por lo cual se adquirieron aquellos de la marca BioLegend®, específicamente LEGENDplex™ Human Inflammation Panel 1 (13-plex) y LEGENDplex™ Human Proinflammatory Chemokine Panel (13-plex). Las citocinas analizadas en cada kit se muestran en la tabla 5.

Tabla 5. Citocinas analizadas con los kits LEGENDplex™ Human Inflammation Panel 1 (13-plex) y LEGENDplex™ Human Proinflammatory Chemokine Panel (13-plex). Los reactivos contenidos en cada kit se encuentran en el manual online del 2003 de Biolegend<sup>200</sup>. \*IL-8 como MCP-1 (CCL2) se incluían en ambos kits, por lo cual se tomó como resultado final el promedio de las concentraciones obtenidas en cada uno.

|                                                                    |                                                                                                                                                                                                       |
|--------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>LEGENDplex™ Human Inflammation Panel 1 (13-plex)</b>            | IL-1β, IFN-α2, IFN-γ, TNF-α, MCP-1 (CCL2)*, IL-6, IL-8 (CXCL8)*, IL-12p70, IL-17A, IL-18, IL-19, IL-23 e IL-33.                                                                                       |
| <b>LEGENDplex™ Human Proinflammatory Chemokine Panel (13-plex)</b> | MCP-1 (CCL2)*, MIP-1α (CCL3), MIP-1β (CCL4), RANTES (CCL5), Eotaxin (CCL11), TARC (CCL17), MIP-3α (CCL20), GROα (CXCL1), ENA-78 (CXCL5), IL-8 (CXCL8)*, MIG (CXCL9), IP-10 (CXCL10) e I-TAC (CXCL11). |

El fundamento de la prueba es similar al del ensayo de inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA por enzyme-linked immunosorbent assay) indirecto y consiste en la adición, al estándar y a las muestras de plasma, de perlas diferenciadas en tamaño (tamaño A y tamaño B) y fluorescencia interna (aloficocianina o APC por allophycocyanin) asociadas mediante grupos carboxilo en su superficie a Ig de captura mediante la fracción Fc, que deja expuesta la fracción (Fab) a través de la cual se unirá la citocina específica para la cual fue diseñado. Posteriormente, al conjugado perla-anticuerpo de captura-citocina se unirá un Ig de detección biotinilado en la fracción Fc que también reconocerá a la citocina mediante la fracción Fab para, por último, añadir Estreptavidina asociada a Ficoeritrina (PE por phycoerythrin), que tiene alta afinidad por la biotina del Ig de detección, por lo cual se unirá a este y al resto del conjugado. De esta forma, se obtienen diferentes perlas unidas a una citocina específica y que al pasar a través del citómetro serán identificadas por tamaño y por la intensidad de fluorescencia (emitida por la PE y detectada por este canal, además de la interna por APC detectada mediante el canal FL-3) que emiten fluorescencia directamente proporcional a la cantidad de citocina que se unió a éstas. Las perlas que no se unieron a citocinas sólo emitirán fluorescencia que será detectada por el canal FL-3, mas no por PE. Las poblaciones son posteriormente identificadas y las citocinas asociadas a ellas cuantificadas mediante el programa computacional LEGENDplex™ Data Analysis Software<sup>200</sup> (figura 8).



*Figura 8 (modificada). Fundamento del ensayo de cuantificación múltiple de analitos basado en perlas. Primero las perlas acopladas a anticuerpos de captura se unen a una citocina en particular (1). Se une el Ig de detección biotinilado a la citocina y a este se liga la Estreptavidina asociada a PE (2), para posteriormente ser analizados por citometría de flujo (3) que permitirá identificar poblaciones específicas de perlas (4) que se diferencian en tamaño A o B y en la intensidad de fluorescencia emitida de acuerdo a la cantidad de citocina a la que se hayan podido asociar, de forma que se podrá obtener la cuantificación de las citocinas analizadas en cada muestra por medio de un programa computacional (LEGENDplex™ Data Analysis Software, por ejemplo)<sup>200</sup>.*

A continuación se enumera cada paso correspondiente al ensayo de cuantificación de acuerdo al manual proporcionado por los kits:

1. Descongelamiento de muestras de plasma a temperatura ambiente ( $\geq 20$  minutos).
2. Resuspensión de las perlas premezcladas por 1 minuto en el vórtex.
3. Agitación por vórtex del buffer de lavado 20X para disolver posibles precipitados de sales.
4. Dilución de 25 mL del buffer de lavado 20X en 475 mL de agua desionizada en un matraz aforado para obtener un buffer de lavado 1X.
5. Adición de 5 mL del buffer de ensayo a la matriz B con posterior agitación en vórtex (1 minuto).
6. Reconstitución de la solución estándar con 250  $\mu$ L del buffer de ensayo en un tubo de 1.5 mL (máxima concentración estándar o microtubo C7).
7. Adición de 75  $\mu$ L del buffer de ensayo a 6 tubos (C6-C1) de 1.5 mL para generar diluciones 1:4 transfiriendo 25  $\mu$ L de C7 a C6. El mismo procedimiento se repitió de C6 a C5, C5 a C4, C3 a C2 y C2 a C1. El estándar C0 correspondió a sólo 75  $\mu$ L del buffer de ensayo (para una concentración de 0 pg/ml) (tabla 6).
8. Dilución de 50  $\mu$ L de cada muestra de plasma (tanto en las de primera como de segunda toma) de los pacientes con 50  $\mu$ L de buffer de ensayo en tubos de 1.5 mL.
9. Adición de 25  $\mu$ L de cada tubo estándar a nuevos tubos rotulados de la misma forma (C7-C0) por duplicado.
10. Adición de 25  $\mu$ L de matriz B, buffer de ensayo, perlas premezcladas y anticuerpos de detección (en ese orden) a todos los tubos.
11. Agitación de los tubos protegidos de la luz envueltos en aluminio (en el agitador a 1000 revoluciones por minuto o rpm por 2 horas a temperatura ambiente).
12. Adición de 25  $\mu$ L de Estreptavidina asociada a Ficoeritrina a cada tubo.
13. Agitación y protección de la luz (1000 rpm por 30 minutos).
14. Centrifugación de los tubos (1000 g por 5 minutos) y remoción del sobrenadante.
15. Adición de 200  $\mu$ L de buffer de lavado 1X a cada tubo y agitación en vórtex (1 minuto).
16. Centrifugación de los tubos (1000 g por 5 minutos) y remoción del sobrenadante.
17. Adición de 200  $\mu$ L de buffer de lavado 1X a cada tubo y agitación en vórtex (1 minuto).
18. Calibración del citómetro (marca Attune NxT) con las perlas de configuración 3. Ajuste de lectura en canal FL-3 y PE.
19. Lectura en el citómetro de cada tubo.
20. Cuantificación de citocinas por medio del programa computacional LEGENDplex™ Data Analysis Software.

Tabla 6. Preparación de la curva estándar para el ensayo de cuantificación múltiple basado en perlas.

| Tubo estándar | Dilución seriada | Volumen de buffer de ensayo | Estándar    |
|---------------|------------------|-----------------------------|-------------|
| C7            | -                | -                           | -           |
| C6            | 1:4              | 75                          | 25 µL de C7 |
| C5            | 1:16             | 75                          | 25 µL de C6 |
| C4            | 1:64             | 75                          | 25 µL de C5 |
| C3            | 1:256            | 75                          | 25 µL de C4 |
| C2            | 1:1024           | 75                          | 25 µL de C3 |
| C1            | 1:4096           | 75                          | 25 µL de C2 |
| C0            | -                | 75                          | -           |

### **Valores referenciales de biometría hemática**

Para el análisis de, los valores normales de biometría hemática se establecieron de acuerdo al manual de pruebas de sangre MSD (Merck Sharp & Dohme) para profesionales de 2019<sup>201</sup>:

- Plaquetas: 150 – 350x10<sup>9</sup> plaquetas/L (< 150x10<sup>9</sup> plaquetas/L trombocitopenia y > 350x10<sup>9</sup> plaquetas/L trombocitosis).
- Neutrófilos: 2.6 - 8.5x10<sup>9</sup> neutrófilos/L (< 2.6x10<sup>9</sup> neutrófilos/L neutropenia y > 8.5x10<sup>9</sup> neutrófilos/L neutrofilia).
- Linfocitos: 0.77 - 4.5x10<sup>9</sup> linfocitos/L (< 0.77x10<sup>9</sup> linfocitos/L linfopenia y > 4.5x10<sup>9</sup> linfocitos/L linfocitosis).
- Monocitos: 0.14 – 1.3x10<sup>9</sup> monocitos/L (< 0.14x10<sup>9</sup> monocitos/L monocitopenia y > 1.3x10<sup>9</sup> monocitos/L monocitosis).
- Basófilos: 0.22x10<sup>9</sup> células/L (> 0.22x10<sup>9</sup> basófilos/L basofilia).
- Eosinófilos: 0.55x10<sup>9</sup> células/L (> 0.55x10<sup>9</sup> eosinófilos/L eosinofilia).
- Albúmina: 3.5 a 5.4 g/dL (< 3.5 g/dL niveles bajos de albúmina y > 5.4 g/dL niveles altos de albúmina).
- Antígeno Carcinoembrionario: < 2 ng/mL (valor normal) y > 2.1 ng/mL (valor alto)
- Relación plaquetas/linfocitos (RPL): mediana del valor de la relación de plaquetas sobre linfocitos por toma de muestra sanguínea.
- Relación neutrófilos/linfocitos (RNL): mediana del valor de la relación de neutrófilos sobre linfocitos por toma de muestra sanguínea.

### **Pruebas estadísticas**

Las variables continuas se describieron a través de la media aritmética y mediana, como medidas de tendencia central, y mediante la desviación estándar, como medida de dispersión. Las variables categóricas fueron comprendidas en proporciones con intervalos de confianza al 95%.

Las comparaciones diferenciales se realizaron mediante la prueba t de Student o U de Mann-Whitney y de los rangos con signo de Wilcoxon, dependiendo de la distribución paramétrica o no paramétrica de los datos, respectivamente dependiendo el caso, el cual fue determinado a partir de la pruebas de Shapiro Wilk y Kolmogorov-Smirnov.

Se utilizó la prueba de Chi cuadrada ( $\chi^2$ ) para determinar diferencias significativas entre las variables categóricas. Se determinó como estadísticamente significativo el valor de probabilidad (P) menor o igual a 0.05 ( $P \leq 0.05$ ), con un diseño de dos colas.

La supervivencia libre de progresión se definió como el período de tiempo comprendido entre la fecha de último seguimiento, muerte o progresión de la enfermedad menos la fecha del inicio del tratamiento.

La supervivencia global se definió como el período de tiempo comprendido entre la muerte del paciente o fecha de último seguimiento de éste menos la fecha de diagnóstico de la enfermedad.

La supervivencia libre de progresión y la supervivencia global fueron calculadas mediante el estimador no paramétrico Kaplan-Meier, que generó las funciones de supervivencia (curvas Kaplan-Meier) con base en los valores obtenidos por los pacientes en dichos parámetros en función del tiempo. Las comparaciones entre las funciones de supervivencia obtenidas se realizaron a través de las pruebas de Log Rank (también conocida como prueba de Mantel-Cox), Breslow (también conocida como prueba de Gehan-Breslow-Wilcoxon) y Tarone-Ware, ya que permiten el análisis con la inclusión de los casos censurados (pacientes que no presentaron el evento durante todo el tiempo en que se evaluó, que en cierto momento se retiraron del estudio o que de los cuales se tuvo pérdida de seguimiento) y cuya hipótesis nula radica en la inexistencia de diferencias significativas entre las funciones de supervivencia comparadas, en términos de SLP y SG para este caso.

La prueba de Log Rank (rango logarítmico) determina la diferencia entre el número de eventos esperados y observados en los participantes de los grupos y asume que los riesgos son proporcionales. Si los riesgos o peligros son proporcionales, entonces la razón de riesgo o peligro será constante en cualquier intervalo de tiempo; por ejemplo, si los riesgos de un evento para los individuos de un grupo fueran dos veces más altos que los peligros en otro grupo en cualquier momento, los riesgos de un evento también diferirían el doble en momentos tempranos o posteriores. Pero cuando la razón de riesgo no es constante la prueba de Log Rank pierde poder estadístico para detectar la diferencia en las probabilidades de supervivencia entre los grupos, por lo cual se optó por incluir también a la prueba de Breslow, ya que no requiere la suposición de los riesgos proporcionales que deben cumplirse (aunque también se ha visto que en riesgos constantes puede generar

resultados fiables). También se tiene como consenso la asunción de que la prueba de Log Rank da mayor peso o proporciona mayor fiabilidad estadística en los datos correspondientes a eventos tardíos (hacia el final de la curva), mientras que la prueba de Breslow lo hace con los datos de eventos tempranos. Sin embargo, las curvas de supervivencia pueden cruzarse y en esta situación tanto la prueba de Log Rank como la de Breslow pierden poder estadístico para detectar las probabilidades de supervivencia entre grupos, lo que hizo necesario recurrir a la prueba de Tarone-Ware, la cual se centra en el período en el que ocurren la mayoría de los eventos, en lugar de la igualdad o constancia de la tasa de riesgo<sup>202</sup>.

Los análisis estadísticos se llevaron a cabo con GraphPad Prism versión 8 para las diferencias en las concentraciones plasmáticas de citocinas entre grupos y con SPSS versión 26 (SPSS, Inc. Chicago, IL, USA) para las pruebas de supervivencia y para las asociaciones y correlaciones entre características clínico-patológicas, valores de biometría hemática y de respuesta al tratamiento con las concentraciones plasmáticas de citocinas.

### **Análisis por minería de datos**

La minería de datos puede definirse a grandes rasgos como un método estadístico y computacional que permite hallar patrones de comportamiento en conjuntos de datos y que consta de la ejecución de tareas de carácter descriptivo (identificar patrones y relaciones describiendo los datos) o predictivo (clasificar nuevos datos basándose en los disponibles con anterioridad). Existen cuatro tareas principales en la minería de datos<sup>203, 204</sup>:

1. Clasificación y predicción: tarea que consiste en localizar las relaciones existentes entre todos los datos (instancias) de las variables de entrada (atributos) con la finalidad de que se puedan generar agrupaciones de aquellos datos similares entre sí. La clasificación es un algoritmo de minería de datos que crea una guía paso a paso sobre cómo determinar la salida de una decisión que se debe tomar en función de la entrada, y pasar al siguiente nodo y al siguiente hasta que uno llegue a una hoja que le indique a la salida prevista. Por lo tanto, un algoritmo que implementa la clasificación se conoce como clasificador. Los algoritmos más utilizados en la clasificación son los árboles de decisión, la clasificación bayesiana y las redes neuronales. Suele ser la tarea que se utiliza con mayor frecuencia en minería de datos.
2. Agrupamiento: tarea descriptiva que consiste en obtener grupos a partir de los datos registrados de tal manera que los elementos de cada grupo sean muy similares entre sí y que al mismo tiempo sean muy diferentes a los del resto de otros grupos.
3. Regresión: tarea predictiva cuyo objetivo es utilizar algoritmos con la intención de identificar las funciones que modelen con el menor error posible a la base de datos, de tal manera que la diferencia entre el valor predicho y el real sea mínimo.

4. Reglas de asociación: tarea predictiva que utiliza algoritmos con la intención de encontrar relaciones relevantes entre las variables (atributos) de las cuales se extraen o generan reglas sobre los datos.

En este estudio, el análisis por minería de datos se realizó con la finalidad de dividir a los pacientes en grupos naturales o clústers dada una cierta probabilidad con base en los valores de concentraciones plasmáticas de las citocinas obtenidos, por grupo de tratamiento y toma de muestra sanguínea.

De esta forma, se aplicaron de forma simultánea los algoritmos RandomTree y K-Means (K-Medias) como métodos de clasificación y agrupamiento (clusterización), respectivamente. Mediante el algoritmo de RandomTree se generaron los árboles de decisión en cuya raíz (primer nodo), nodos internos (aquellos nodos que conectan a otros y son parte, a su vez, de una conexión) y hojas (nodos conectados a los nodos internos cuya diferencia radica en que representan la decisión o nodo final) se ubicaron las instancias y donde cada ramificación que conectó a dichos nodos poseyó un conjunto de atributos (reglas de clasificación) asociados a una etiqueta de clase específica (en este caso clases formadas por el método de clusterización). Este algoritmo construye un árbol que considera  $n$  atributos elegidos al azar en cada nodo, es decir, lo forma de manera estocástica. La diferencia con aquellos árboles generados de manera estándar donde cada nodo se divide utilizando la mejor división entre todas las variables, es que a través de RandomTree se genera el árbol de decisión sólo considerando un subconjunto aleatorio de todos los atributos en cada nodo y calculándose la mejor división para ese subconjunto. Esto genera la ventaja de que se crean árboles razonablemente equilibrados, donde una configuración global para el valor de la cresta o parte superior del árbol funciona en todas las hojas, simplificando así el procedimiento de optimización<sup>205</sup>.

Por su parte, el algoritmo de K-Means permitió realizar los agrupamientos de las instancias de la base de datos de acuerdo a las semejanzas y diferencias existentes entre los datos que comprendieron el total de cada muestra (el total de pacientes, así como los pacientes de cada grupo de tratamiento por separado). La letra “K” hace referencia a un parámetro que corresponde al número de clústers a formar (cada paciente perteneció a uno de los clústeres formados por el algoritmo). En primer lugar, un paciente fue elegido de forma aleatoria y su conjunto de valores de concentración plasmática de citocinas analizadas fueron considerados como centro inicial del primer clúster y de la misma manera para el resto de clústers. Posteriormente, se realizó el cálculo de la distancia euclidiana entre los centros de cada clúster y los valores de concentración plasmática de citocinas correspondientes a cada paciente, para que cada sujeto fuese asignado al clúster más cercano, es decir, al de mayor semejanza cuantitativa. Una vez que los pacientes fueron asignados a un grupo, se calculó la media (centroide) de las instancias de cada clúster (proceso que correspondió a la denominación “means” del algoritmo). Esto se repitió con los nuevos valores centrales y continuó la iteración hasta que los pacientes fueron asignados a cada clúster en rondas consecutivas y hasta que los centros de los clústers se estabilizaron, manteniéndose constantes<sup>204</sup>.

### **Características clínico-patológicas del total de pacientes y por grupo de tratamiento**

En el total de los pacientes, la mayoría de estos fueron mujeres, siendo la media de edad de 56.35 años. El 50% y 72.5% de los pacientes presentaron historial de tabaquismo y de exposición negativa a humo de leña, siendo las medias de los índices de dichos parámetros de 35.23 y 49.45, respectivamente. El 90% fue diagnosticado con un CPCNP de tipo adenocarcinoma y el 76.9% presentó específicamente una mutación en el exón 19 de EGFR. Sólo se realizó el análisis de expresión de PD-L1 en la mitad de los pacientes (25% positivos y 22% negativos), teniendo el 90% de estos una expresión de dicha proteína menor al 50%. No existió alguna diferencia significativa entre las categorías.

En la tabla 7 se muestran los porcentajes de acuerdo al número de pacientes pertenecientes a cada categoría y/o categoría clínico-patológica, así como los resultados de la prueba de hipótesis estadística en éstas entre los grupos ( $P \leq 0.05$ ) y los valores de media y mediana para el índice tabáquico y de exposición a humo de leña.

Tabla 7. Características clínico-patológicas del total de los pacientes y por grupo de tratamiento

| Variable                                   | Total            | Pembrolizumab + DTX | DTX             | P      |
|--------------------------------------------|------------------|---------------------|-----------------|--------|
|                                            | % (N/40)         | % (n/20)            | % (n/20)        | ≤ 0.05 |
| <b>Género</b>                              |                  |                     |                 |        |
| Femenino                                   | 62.5 (25/40)     | 55 (11/20)          | 70 (14/20)      | 0.514  |
| Masculino                                  | 37.5 (15/40)     | 45 (9/20)           | 3 (6/20)        |        |
| <b>Edad al momento del Dx (años)</b>       |                  |                     |                 |        |
| Media ± D.E                                | 56.35 ± 13.50    | 53 ± 12.60          | 57.05 ± 13.54   | 0.748  |
| Mediana (Rango)                            | 57 (31 - 80)     | 54 (33 - 74)        | 59.50 (31 - 80) | 0.675  |
| <b>Grupos por edad (años)</b>              |                  |                     |                 |        |
| ≤ 60                                       | 57.5 (23/40)     | 65 (13/20)          | 50 (10/20)      | 0.523  |
| ≥ 60                                       | 42.5 (17/40)     | 35 (7/20)           | 50 (10/20)      |        |
| <b>Historial de tabaquismo</b>             |                  |                     |                 |        |
| Negativo                                   | 50 (20/40)       | 45 (9/20)           | 55 (11/20)      | 0.752  |
| Positivo                                   | 50 (20/40)       | 55 (11/20)          | 45 (9/20)       |        |
| <b>Índice tabáquico</b>                    |                  |                     |                 |        |
| Media ± D.E                                | 35.23 ± 47.42    | 53.24 ± 64.29       | 20.49 ± 20.84   | 0.175  |
| Mediana (Rango)                            | 25.5 (0.6 - 216) | 34 (1.2 - 216)      | 19 (0.6 - 66)   | 0.128  |
| <b>Exposición a humo de leña</b>           |                  |                     |                 |        |
| Negativo                                   | 72.5 (29/40)     | 80 (16/20)          | 65 (13/20)      | 0.480  |
| Positivo                                   | 27.5 (11/40)     | 20 (4/20)           | 35 (7/20)       |        |
| <b>Índice de exposición a humo de leña</b> |                  |                     |                 |        |
| Media ± D.E                                | 49.45 ± 60.86    | 74 ± 86.79          | 35.43 ± 42.15   | 0.453  |
| Mediana (Rango)                            | 20 (2 - 184)     | 54 (4 - 184)        | 20 (2 - 112)    | 0.344  |
| <b>ECOG al momento del Dx</b>              |                  |                     |                 |        |
| ≤ 1                                        | 95 (38/40)       | 90 (18/20)          | 100 (20/20)     | 0.487  |
| ≥ 2                                        | 5 (2/40)         | 10 (2/20)           | 0 (0/20)        |        |
| <b>Histología</b>                          |                  |                     |                 |        |
| Otros                                      | 10 (5/40)        | 10 (2/20)           | 10 (2/20)       | 0.999  |
| Adenocarcinoma                             | 90 (36/40)       | 90 (18/20)          | 90 (18/20)      |        |
| Lepídico                                   | 5.6 (2/36)       | 0 (0/18)            | 11.1 (2/18)     |        |
| Acinar / Papilar                           | 38.9 (4/36)      | 38.9 (7/18)         | 38.9 (7/18)     |        |
| Micropapilar / Sólido                      | 38.9 (4/36)      | 44.4 (8/18)         | 33.3 (6/18)     |        |
| No especificado                            | 16.7 (6/36)      | 16.7 (3/18)         | 16.7 (3/18)     |        |
| <b>Mutaciones blanco</b>                   |                  |                     |                 |        |
| ALK positivo                               | 2 (2/40)         | 2 (2/10)            | 0 (0/20)        | 0.229  |
| EGFR positivo                              | 32.5 (13/40)     | 35 (7/20)           | 30 (6/20)       | 0.736  |
| Ex19del                                    | 76.9 (10/13)     | 57.1 (4/7)          | 100 (6/20)      | 0.188  |
| Ex21 (L858R)                               | 15.4 (2/13)      | 28.6 (2/7)          | 0 (0/20)        |        |
| EX20 (T790M)                               | 7.7 (1/13)       | 14.3 (1/7)          | 0 (0/20)        |        |
| <b>Estado de PD-L1</b>                     |                  |                     |                 |        |
| No probado                                 | 52.5 (21/40)     | 55 (11/20)          | 50 (10/20)      | 0.485  |
| Negativo                                   | 22.5 (9/40)      | 15 (3/20)           | 30 (6/20)       |        |
| Positivo                                   | 25 (10/40)       | 30 (6/20)           | 20 (4/20)       |        |
| <b>Expresión de PD-L1</b>                  |                  |                     |                 |        |
| Baja expresión (< 50%)                     | 90 (9/10)        | 100 (6/6)           | 75 (3/4)        | 0.400  |
| Alta expresión (≥ 50%)                     | 10 (1/10)        | 0 (0/6)             | 25 (1/4)        |        |

DTX: Docetaxel, Dx: diagnóstico; DE: desviación estándar, ECOG: Escala de calidad de vida de acuerdo al Grupo Oncológico Cooperativo del Este, ALK: Cinasa de linfoma anaplásico, EGFR: Receptor del Factor de Crecimiento Epidérmico, Ex19del: Deleción del exón 19 de EGFR, Ex21 (L858R): Sustitución de una leucina por una arginina en la posición 858 del exón 21 de EGFR, Ex20 (T790M): Sustitución de una treonina por una metionina en la posición 790 del exón 20 de EGFR, ACE: Antígeno Carcinoembrionario, PD-L1: Ligando 1 de Muerte Celular Programada. P ≤ 0.05.

### **Valores de biometría hemática por grupo de tratamiento y toma de muestra sanguínea**

Los valores de biometría hemática mostraron algunas diferencias significativas ( $P \leq 0.05$ ) entre los resultados de medianas de concentración de primera (1T) y segunda (2T) toma de muestra sanguínea. De manera general, las plaquetas, neutrófilos, monocitos, eosinófilos y albúmina fueron diferentes entre ambos tiempos de muestreo (primera y segunda toma de muestra sanguínea), mismo caso para el grupo de Pembrolizumab más Docetaxel, a excepción de los neutrófilos y monocitos. En el grupo de Docetaxel las diferencias significativas existieron en monocitos y albúmina entre la primera y segunda toma de muestra sanguínea. Entre los dos grupos, las diferencias se presentaron para la albúmina y eosinófilos en la primera y segunda toma de muestra sanguínea, respectivamente.

Las concentraciones mencionadas, incluyendo la concentración obtenida al momento del diagnóstico (Dx), así como el cálculo de la diferencia del valor de concentración entre la primera y segunda toma ( $\Delta T$ ) de cada paciente para el total de pacientes y ambos grupos de tratamiento se muestran en la tabla 8.

Tabla 8. Valores de mediana y rango mínimo y máximo de biometría hemática del total de los pacientes y por grupo de tratamiento

| Variable                                 | Total                     |         | Pembrolizumab + DTX       |       | DTX                     |       | P     |
|------------------------------------------|---------------------------|---------|---------------------------|-------|-------------------------|-------|-------|
|                                          | N= 40                     | P       | n= 20                     | P     | n= 20                   | P     |       |
| Plaquetas (x10 <sup>9</sup> células/L)   |                           |         |                           |       |                         |       |       |
| Dx                                       | 285.5 (180 / 672)         |         | 275 (180 / 407)           |       | 288.5 (230 / 672)       |       | 0.066 |
| 1 <sup>o</sup> T                         | 249.5 (114 / 504)         | 0.047   | 224 (120 / 504)           | 0.030 | 272 (114 / 491)         | 0.455 | 0.304 |
| 2 <sup>o</sup> T                         | 281.00 (61 / 613)         |         | 281 (61 / 544)            |       | 281 (171 / 613)         |       | 0.598 |
| ΔT                                       | 33.00 (-242 / 395)        |         | 30 (-168 / 395)           |       | 33.50 (-242 / 179)      |       | 0.636 |
| Neutrófilos (x10 <sup>9</sup> células/L) |                           |         |                           |       |                         |       |       |
| Dx                                       | 5.6 (1.7 / 123)           |         | 5.4 (2.90 / 52)           |       | 6.50 (1.70 / 123)       |       | 0.636 |
| 1 <sup>o</sup> T                         | 3.70 (0.1 / 8.5)          | 0.047   | 3.10 (0.80 / 8.50)        | 0.255 | 3.95 (0.10 / 8.20)      | 0.100 | 0.665 |
| 2 <sup>o</sup> T                         | 4.15 (0.60 / 17.90)       |         | 4 (0.60 / 9.20)           |       | 4.40 (1.10 / 17.90)     |       | 0.482 |
| ΔT                                       | 1.20 (-7.60 / 9.70)       |         | 1.45 (-7.60 / 3.20)       |       | 0.95 (-3.80 / 9.70)     |       | 0.543 |
| Linfocitos (x10 <sup>9</sup> células/L)  |                           |         |                           |       |                         |       |       |
| Dx                                       | 1.65 (0.40 / 23)          |         | 1.65 (0.40 / 23)          |       | 1.65 (0.40 / 3.80)      |       | 0.725 |
| 1 <sup>o</sup> T                         | 0.95 (0.20 / 3.10)        | 0.747   | 1 (0.20 / 2.60)           | 0.793 | 0.85 (0.40 / 3.10)      | 0.844 | 0.765 |
| 2 <sup>o</sup> T                         | 0.95 (0.20 / 2.80)        |         | 0.95 (0.20 / 2.20)        |       | 0.95 (0.30 / 2.80)      |       | 0.693 |
| ΔT                                       | 0 (-1.20 / 1.10)          |         | 0 (-1.00 / 1.10)          |       | 0.05 (-1.20 / 0.80)     |       | 0.935 |
| Monocitos (x10 <sup>9</sup> células/L)   |                           |         |                           |       |                         |       |       |
| Dx                                       | 0.60 (0.30 / 6)           |         | 0.60 (0.40 / 1.10)        |       | 0.60 (0.30 / 6)         |       | 0.967 |
| 1 <sup>o</sup> T                         | 0.3 (0.1 / 1.7)           | 0.016   | 0.35 (0.10 / 1.70)        | 0.569 | 0.20 (0.10 / 1)         | 0.005 | 0.573 |
| 2 <sup>o</sup> T                         | 0.55 (0 / 1.30)           |         | 0.5 (0 / 1.10)            |       | 0.70 (0.10 / 1.30)      |       | 0.077 |
| ΔT                                       | 0.10 (-1 / 1)             |         | 0.05 (-1.00 / 0.8)        |       | 0.35 (-0.40 / 1)        |       | 0.087 |
| Eosinófilos (x10 <sup>9</sup> células/L) |                           |         |                           |       |                         |       |       |
| Dx                                       | 0.2 (0 / 3.40)            |         | 0.20 (0 / 3.40)           |       | 0.20 (0 / 1)            |       | 0.252 |
| 1 <sup>o</sup> T                         | 0.1 (0 / 1)               | 0.039   | 0.10 (0 / 1)              | 0.015 | 0.10 (0 / 0.50)         | 0.445 | 0.658 |
| 2 <sup>o</sup> T                         | 0 (0 / 1.70)              |         | 0 (0 / 0.10)              |       | 0.10 (0 / 1.70)         |       | 0.018 |
| ΔT                                       | 0 (-1 / 1.60)             |         | -0.5 (-1 / 0.10)          |       | 0 (-0.40 / 1.60)        |       | 0.201 |
| Basófilos (x10 <sup>9</sup> células/L)   |                           |         |                           |       |                         |       |       |
| Dx                                       | 0 (0 / 0.60)              |         | 0 (0 / 0.60)              |       | 0 (0 / 0.40)            |       | 0.245 |
| 1 <sup>o</sup> T                         | 0 (0 / 19.5)              | 0.405   | 0 (0 / 0.40)              | 0.046 | 0 (0 / 19.50)           | 0.739 | 0.311 |
| 2 <sup>o</sup> T                         | 0 (0 / 0.50)              |         | 0 (0 / 0.50)              |       | 0 (0 / 0.10)            |       | 0.938 |
| ΔT                                       | 0 (-19.50 / 0.10)         |         | 0 (0 / 0.10)              |       | 0 (-19.5 / 0.10)        |       | 0.224 |
| RPL                                      |                           |         |                           |       |                         |       |       |
| Dx                                       | 177.85 (16.35 / 1135)     |         | 174.98 (16.35 / 632.5)    |       | 185.21 (73.24 / 1135)   |       | 0.570 |
| 1 <sup>o</sup> T                         | 259.86 (93.23 / 818.33)   | 0.528   | 246.83 (104.44 / 806.67)  | 0.654 | 290.81 (93.23 / 818.33) | 0.654 | 0.766 |
| 2 <sup>o</sup> T                         | 286.41 (86.96 / 1675)     |         | 284.21 (113.81 / 1675)    |       | 314.63 (86.96 / 930)    |       | 0.570 |
| ΔT                                       | 23.87 (-403.33 / 1443.33) |         | 23.87 (-270.67 / 1443.33) |       | 23.86 (-403.33 / 702)   |       | 0.914 |
| RNL                                      |                           |         |                           |       |                         |       |       |
| Dx                                       | 3.13 (1.28 / 42.41)       |         | 3.22 (1.28, 25.5)         |       | 2.86 (1.44 / 42.41)     |       | 0.839 |
| 1 <sup>o</sup> T                         | 4 (0.2 / 13.50)           | 0.925   | 3.09 (1.33 / 10.33)       | 0.550 | 4.27 (0.2 / 13.5)       | 0.681 | 0.818 |
| 2 <sup>o</sup> T                         | 4.46 (0.48 / 59.67)       |         | 3.91 (1.2 / 8.4)          |       | 4.95 (0.48 / 59.67)     |       | 0.172 |
| ΔT                                       | -0.115 (-7 / 50.56)       |         | -0.17 (-5.6 / 5.07)       |       | 0.3 (-7 / 50.56)        |       | 0.552 |
| Albúmina (g/dL)                          |                           |         |                           |       |                         |       |       |
| Dx                                       | 3.9 (0 / 4.7)             |         | 4.20 (0 / 4.70)           |       | 3.80 (3.40 / 4.20)      |       | 0.004 |
| 1 <sup>o</sup> T                         | 3.9 (2.8 / 4.6)           | <0.0001 | 3.90 (2.90 / 4.60)        | 0.002 | 3.85 (2.80 / 4.60)      | 0.002 | 0.454 |
| 2 <sup>o</sup> T                         | 3.55 (1.90 / 4.40)        |         | 3.60 (1.90 / 4.40)        |       | 3.45 (2.40 / 4.30)      |       | 0.523 |
| ΔT                                       | -0.3 (-1.80 / 0.50)       |         | -0.40 (-1.80 / 0.5)       |       | -0.30 (-1.20 / 0.40)    |       | 0.870 |
| ACE (ng/mL)                              |                           |         |                           |       |                         |       |       |
| Dx                                       | 7.85 (0.53 / 456)         |         | 10.62 (1.05 / 295)        |       | 6.99 (0.53 / 456)       |       | 0.194 |
| 1 <sup>o</sup> T                         | 9.65 (1.03 / 144.51)      | 0.658   | 11.46 (1.24 / 133)        | 0.396 | 6.52 (1.03 / 144.51)    | 0.248 | 0.372 |
| 2 <sup>o</sup> T                         | 6.99 (1.43 / 567)         |         | 9.1650 (1.56 / 567)       |       | 6.67 (1.43 / 82.09)     |       | 0.559 |
| ΔT                                       | -2.045 (-144.51 / 558.32) |         | -2.535 (-119.26 / 558.32) |       | -1.55 (-144.51 / 67.89) |       | 0.808 |

DTX: Docetaxel, Dx: diagnóstico, 1ºT: primera toma de muestra sanguínea, 2ºT: segunda toma de muestra sanguínea, ΔT: diferencia entre los valores de concentración de primera y segunda toma de muestra sanguínea. RPL: Razón Plaquetas/Linfocitos, RNL: Razón Neutrófilos/Linfocitos, ACE: Antígeno Carcinoembrionario. Entre paréntesis se muestran los valores mínimos y máximos obtenidos. P ≤ 0.05.

### **Curvas de concentración de las citocinas analizadas**

Las figuras 9 a 12 muestran las curvas de concentración de las 24 citocinas obtenidas con los kits de cuantificación múltiple de analitos (Inflammation y Chemokines). El valor del coeficiente de determinación ( $R^2$ ) obtenido se muestra en cada curva debajo del nombre de la citocina.

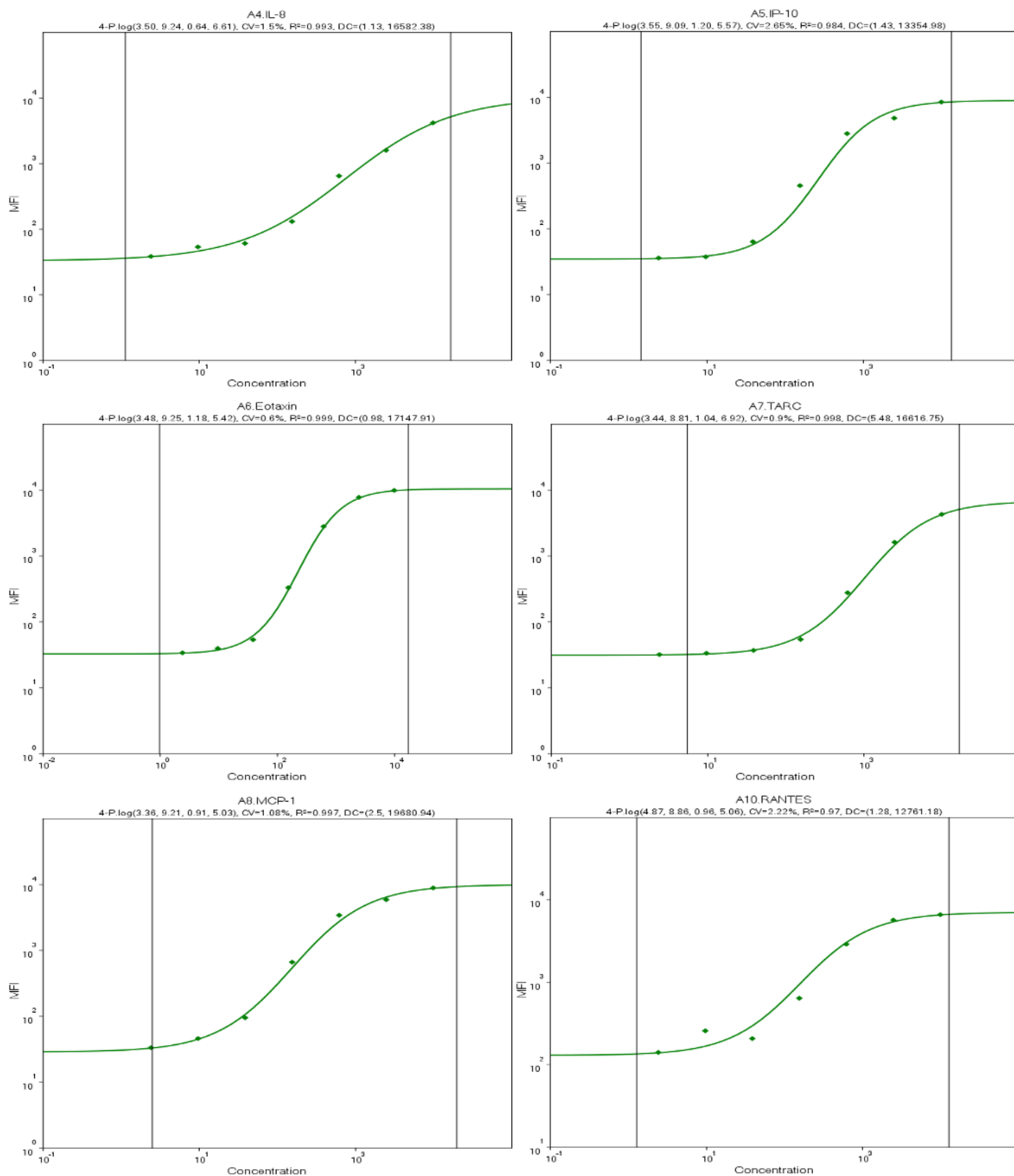


Figura 9. Curvas de concentración de las citocinas analizadas con el kit de cuantificación basada en perlas LEGENDplex Human Proinflammatory Chemokine Panel (IL-8, IP-10, Eotaxin, TARC, MCP-1 y RANTES).

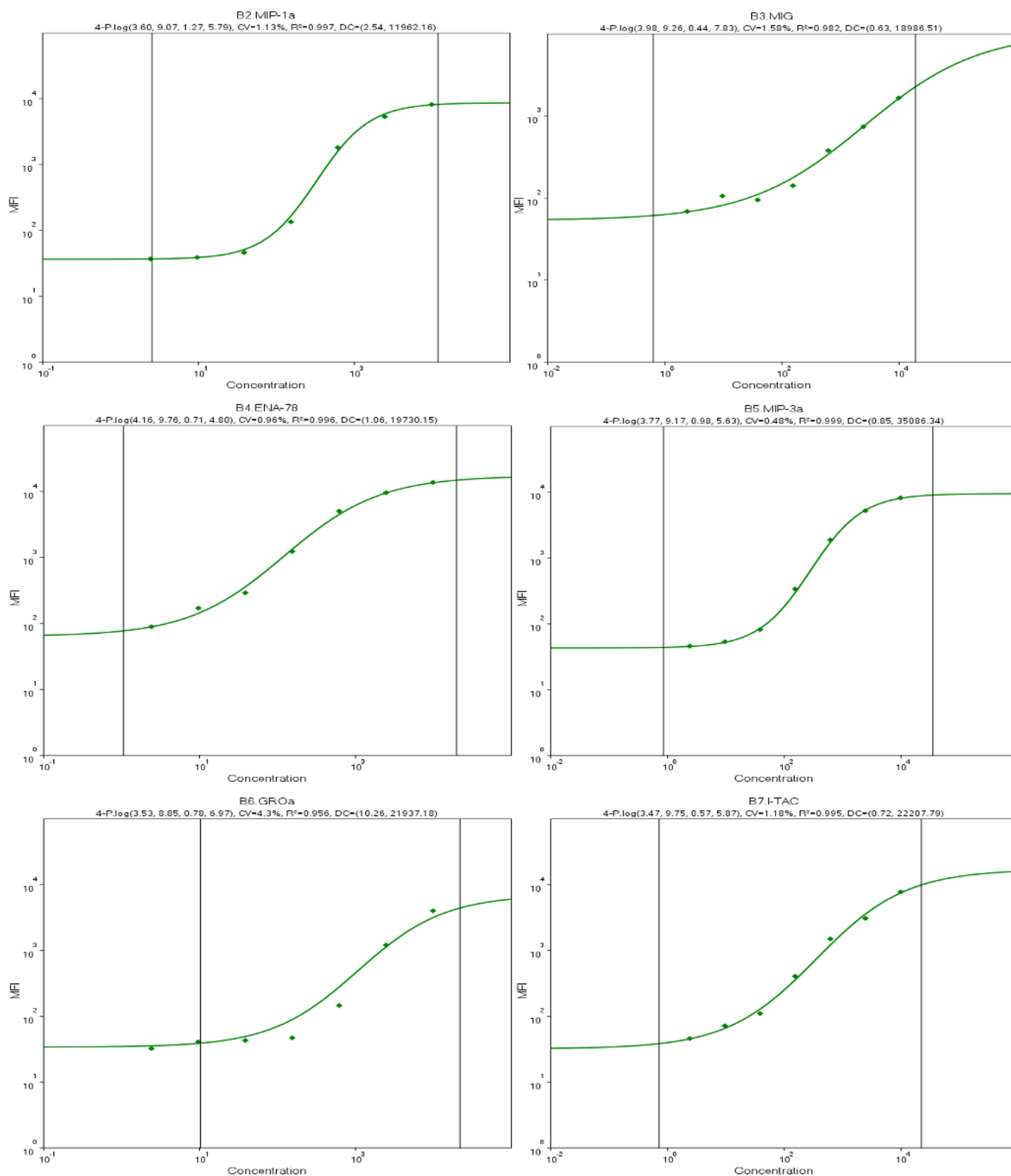


Figura 10. Curvas de concentración de las citocinas analizadas con el kit de cuantificación basada en perlas LEGENDplex Human Proinflammatory Chemokine Panel (MIP-1 $\alpha$ , MIG, ENA-78, MIP-3 $\alpha$ , GRO $\alpha$  e I-TAC).

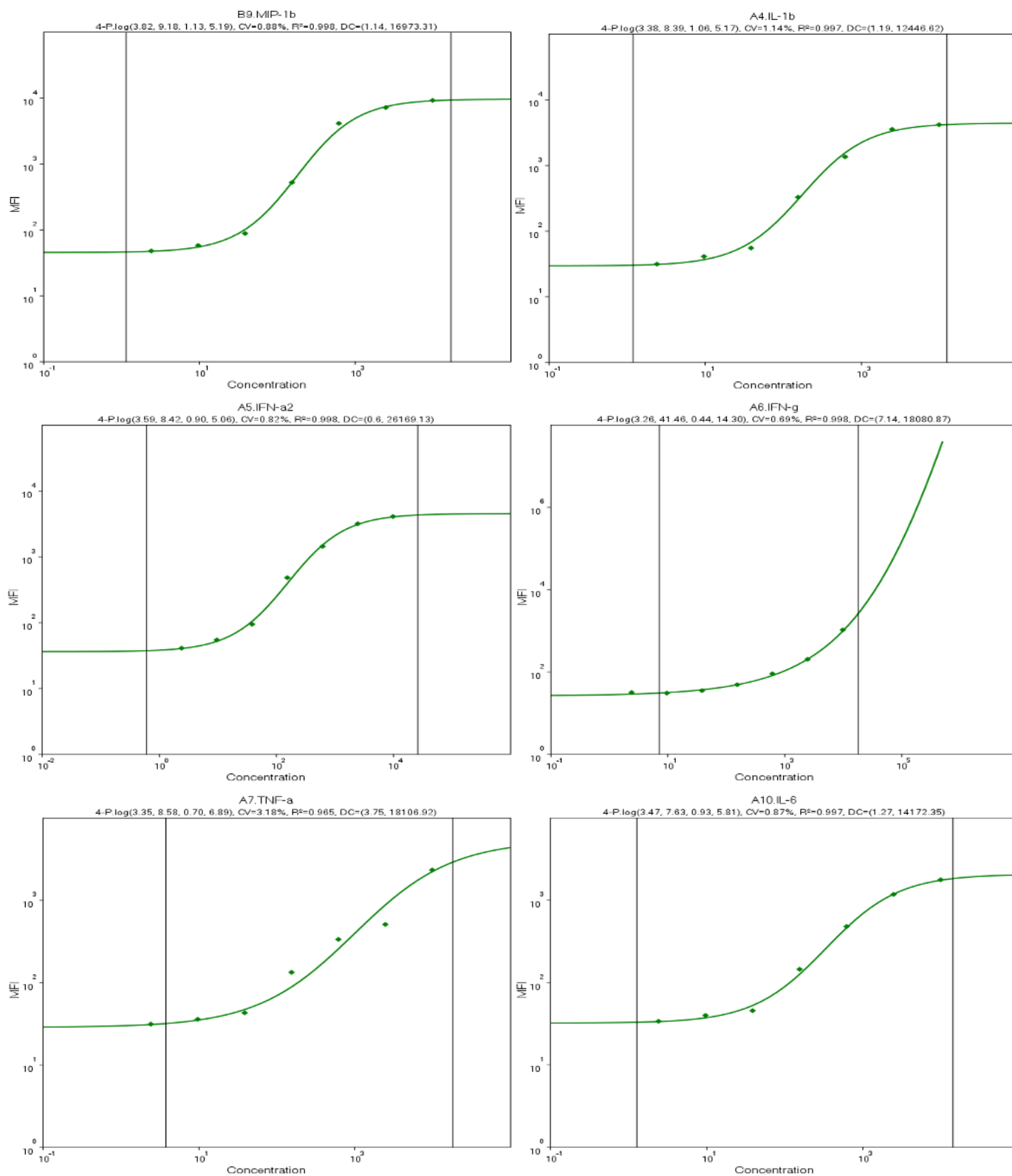


Figura 11. Curvas de concentración de las citocinas analizadas con los kits de cuantificación basada en perlas LEGENDplex Human Proinflammatory Chemokine Panel (MIP-1 $\beta$ ) y Human Inflammation Panel 1 (IL-1 $\beta$ , IFN- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$  e IL-6).

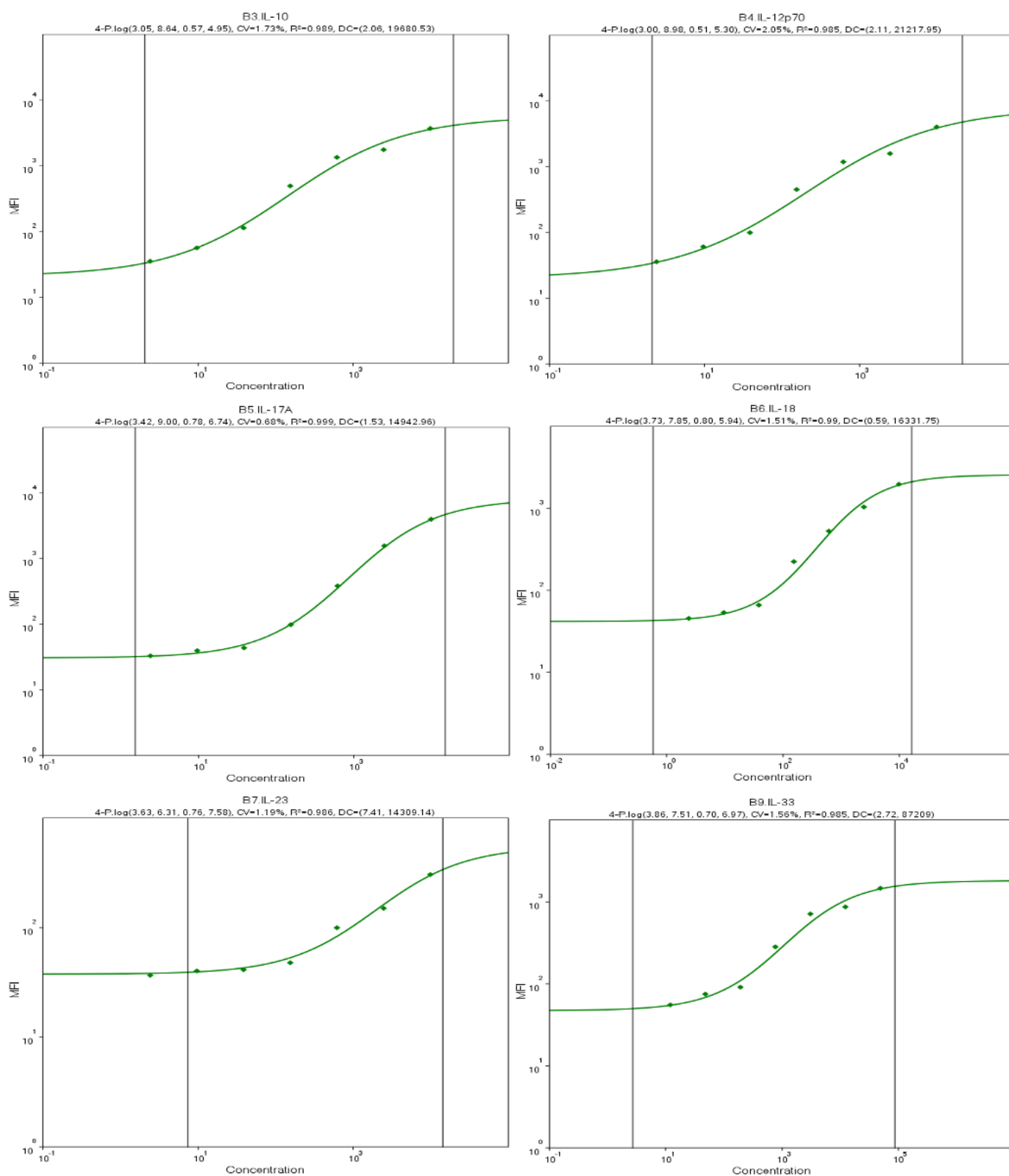


Figura 12. Curvas de concentración de las citocinas analizadas con el kits de cuantificación basada en perlas LEGENDplex Human Inflammation Panel 1 (IL-10, IL-12p70, IL-17A, IL-18, IL-23 e IL-33).

### **Comparación de los valores de concentración de las citocinas por grupo de tratamiento y toma de muestra sanguínea**

De manera general, 9 de 24 citocinas tuvieron concentraciones significativamente diferentes ( $P \leq 0.05$ ) entre la primera y segunda toma de muestra sanguínea: IP10, IL-1 $\beta$ , IFN $\gamma$ , TNF $\alpha$ , IL-6, IL-12p70, IL-17A, IL-23 e IL-33. En el grupo de Pembrolizumab más Docetaxel, la diferencia en la primera y segunda toma de muestra sanguínea ocurrió en IP10, IL-6, IL-18 e IL-23, mientras que el grupo de Docetaxel presentó dichas diferencias en IL-1 $\beta$ , IFN $\gamma$ , TNF $\alpha$ , IL-6, IL-12p70, IL-17A, IL-23 e IL-33. Sólo las citocinas IP10 y MIG tuvieron concentraciones significativamente diferentes entre los dos grupos de tratamiento, específicamente en la segunda toma de muestra sanguínea. Las concentraciones mencionadas, incluyendo el cálculo de la diferencia de concentración entre la primera y segunda extracción sanguínea o toma ( $\Delta T$ ), de forma general y para ambos grupos, se muestran en la tabla 9. De igual forma, en las figuras 13 a 16 se representan estos dos parámetros (concentración de citocinas en pg/mL, así como el grupo y tiempo de toma de muestra sanguínea por tratamiento) por evento (paciente).

**Tabla 9. Valores de mediana y rango mínimo y máximo de concentración de citocinas entre grupos de tratamiento**

| Variable        | Total                       |       | Pembrolizumab + DTX       |        | DTX                        |       | P     |
|-----------------|-----------------------------|-------|---------------------------|--------|----------------------------|-------|-------|
|                 | N= 40                       | P     | n= 20                     | P      | n= 20                      |       |       |
| IL-8 (CXCL8)    |                             |       |                           |        |                            |       |       |
| 1T              | 59.84 (12.91 / 2151)        | 0.748 | 64.97 (14.81 / 2151.0)    | 0.7408 | 47.33 (12.91, 386.08)      | 0.852 | 0.194 |
| 2T              | 57.31 (2.26 / 449.61)       |       | 57.31 (2.26 / 449.61)     |        | 59.89 (2.26, 377.77)       |       | 0.655 |
| ΔT              | -3.54 (-1789.85 / 194.35)   |       | -3.55(-1789.85 / 109.20)  |        | -1.775 (-118.54, 194.35)   |       | 0.850 |
| IP10 (CXCL10)   |                             |       |                           |        |                            |       |       |
| 1T              | 495.02 (78.55 / 1868)       | 0.003 | 544.15 (98.87 / 1868)     | 0.003  | 468.645 (78.55, 928.73)    | 0.232 | 0.482 |
| 2T              | 738.48 (2.87 / 6593)        |       | 861.23 (2.87 / 6593)      |        | 534.37 (2.87, 1458.00)     |       | 0.041 |
| ΔT              | 247.65 (-542.94 / 4725)     |       | 460.09 (-542.94 / 4725)   |        | 67.125 (-352.93, 773.68)   |       | 0.074 |
| Eotaxin (CCL11) |                             |       |                           |        |                            |       |       |
| 1T              | 169.91 (62.16 / 652.24)     | 0.757 | 175.52 (62.16 / 652.24)   | 0.765  | 158.595 (70.35, 578.81)    | 0.737 | 0.626 |
| 2T              | 188.60 (1.95 / 628.56)      |       | 192.45 (14.66 / 422.87)   |        | 175.11 (1.95, 628.56)      |       | 0.543 |
| ΔT              | 1.32 (-385.21 / 266.66)     |       | 10.01 (-385.21 / 266.66)  |        | -12.24 (-144.57, 188.9)    |       | 0.978 |
| TARC (CCL17)    |                             |       |                           |        |                            |       |       |
| 1T              | 300.88 (10.96 / 1312)       | 0.748 | 167.45 (10.96 / 896.76)   | 0.717  | 172.44 (98.05, 1312.00)    | 0.999 | 0.579 |
| 2T              | 177.49 (11.76 / 1719)       |       | 141.68 (11.76 / 811.44)   |        | 201.71 (11.76, 1719.00)    |       | 0.490 |
| ΔT              | -29.25 (-1033.32 / 1587.94) |       | -59.95 (-394.90 / 669.76) |        | 40.3 (-1033.32, 1587.94)   |       | 0.725 |
| MCP-1 (CCL2)    |                             |       |                           |        |                            |       |       |
| 1T              | 484.83 (89.91 / 2036)       | 0.893 | 454.98 (89.91 / 2036)     | 0.478  | 511.01 (235.52, 1124.00)   | 0.313 | 0.199 |
| 2T              | 462.07 (5 / 1146)           |       | 457.55 (7.39 / 1146)      |        | 482.065 (5.00, 1002.00)    |       | 0.598 |
| ΔT              | 11.26 (-953 / 591.93)       |       | 29.87 (-953 / 591.93)     |        | -34.84 (-562,76, 377.19)   |       | 0.234 |
| RANTES (CCL5)   |                             |       |                           |        |                            |       |       |
| 1T              | 17897 (580.68 / 25522)      | 0.879 | 16852 (580.68 / 25522)    | 0.796  | 19796.5 (967.18, 25522.00) | 0.687 | 0.812 |
| 2T              | 20915.5 (2.55 / 25522)      |       | 17123.50 (2.55 / 25522)   |        | 20915.5 (2.55, 25522.00)   |       | 0.876 |
| ΔT              | 0 (-25519.45 / 24127)       |       | 0 (-25519.45 / 22936)     |        | 0 (-19934 / 24127)         |       | 0.664 |
| MIP-1α (CCL3)   |                             |       |                           |        |                            |       |       |
| 1T              | 26.79 (5.08 / 1067)         | 0.749 | 29.62 (5.08 / 1067)       | 0.962  | 20.69 (5.08 / 136.43)      | 0.472 | 0.395 |
| 2T              | 26.79 (5.08 / 358.56)       |       | 20.36 (5.08 / 358.56)     |        | 29.62 (5.08 / 91.30)       |       | 0.859 |
| ΔT              | 2.22 (-708.44 / 101.79)     |       | 0 (-708.44 / 101.79)      |        | 5.57 (-109.64 / 75.56)     |       | 0.533 |
| MIG (CXCL9)     |                             |       |                           |        |                            |       |       |
| 1T              | 14.13 (1.26 / 570.47)       | 0.131 | 29.59 (1.26 / 570.47)     | 0.093  | 9.4 (1.26 / 373.42)        | 0.753 | 0.395 |
| 2T              | 39.06 (1.26 / 5762)         |       | 70.67 (1.26 / 5762)       |        | 13.58 (1.26 / 651.37)      |       | 0.034 |
| ΔT              | 0 (-314.54 / 5191.53)       |       | 21.02 (-238.94 / 5191.53) |        | 0 (-314.54 / 554.63)       |       | 0.198 |
| ENA-78 (CXCL5)  |                             |       |                           |        |                            |       |       |
| 1T              | 402.03 (44.17 / 1748)       | 0.139 | 370.96 (44.17 / 1748)     | 0.370  | 556.95 (73.85 / 1687)      | 0.191 | 0.766 |
| 2T              | 315.89 (2.11 / 2468)        |       | 325.23 (2.11 / 1604)      |        | 304.37 (2.11 / 2468)       |       | 0.797 |
| ΔT              | -99.61 (-1371.34 / 1292)    |       | -36.93 (-565.67 / 726.46) |        | -177.02 (-1371.34 / 1292)  |       | 0.433 |
| MIP-3α (CCL20)  |                             |       |                           |        |                            |       |       |
| 1T              | 16.88 (1.7 / 243.89)        | 0.689 | 2.75 (1.70 / 243.89)      | 0.917  | 1.7 (1.7 / 50.12)          | 0.504 | 0.112 |
| 2T              | 1.7 (1.7 / 590.79)          |       | 3.80 (1.70 / 590.79)      |        | 1.7 (1.7 / 41.25)          |       | 0.089 |
| ΔT              | 0 (-204.46 / 520.70)        |       | 0 (-204.46 / 520.70)      |        | -1.46 (-22.61 / 10.51)     |       | 0.944 |
| GROα (CXCL1)    |                             |       |                           |        |                            |       |       |
| 1T              | 52.28 (20.51 / 209.92)      | 0.850 | 66.52 (20.51 / 186.65)    | 0.763  | 41.13 (20.51 / 209.92)     | 0.523 | 0.075 |
| 2T              | 57.94 (20.51 / 221.49)      |       | 60.79 (20.51 / 221.49)    |        | 35.68 (20.51 / 133.83)     |       | 0.124 |
| ΔT              | 0 (-123 / 146.31)           |       | 2.83 (-123 / 146.31)      |        | -2.295 (-83.89 / 60.48)    |       | 0.534 |
| I-TAC (CXCL11)  |                             |       |                           |        |                            |       |       |
| 1T              | 35.71 (3.98 / 440.05)       | 0.582 | 35.71 (12.39 / 440.05)    | 0.550  | 33.93 (3.98 / 214.03)      | 0.881 | 0.499 |
| 2T              | 47.63 (1.43 / 407.19)       |       | 59.49 (1.43 / 407.19)     |        | 45.30 (2.96 / 326.51)      |       | 0.245 |

|                      |                            |         |                            |       |                             |       |       |
|----------------------|----------------------------|---------|----------------------------|-------|-----------------------------|-------|-------|
| $\Delta T$           | 2.25 (-219.97 / 366.03)    |         | 7.2 (-219.97 / 366.03)     |       | 0.66 (-200.90 / 284.43)     |       | 0.797 |
| MIP-1 $\beta$ (CCL4) |                            |         |                            |       |                             |       |       |
| 1T                   | 30.19 (2.28 / 181.28)      | 0.252   | 31.68 (2.28 / 124.77)      | 0.809 | 26.36 (2.28 / 181.28)       | 0.108 | 0.882 |
| 2T                   | 19.09 (2.28 / 163.21)      |         | 25.62 (2.28 / 84.43)       |       | 18.23 (2.28 / 163.21)       |       | 0.606 |
| $\Delta T$           | -3.79 (-99.15 / 55.22)     |         | -1.44 (-99.15, 55.22)      |       | -8.75 (-33.44 / 21.75)      |       | 0.279 |
| IL-1 $\beta$         |                            |         |                            |       |                             |       |       |
| 1T                   | 20.16 (2.39 / 854.53)      | 0.001   | 20.13 (2.39 / 854.53)      | 0.063 | 20.16 (2.39 / 89.77)        | 0.010 | 0.978 |
| 2T                   | 8.88 (2.39 / 946.16)       |         | 6.14 (2.39 / 946.16)       |       | 10.22 (2.39 / 31.34)        |       | 0.675 |
| $\Delta T$           | -10.42 (-73.89 / 91.63)    |         | -10.42 (-73.89 / 91.63)    |       | -14.09 (-62.77 / 21.65)     |       | 0.60  |
| IFN $\alpha$         |                            |         |                            |       |                             |       |       |
| 1T                   | 22.84 (1.21 / 776.22)      | 0.081   | 25.84 (1.21 / 776.22)      | 0.266 | 11.69 (1.21 / 211.10)       | 0.109 | 0.363 |
| 2T                   | 4.82 (1.21 / 1033)         |         | 5.44 (1.21 / 1033)         |       | 2.10 (1.21 / 160.69)        |       | 0.306 |
| $\Delta T$           | 0 (-104.82 / 256.78)       |         | -4.89 (-92.11 / 256.78)    |       | 0 (-104.82 / 41.37)         |       | 0.957 |
| IFN- $\gamma$        |                            |         |                            |       |                             |       |       |
| 1T                   | 94.17 (14.29 / 13469)      | 0.006   | 80.07 (14.29/ 13469)       | 0.309 | 110.22 (14.29 / 2390)       | 0.004 | 0.481 |
| 2T                   | 59.74 (14.29 / 17358)      |         | 54.08 (14.29 / 17358)      |       | 59.74 (14.29 / 1264)        |       | 0.540 |
| $\Delta T$           | -39.21 (-1154.24 / 3889)   |         | -19.61 (-1154.24 / 3889)   |       | -49.75 (-1126 / 65.27)      |       | 0.244 |
| TNF- $\alpha$        |                            |         |                            |       |                             |       |       |
| 1T                   | 27.87 (7.5 / 294.49)       | 0.003   | 39.35 (7.50 / 294.49)      | 0.064 | 27.87 (7.50 / 164.49)       | 0.015 | 0.892 |
| 2T                   | 21.42 (7.5 / 237.82)       |         | 23.52 (7.50 / 237.82)      |       | 17.33 (7.50 / 66.62)        |       | 0.077 |
| $\Delta T$           | -13 (-202.03 / 45.29)      |         | -6.92 (-202.03 / 45.29)    |       | -13 (-1126 / 65.27)         |       | 0.675 |
| IL-6                 |                            |         |                            |       |                             |       |       |
| 1T                   | 43.57 (2.60 / 1023)        | <0.0001 | 39.73 (2.60 / 1023)        | 0.025 | 49.28 (14.40 / 232.90)      | 0.003 | 0.323 |
| 2T                   | 30.06 (2.55 / 958.69)      |         | 32.01 (2.55 / 958.69)      |       | 30.06 (2.55 / 192.94)       |       | 0.807 |
| $\Delta T$           | -20.75 (-147.27 / 49.7)    |         | -17.49 (-147.27 / 38.68)   |       | -22.56 (-124.63 / 49.7)     |       | 0.685 |
| IL-10                |                            |         |                            |       |                             |       |       |
| 1T                   | 9.56 (4.12 / 968.01)       | 0.092   | 10.52 (4.12 / 968.01)      | 0.191 | 9.24 (4.12 / 44.65)         | 0.227 | 0.542 |
| 2T                   | 8.61 (5.07 / 1304)         |         | 8.61 (5.07 / 1304)         |       | 8.92 (6.78 / 61.32)         |       | 0.241 |
| $\Delta T$           | -1.21 (-38.73 / 335.99)    |         | -1.21 (-38.73 / 335.99)    |       | -1.23 (-25.79 / 54.54)      |       | 0.818 |
| IL-12p70             |                            |         |                            |       |                             |       |       |
| 1T                   | 10.37 (5.23 / 1507)        | 0.004   | 8.75 (5.23 / 1507)         | 0.085 | 11.36 (5.78 / 224.27)       | 0.036 | 0.786 |
| 2T                   | 8.75 (4.23 / 2465)         |         | 7.82 (4.23 / 2465)         |       | 8.75 (4.23 / 59.68)         |       | 0.221 |
| $\Delta T$           | -2.59 (-164.59 / 958)      |         | -1.76 (-30.77 / 958)       |       | -2.94 (-164.59 / 5.12)      |       | 0.735 |
| IL-17A               |                            |         |                            |       |                             |       |       |
| 1T                   | 58.89 (3.06 / 437.12)      | 0.004   | 58.89 (3.06 / 383.81)      | 0.145 | 58.90 (3.11 / 437.12)       | 0.012 | 0.892 |
| 2T                   | 35.61 (3.06 / 1649)        |         | 37.90 (3.06 / 1649)        |       | 31.13 (3.06 / 97.07)        |       | 0.694 |
| $\Delta T$           | -21.26 (-396.93 / 1265.19) |         | -21.21 (-232.19 / 1265.19) |       | -28.11 (-396.93 / 65.97)    |       | 0.543 |
| IL-18                |                            |         |                            |       |                             |       |       |
| 1T                   | 330.09 (55.23 / 5112)      | 0.230   | 306.33 (55.23 / 2528)      | 0.033 | 595.44 (73.52 / 5112)       | 0.778 | 0.449 |
| 2T                   | 536.52 (63.03 / 10780)     |         | 506.88 (168.92 / 10780)    |       | 604.41 (63.03 / 7991)       |       | 0.968 |
| $\Delta T$           | 109.83 (-4333.75 8252)     |         | 196.11 (-596.2 / 8252)     |       | -95.11 (-4333.75 / 7732.17) |       | 0.105 |
| IL-23                |                            |         |                            |       |                             |       |       |
| 1T                   | 219.11 (14.81 / 28618)     | <0.0001 | 172.53 (14.81 / 28618)     | 0.011 | 255.44 (26.35 / 19637)      | 0.002 | 0.685 |
| 2T                   | 77.88 (14.81 / 28618)      |         | 77.88 (14.81 / 28618)      |       | 50.73 (14.81 / 6946)        |       | 0.774 |
| $\Delta T$           | -91.71 (-12691 / 147.80)   |         | -78.76 (-1202.65 / 147.80) |       | -154.31 (-12691 / 105.99)   |       | 0.393 |
| IL-33                |                            |         |                            |       |                             |       |       |
| 1T                   | 15.90 (5.44 / 3433)        | 0.009   | 28.62 (5.44 / 3433)        | 0.085 | 15.90 (5.44 / 370.80)       | 0.047 | 0.532 |
| 2T                   | 5.52 (5.44 / 7936)         |         | 7.08 (5.44 / 7936)         |       | 5.52 (5.44 - 98.67)         |       | 0.911 |
| $\Delta T$           | -7.88 (-282.89 / 4503)     |         | -9.96 (-282.89 / 4503)     |       | -7.88 (-272.13 / 37.47)     |       | 0.829 |

DTX: Docetaxel, 1T: primera toma de muestra sanguínea, 2T: segunda toma de muestra sanguínea,  $\Delta T$ : diferencia entre la primera y segunda toma de muestra sanguínea. Entre paréntesis se muestran los valores mínimos y máximos obtenidos.  $P \leq 0.05$ .

**Análisis bivariado de las características clínicas de los pacientes de los grupos con las concentraciones de citocinas en la primera y segunda toma de muestra sanguínea**

El análisis bivariado mostró que existió asociación significativa entre la concentración de citocinas de primera (tabla 10) y segunda toma (tabla 11) de muestra sanguínea con los valores de las características clínico-patológicas de los pacientes por grupo en los siguientes casos:

- Entre grupos (Pembro + DTX y DTX)
  - Género femenino: IL-8 (1ºT).
  - Menores de 60 años: MIG (2ºT) e IFN- $\alpha$  (2ºT).
  - Mayores de 60 años: IL-18 (2ºT).
  - Índice tabáquico  $\leq 20$ : IL-6 (1ºT), IL-12p70 (1ºT), IL-18 (1ºT), IL-8 (2ºT), MIP-3 $\alpha$  (2ºT) y MIP-1 $\beta$  (2ºT).
  - Exposición positiva a humo de leña: IL-8 (1ºT), GRO $\alpha$  (1ºT), IP-10 (2ºT) y MIG (2ºT).
  - Exposición negativa a humo de leña: GRO $\alpha$  (2ºT).
  - Índice de exposición a humo de leña  $\leq 20$ : MIG (1ºT), GRO $\alpha$  (1ºT), MIG (2ºT) e IFN- $\alpha$  (2ºT).
  - Índice de exposición a humo de leña  $\geq 21$ : MIP-3 $\alpha$  (1ºT)
  - Histología de tipo Adenocarcinoma: IP-10 (2ºT) y MIG (2ºT)
  - Histología de tipo Acinar/Papilar: IL-23 (1ºT) e IL-10 (2ºT).
  - Histología de tipo Micropapilar/Sólido: IFN- $\alpha$  (1ºT y 2ºT) y TNF- $\alpha$ .
  - Sin determinación histológica: GRO $\alpha$  (1ºT y 2ºT), IP-10 (2ºT), MIG (2ºT), IFN- $\gamma$  (2ºT) e IL-6 (2ºT).
  - Estado positivo a mutaciones en EGFR: MIG (1ºT), GRO $\alpha$  (1ºT), IP-10 (2ºT) y MIG (2ºT).
  - Estado negativo a mutaciones en EGFR: MIP-3 $\alpha$  (2ºT) y TNF- $\alpha$  (2ºT).
  - Estado no probado de PD-L1: GRO $\alpha$  (1ºT) y MIP-3 $\alpha$  (2ºT).
  - Estado negativo de PD-L1: IL-18 (1ºT), MIP-1 $\alpha$  (2ºT) e IL-18 (2ºT).
  - Estado positivo de PD-L1: MIP3 $\alpha$  (1ºT), IFN- $\alpha$  (1ºT) y MIP-1 $\alpha$  (2ºT).
- Entre categorías (primera toma):
  - Género femenino y masculino: TARC (Total), MIP-1 $\beta$  (Pembro + DTX) y TNF- $\alpha$  (Total).
  - Grupos por edad (años)  $\leq 60$  y  $\geq 60$ : MIP-1 $\beta$  (Pembro + DTX).
  - Índice tabáquico  $\leq 20$  y  $\geq 21$ : IL-8 (Total y DTX), MIG (Total y DTX), MIP-1 $\beta$  (DTX) e IL-12p70 (Pembro + DTX).
  - Exposición negativa o positiva a humo de leña: GRO $\alpha$  (DTX).
  - Índice de exposición a humo de leña  $\leq 20$  y  $\geq 21$ : MIG (DTX) e I-TAC (Total y DTX).
  - ECOG al momento del diagnóstico: I-TAC (total y Pembro + DTX).
  - Adenocarcinoma u otros tipos histológicos: IL-8 (DTX) e IP-10 (DTX)

- Tipo histológico lepidico, acinar/papilar, micropapilar/sólido o sin determinación histológica: IL-8 (total), IP-10 (total y DTX), RANTES (Total), TNF- $\alpha$  (Pembro + DTX), IL-10 (Pembro + DTX), IL-12p70 (Pembro + DTX) e IL-23 (Pembro + DTX).
- Estado negativo o positivo a mutaciones en EGFR: IP10 (DTX), MIG (DTX) y ENA-78 (Pembro + DTX)
- Estado no probado, negativo o positivo de PD-L1: ENA-78 (Total) e IL-18 (Pembro + DTX).
- Entre categorías (segunda toma):
  - Género femenino y masculino: MIP-1 $\alpha$  (DTX) e IL-18 (Pembro + DTX).
  - Grupos por edad (años)  $\leq 60$  y  $\geq 60$ : ITAC (DTX) e IL-18 (DTX).
  - Fumador o No Fumador: RANTES (Pembro + DTX) e IL-1 $\beta$  (DTX).
  - Índice tabáquico  $\leq 20$  y  $\geq 21$ : MIP-3 $\alpha$  (Pembro + DTX), GRO $\alpha$  (Pembro + DTX) e IL-6 (DTX).
  - Exposición positiva o negativa a humo de leña: IL-8 (Total y DTX), TARC (Total y DTX), MCP-1 (Total, Pembro + DTX y DTX), GRO $\alpha$  (Total y DTX) e IFN- $\alpha$  (Total y Pembro + DTX).
  - Índice de exposición a humo de leña  $\leq 20$  y  $\geq 21$ : IFN- $\gamma$  (DTX) e IL-18 (Total y DTX).
  - ECOG  $\leq 1$  y  $\geq 2$  al momento del diagnóstico: ENA-78 (Total).
  - Adenocarcinoma u otros tipos histológicos: IL-33 (DTX).
  - Tipo histológico lepidico, acinar/papilar, micropapilar/sólido o sin determinación histológica: GRO $\alpha$  (Pembro + DTX), IL-6 (DTX) e IL-10 (DTX)

En primera toma, las concentraciones de las citocinas Eotaxin, MCP-1, MIP-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IFN- $\gamma$ , IL-17A e IL-33, así como la variable Historial de tabaquismo, no mostraron ningún tipo de asociación. Mientras que en la segunda toma lo mismo ocurrió en Eotaxin, IL-12p70, IL17A e IL-23, aunque en esta condición todas las variables clínico-patológicas tuvieron al menos una asociación de cualquier tipo (entre grupo y/o entre categoría) con la concentración de alguna citocina.

Tabla 10. Análisis bivariado de las características clínicas de los pacientes de los grupos con las concentraciones de citocinas de la 1T

| Variable |  | Género   |           | P | Grupos por edad (años) |      |         | Historial de tabaquismo |      |      | P | Índice tabáquico |          |      | P | Exposición a humo de leña |     |     | P | Índice de humo de leña |                |   | P | ECOG al momento del Dx |                  |                       | P | Histología |          |          |            |          |          |  | Mutaciones de EGFR |  |  | Estado de PD-L1 |  |  | P |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
|----------|--|----------|-----------|---|------------------------|------|---------|-------------------------|------|------|---|------------------|----------|------|---|---------------------------|-----|-----|---|------------------------|----------------|---|---|------------------------|------------------|-----------------------|---|------------|----------|----------|------------|----------|----------|--|--------------------|--|--|-----------------|--|--|---|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|
|          |  | Femenino | Masculino |   | ≤ 60                   | ≥ 60 | Fumador | No fumador              | ≤ 20 | ≥ 21 |   | Negativo         | Positivo | ≤ 20 |   | ≥ 21                      | ≤ 1 | ≥ 2 |   | Otros                  | Adenocarcinoma | P |   | Lépidico               | Acinar / Papilar | Micropapilar / Sólido |   | NE         | Negativo | Positivo | No probado | Negativo | Positivo |  |                    |  |  |                 |  |  |   |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
|          |  |          |           |   |                        |      |         |                         |      |      |   |                  |          |      |   |                           |     |     |   |                        |                |   |   |                        |                  |                       |   |            |          |          |            |          |          |  |                    |  |  |                 |  |  |   |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |

|                   |               |        |        |       |        |         |       |        |        |       |        |         |       |         |        |       |         |        |       |         |          |       |         |         |       |        |        |        |          |       |         |        |       |         |        |         |       |
|-------------------|---------------|--------|--------|-------|--------|---------|-------|--------|--------|-------|--------|---------|-------|---------|--------|-------|---------|--------|-------|---------|----------|-------|---------|---------|-------|--------|--------|--------|----------|-------|---------|--------|-------|---------|--------|---------|-------|
| RANTES<br>(CCL5)  | Total         | 22127  | 6315   | 0.145 | 17697  | 18097   | 0.724 | 100080 | 22073  | 0.727 | 9013.5 | 13380.5 | 0.581 | 10754   | 22019  | 0.302 | 21809.5 | 22019  | 0.848 | 17897   | 13051.34 | 0.630 | 18138   | 17897   | 0.485 | 15446  | 25522  | 16852  | 2924.5   | 0.034 | 18097   | 17697  | 0.823 | 25522   | 4051   | 16852   | 0.425 |
|                   | Pem bro + DTX | 25522  | 6315   | 0.449 | 25522  | 6315    | 0.589 | 16007  | 17697  | 0.550 | 17392  | 16007   | 0.646 | 12634.5 | 25522  | 0.235 | 25522   | 14694  | 0.317 | 16852   | 13051.34 | 0.597 | 15918.5 | 16852   | 0.692 | --     | 25522  | 16852  | 3209     | 0.182 | 9262    | 25522  | 0.480 | 25522   | 4051   | 12634.5 | 0.558 |
|                   | DTX           | 22073  | 5320.5 | 0.152 | 8097.5 | 21757.5 | 0.280 | 8765   | 22127  | 0.260 | 8097.5 | 10754   | 0.461 | 10754   | 21496  | 0.840 | 12763.5 | 22019  | 0.212 | 19796.5 | --       | --    | 18138   | 19796.5 | 0.520 | 15446  | 25522  | 10654  | 2640     | 0.118 | 21757.5 | 5035   | 0.273 | 14425.5 | 12113  | 22073   | 0.836 |
|                   | P             | 0.908  | 0.44   |       | 0.316  | 0.425   |       | 0.332  | 0.720  |       | 0.241  | 0.674   |       | 0.964   | 0.322  |       | 0.140   | 0.767  |       | 0.717   | --       |       | 0.683   | 0.744   |       | --     | 0.873  | 0.557  | 0.513    |       | 0.534   | 0.229  |       | 0.648   | 0.793  | 0.454   |       |
| MIP-1α<br>(CCL3)  | Total         | 26.79  | 20.69  | 0.444 | 26.79  | 26.79   | 0.978 | 35.1   | 20.69  | 0.303 | 40.28  | 32.45   | 0.814 | 26.79   | 26.79  | 0.794 | 34.79   | 20.69  | 0.516 | 26.79   | 18.76    | 0.508 | 23.19   | 26.79   | 0.909 | 5.08   | 40.28  | 23.74  | 15.93    | 0.093 | 32.45   | 20.69  | 0.420 | 20.69   | 32.45  | 26.79   | 0.956 |
|                   | Pem bro + DTX | 32.45  | 26.79  | 0.420 | 26.79  | 32.45   | 0.904 | 32.45  | 26.79  | 0.759 | 34.79  | 32.45   | 0.999 | 29.62   | 34.79  | 0.775 | 34.79   | 26.34  | 0.999 | 29.62   | 18.76    | 0.408 | 18.76   | 29.62   | 0.408 | --     | 47.61  | 16.33  | 26.79    | 0.229 | 32.45   | 26.79  | 0.936 | 5.87    | 42.8   | 29.62   | 0.288 |
|                   | DTX           | 23.74  | 12.88  | 0.642 | 12.88  | 23.74   | 0.670 | 37.76  | 20.69  | 0.228 | 40.28  | 32.45   | 0.851 | 20.69   | 20.69  | 0.903 | 31.74   | 20.69  | 0.589 | 20.69   | --       | --    | 75.18   | 20.69   | 0.367 | 5.08   | 32.45  | 23.74  | 474.26   | 0.275 | 29.62   | 12.88  | 0.191 | 26.57   | 12.88  | 15.93   | 0.603 |
|                   | P             | 0.320  | 0.626  |       | 0.341  | 0.768   |       | 0.877  | 0.217  |       | 0.999  | 0.999   |       | 0.473   | 0.442  |       | 0.623   | 0.999  |       | 0.300   | --       |       | 0.439   | 0.199   |       | --     | 0.275  | 0.948  | 0.487    |       | 0.922   | 0.141  |       | 0.566   | 0.115  | 0.232   |       |
| MIG<br>(CXCL9)    | Total         | 15.93  | 12.33  | 0.966 | 10.18  | 15.93   | 0.505 | 11.25  | 40.98  | 0.732 | 2.47   | 72.49   | 0.039 | 12.33   | 17.22  | 0.854 | 3.86    | 96.74  | 0.076 | 16.57   | 13.57    | 0.285 | 130.62  | 11.25   | 0.105 | 22.6   | 6.32   | 47.1   | 1.26     | 0.083 | 15.93   | 1.26   | 0.183 | 15.93   | 2.47   | 42.95   | 0.315 |
|                   | Pem bro + DTX | 41.96  | 17.22  | 0.969 | 41.96  | 17.22   | 0.660 | 10.18  | 52.25  | 0.969 | 9.84   | 10.18   | 0.769 | 26.07   | 34.74  | 0.849 | 34.73   | 106.23 | 0.999 | 47.10   | 3.86     | 0.204 | 69.32   | 29.59   | 0.703 | --     | 10.18  | 74.49  | 2.47     | 0.231 | 6.47    | 52.25  | 0.318 | 52.25   | 1.26   | 87.07   | 0.168 |
|                   | DTX           | 11.20  | 6.79   | 0.800 | 1.41   | 14.13   | 0.440 | 12.33  | 1.56   | 0.560 | 1.86   | 129.06  | 0.017 | 12.33   | 6.47   | 0.777 | 1.26    | 96.74  | 0.028 | 9.40    | --       | --    | 166.43  | 4.47    | 0.072 | 22.6   | 2.47   | 14.77  | 1.26     | 0.188 | 28.61   | 1.26   | 0.001 | 11.2    | 7.4    | 22.75   | 0.985 |
|                   | P             | 0.491  | 0.584  |       | 0.341  | 0.589   |       | 0.759  | 0.331  |       | 0.299  | 0.371   |       | 0.595   | 0.498  |       | 0.049   | 0.999  |       | 0.261   | --       |       | 0.439   | 0.252   |       | --     | 0.948  | 0.438  | 0.121    |       | 0.284   | 0.005  |       | 0.693   | 0.418  | 0.24    |       |
| ENA-78<br>(CXCL5) | Total         | 444.43 | 367.96 | 0.511 | 538.36 | 366.76  | 0.305 | 344.27 | 585.63 | 0.088 | 344.27 | 310.29  | 0.643 | 366.76  | 595.73 | 0.188 | 484.36  | 595.73 | 0.273 | 403.63  | 237.14   | 0.238 | 341.37  | 403.63  | 0.822 | 496.93 | 406.19 | 485.83 | 332.15   | 0.960 | 367.96  | 646.94 | 0.130 | 646.94  | 315.42 | 266.76  | 0.022 |
|                   | Pem bro + DTX | 373.96 | 367.96 | 0.849 | 444.43 | 321.79  | 0.191 | 321.79 | 433.31 | 0.184 | 254.78 | 367.96  | 0.242 | 332.75  | 543.01 | 0.186 | 487.25  | 979.15 | 0.439 | 370.96  | 237.14   | 0.313 | 341.37  | 370.96  | 0.705 | --     | 367.96 | 403.63 | 297.54   | 0.981 | 321.79  | 652.72 | 0.052 | 433.31  | 321.79 | 230.37  | 0.144 |
|                   | DTX           | 585.63 | 401.21 | 0.564 | 592.65 | 471.15  | 0.880 | 366.76 | 595.73 | 0.305 | 506.85 | 179.34  | 0.361 | 366.76  | 595.73 | 0.663 | 455.5   | 595.73 | 0.480 | 556.9   | --       | --    | 933.17  | 556.95  | 0.614 | 496.93 | 595.73 | 556.95 | 66662.84 | 0.918 | 556.95  | 506.85 | 0.934 | 744.89  | 289.74 | 428.21  | 0.085 |
|                   | P             | 0.622  | 0.814  |       | 0.852  | 0.495   |       | 0.909  | 0.849  |       | 0.317  | 0.465   |       | 0.861   | 0.850  |       | 0.643   | 0.564  |       | 0.999   | --       |       | 0.999   | 0.874   |       | --     | 0.749  | 0.999  | 0.827    |       | 0.286   | 0.253  |       | 0.360   | 0.999  | 0.831   |       |
| MIP-3α<br>(CCL20) | Total         | 1.7    | 1.7    | 0.647 | 1.7    | 1.7     | 0.330 | 1.7    | 1.7    | 0.436 | 2.75   | 1.7     | 0.899 | 1.7     | 1.70   | 0.707 | 1.70    | 1.7    | 0.833 | 1.70    | 1.70     | 0.262 | 1.70    | 1.70    | 0.346 | 2.75   | 1.70   | 3.81   | 9.01     | 0.552 | 1.7     | 1.7    | 0.602 | 3.8     | 1.7    | 1.7     | 0.220 |
|                   | Pem bro + DTX | 5.93   | 1.7    | 0.490 | 3.8    | 1.7     | 0.899 | 1.7    | 3.8    | 0.935 | 35.89  | 1.7     | 0.748 | 3.81    | 2.75   | 0.999 | 1.70    | 123.84 | 0.102 | 4.86    | 1.70     | 0.178 | 1.70    | 4.86    | 0.178 | --     | 1.70   | 14.13  | 30.11    | 0.397 | 5.93    | 1.7    | 0.309 | 3.8     | 1.7    | 24.3    | 0.172 |
|                   | DTX           | 1.7    | 1.7    | 0.959 | 1.7    | 1.7     | 0.244 | 1.7    | 1.7    | 0.101 | 2.75   | 1.7     | 0.842 | 1.7     | 1.7    | 0.922 | 6.95    | 1.7    | 0.186 | 1.70    | --       | --    | 2.75    | 1.7     | 0.756 | 2.75   | 1.70   | 1.70   | 1.70     | 0.901 | 1.7     | 1.7    | 0.839 | 2.75    | 1.7    | 1.7     | 0.211 |
|                   | P             | 0.086  | 0.674  |       | 0.482  | 0.183   |       | 0.589  | 0.055  |       | 0.594  | 0.786   |       | 0.185   | 0.511  |       | 0.273   | 0.050  |       | 0.059   | --       |       | 0.317   | 0.064   |       | --     | 0.379  | 0.215  | 0.246    |       | 0.091   | 0.871  |       | 0.576   | 0.480  | 0.055   |       |
| GROα<br>(CXCL1)   | Total         | 52.28  | 52.28  | 0.966 | 63.65  | 41.13   | 0.201 | 63.65  | 52.28  | 0.505 | 44.37  | 80.99   | 0.087 | 63.65   | 41.13  | 0.055 | 30.82   | 52.28  | 0.221 | 52.28   | 55.66    | 0.999 | 41.13   | 57.96   | 0.717 | 90.11  | 69.41  | 41.3   | 46.99    | 0.134 | 63.65   | 52.28  | 0.368 | 63.65   | 52.28  | 52.28   | 0.841 |
|                   | Pem bro + DTX | 69.4   | 63.65  | 0.939 | 69.4   | 63.65   | 0.780 | 63.65  | 69.4   | 0.516 | 63.65  | 80.99   | 0.550 | 66.52   | 69.41  | 0.962 | 57.96   | 75.18  | 102   | 66.52   | 55.66    | 0.752 | 61.06   | 66.52   | 0.950 | --     | 75.18  | 52.28  | 75.18    | 0.140 | 63.65   | 75.18  | 0.661 | 75.18   | 63.65  | 57.96   | 0.190 |
|                   | DTX           | 46.7   | 41.13  | 0.675 | 52.28  | 1352.26 | 0.219 | 41.13  | 41.13  | 0.728 | 22.80  | 110.28  | 0.224 | 52.28   | 20.51  | 0.033 | 20.51   | 41.13  | 0.237 | 41.13   | --       | --    | 41.13   | 46.7    | 0.898 | 90.11  | 52.28  | 20.51  | 20.51    | 0.083 | 52.28   | 25.42  | 0.071 | 41.13   | 46.7   | 41.3    | 0.772 |
|                   | P             | 0.283  | 0.109  |       | 0.436  | 0.115   |       | 0.378  | 0.134  |       | 0.293  | 0.625   |       | 0.692   | 0.009  |       | 0.049   | 0.076  |       | 0.064   | --       |       | 0.317   | 0.104   |       | --     | 0.564  | 0.234  | 0.046    |       | 0.733   | 0.011  |       | 0.051   | 0.795  | 0.520   |       |
| I-TAC<br>(CXCL11) | Total         | 34.81  | 36.61  | 0.748 | 34.81  | 36.61   | 0.774 | 33.03  | 38.42  | 0.607 | 22.66  | 38.88   | 0.177 | 34.81   | 36.61  | 0.844 | 24.78   | 87.03  | 0.006 | 36.61   | 14.68    | 0.047 | 48.73   | 34.36   | 0.964 | 33.85  | 40.7   | 29.5   | 36.21    | 0.832 | 34.81   | 36.61  | 0.697 | 40.24   | 22.66  | 23-92   | 0.241 |
|                   | Pem bro + DTX | 34.81  | 36.61  | 0.704 | 36.61  | 29.5    | 0.267 | 29.5   | 41.16  | 0.183 | 22.66  | 34.81   | 0.378 | 34.36   | 69.7   | 0.321 | 29.63   | 271.42 | 0.121 | 38.88   | 14.68    | 0.023 | 36.62   | 35.71   | 0.449 | --     | 41.16  | 31.71  | 41.16    | 0.612 | 33.92   | 41.16  | 0.219 | 41.16   | 22.66  | 26.08   | 0.184 |

|                  |               |        |        |       |       |        |       |        |       |       |        |        |       |        |       |       |        |        |       |        |       |       |        |        |       |        |        |         |        |       |        |        |       |        |        |        |       |
|------------------|---------------|--------|--------|-------|-------|--------|-------|--------|-------|-------|--------|--------|-------|--------|-------|-------|--------|--------|-------|--------|-------|-------|--------|--------|-------|--------|--------|---------|--------|-------|--------|--------|-------|--------|--------|--------|-------|
|                  | DTX           | 34.49  | 33.93  | 0.805 | 28.22 | 39.34  | 0.496 | 36.61  | 26.9  | 0.470 | 24.11  | 96.87  | 0.144 | 36.61  | 31.26 | 0.606 | 20.77  | 64.69  | 0.034 | 33.93  | --    | --    | 50.65  | 29.08  | 0.529 | 33.85  | 40.24  | 23.13   | 31.26  | 0.932 | 39.34  | 29.08  | 0.509 | 38.42  | 53.2   | 23.09  | 0.632 |
|                  |               | P      | 0.443  | 0.768 |       | 0.203  | 0.558 |        | 0.595 | 0.128 |        | 0.999  | 0.223 |        | 0.913 | 0.257 |        | 0.355  | 0.083 |        | 0.254 | --    |        | 0.439  | 0.296 |        | --     | 0.609   | 0.366  | 0.827 |        | 0.923  | 0.199 |        | 0.398  | 0.697  | 0.454 |
| MIP-1β<br>(CCL4) | Total         | 31.68  | 24.03  | 0.314 | 31.68 | 22.42  | 0.118 | 27.85  | 30.19 | 0.978 | 22.4   | 36.67  | 0.113 | 25.62  | 31.68 | 0.750 | 31.63  | 31.68  | 0.583 | 31.68  | 24.02 | 0.664 | 29.89  | 30.19  | 0.874 | 19.81  | 35.27  | 26.36   | 27.85  | 0.517 | 31.68  | 28.7   | 0.707 | 34.57  | 17.37  | 27.85  | 0.161 |
|                  | Pem bro + DTX | 35.98  | 10     | 0.033 | 35.98 | 10.00  | 0.032 | 31.68  | 31.68 | 0.761 | 33.83  | 22.42  | 0.659 | 28.65  | 33.83 | 0.999 | 41.3   | 16.98  | 0.121 | 33.83  | 24.02 | 0.613 | 16.21  | 33.83  | 0.343 | --     | 35.98  | 25.79   | 31.68  | 0.688 | 31.68  | 31.68  | 0.721 | 37.37  | 25.62  | 20.84  | 0.326 |
|                  | DTX           | 24.03  | 35.97  | 0.283 | 24.03 | 30.19  | 0.910 | 24.03  | 28.7  | 0.648 | 19.93  | 41.44  | 0.013 | 24.03  | 28.7  | 0.551 | 23.89  | 31.68  | 0.480 | 26.36  | --    | --    | 38.06  | 24.03  | 0.146 | 19.81  | 34.57  | 26.36   | 24.03  | 0.736 | 27.85  | 26.36  | 0.408 | 31.63  | 12.68  | 27.85  | 0.386 |
|                  | P             | 0.125  | 0.14   |       | 0.291 | 0.171  |       | 0.761  | 0.676 |       | 0.096  | 0.062  |       | 0.861  | 0.507 |       | 0.064  | 0.374  |       | 0.803  | --    |       | 0.121  | 0.466  |       | --     | 0.798  | 0.796   | 0.513  |       | 0.734  | 0.391  |       | 0.573  | 0.897  | 0.747  |       |
| IL-1β            | Total         | 15.32  | 35.52  | 0.059 | 17.77 | 22.49  | 0.546 | 22.49  | 18.96 | 0.745 | 22.38  | 22.49  | 0.728 | 20.16  | 20.16 | 0.761 | 15.29  | 35.52  | 0.360 | 21.32  | 54.28 | 0.135 | 32.99  | 18.96  | 0.429 | 40.07  | 12.81  | 21.32   | 32.54  | 0.395 | 20.16  | 17.77  | 0.885 | 22.49  | 15.32  | 20.16  | 0.898 |
|                  | Pem bro + DTX | 15.32  | 35.52  | 0.158 | 17.77 | 35.52  | 0.360 | 17.77  | 22.49 | 0.541 | 15.29  | 22.49  | 0.658 | 20.13  | 26.64 | 0.776 | 15.29  | 40.47  | 0.121 | 22.49  | 7.6   | 0.129 | 28.15  | 20.13  | 0.950 | --     | 10.22  | 29.00   | 47.31  | 0.082 | 17.77  | 22.49  | 0.605 | 17.77  | 12.81  | 30.03  | 0.357 |
|                  | DTX           | 17.74  | 34.9   | 0.363 | 16.48 | 21.32  | 0.820 | 27.00  | 12.81 | 0.287 | 29.17  | 22.49  | 0.583 | 20.16  | 20.16 | 0.843 | 22.07  | 20.16  | 0.999 | 20.16  | --    | --    | 37.67  | 17.74  | 0.313 | 40.07  | 20.16  | 13.85   | 15.32  | 0.678 | 21.32  | 14.06  | 0.836 | 26.91  | 21.16  | 16.48  | 0.725 |
|                  | P             | 0.562  | 0.953  |       | 0.618 | 0.305  |       | 0.446  | 0.446 |       | 0.317  | 0.744  |       | 0.965  | 0.776 |       | 0.814  | 0.564  |       | 0.703  | --    |       | 0.439  | 0.824  |       | --     | 0.139  | 0.243   | 0.513  |       | 0.846  | 0.774  |       | 0.859  | 0.243  | 0.087  |       |
| IFN-α            | Total         | 15.45  | 25.26  | 0.680 | 22.84 | 22.84  | 0.495 | 24.05  | 16.01 | 0.912 | 11.69  | 27.05  | 0.636 | 22.84  | 15.45 | 0.347 | 19.14  | 1.21   | 0.848 | 22.84  | 2.71  | 0.206 | 16.79  | 22.84  | 0.783 | 17.38  | 13.52  | 22.84   | 26.99  | 0.944 | 22.84  | 22.84  | 0.499 | 33.55  | 4.21   | 7.93   | 0.148 |
|                  | Pem bro + DTX | 22.84  | 28.85  | 0.444 | 22.84 | 28.85  | 0.247 | 28.85  | 22.84 | 0.421 | 1.21   | 32.38  | 0.126 | 30.61  | 12.02 | 0.199 | 12.02  | 18.54  | 0.683 | 30.61  | 2.71  | 0.128 | 16.79  | 25.84  | 0.446 | --     | 4.21   | 25.84   | 46     | 0.858 | 28.85  | 22.84  | 0.749 | 46.04  | 1.21   | 25.84  | 0.065 |
|                  | DTX           | 0.332  | 13.23  | 0.831 | 3.94  | 19.14  | 0.667 | 22.84  | 1.21  | 0.224 | 24.5   | 22.84  | 0.712 | 7.94   | 15.45 | 0.967 | 19.14  | 1.21   | 0.714 | 11.69  | --    | --    | 84.6   | 11.69  | 0.745 | 17.38  | 22.84  | 8.33    | 7.94   | 0.749 | 8.33   | 15.39  | 0.609 | 22.84  | 16.6   | 1.21   | 0.163 |
|                  | P             |        | 0.951  |       | 0.232 | 0.881  |       | 0.786  | 0.097 |       | 0.088  | 0.457  |       | 0.268  | 0.766 |       | 0.634  | 0.999  |       | 0.223  | --    |       | 0.683  | 0.275  |       | --     | 0.947  | 0.051   | 0.827  |       | 0.353  | 0.830  |       | 0.303  | 0.178  | 0.037  |       |
| IFN-γ            | Total         | 65.98  | 161.87 | 0.320 | 53.5  | 126.28 | 0.388 | 126.28 | 59.74 | 0.349 | 126.28 | 144.07 | 0.511 | 109.76 | 79.56 | 0.554 | 101.96 | 65.98  | 0.582 | 94.17  | 88.08 | 0.514 | 517.04 | 86.86  | 0.331 | 267.36 | 59.74  | 86.86   | 330.12 | 0.553 | 79.56  | 109.76 | 0.623 | 109.76 | 94.17  | 53.5   | 0.538 |
|                  | Pem bro + DTX | 23.27  | 161.87 | 0.137 | 53.5  | 161.87 | 0.381 | 94.17  | 65.98 | 0.789 | 18.78  | 161.87 | 0.079 | 101.96 | 49.03 | 0.393 | 62.02  | 49.03  | 0.999 | 80.07  | 88.08 | 0.569 | 576.39 | 59.74  | 0.164 | --     | 53.5   | 70.92   | 756.04 | 0.285 | 53.5   | 109.76 | 0.662 | 109.76 | 14.29  | 143.47 | 0.239 |
|                  | DTX           | 110.22 | 288.07 | 0.901 | 53.5  | 126.28 | 0.820 | 126.28 | 53.5  | 0.360 | 217.5  | 126.28 | 0.999 | 126.28 | 94.17 | 0.999 | 201.44 | 79.56  | 0.724 | 110.22 | --    | --    | 443.25 | 110.22 | 0.950 | 267.36 | 126.28 | 86.86   | 126.28 | 0.958 | 102.92 | 110.22 | 0.741 | 217.5  | 126.28 | 53.5   | 0.521 |
|                  | P             | 0.105  | 0.906  |       | 0.350 | 0.731  |       | 0.469  | 0.909 |       | 0.064  | 0.935  |       | 0.741  | 0.255 |       | 0.355  | 0.564  |       | 0.558  | --    |       | 0.439  | 0.228  |       | --     | 0.157  | 0.605   | 0.513  |       | 0.543  | 0.775  |       | 0.751  | 0.114  | 0.999  |       |
| TNF-α            | Total         | 23.52  | 77.01  | 0.014 | 23.52 | 36.99  | 0.519 | 34.79  | 25.69 | 0.704 | 25.69  | 41.72  | 0.699 | 27.87  | 27.87 | 0.832 | 42.16  | 23.52  | 0.410 | 27.87  | 22.24 | 0.351 | 25.69  | 32.43  | 0.786 | 82.84  | 27.87  | 49.08   | 81.53  | 0.325 | 36.99  | 19.33  | 0.612 | 27.87  | 36.99  | 21.42  | 0.955 |
|                  | Pem bro + DTX | 11.58  | 77.01  | 0.085 | 15.34 | 61.5   | 0.401 | 15.34  | 41.72 | 0.673 | 13.46  | 41.72  | 0.769 | 39.35  | 36.54 | 0.668 | 44.29  | 34.5   | 0.439 | 41.72  | 22.24 | 0.309 | 85.99  | 39.35  | 0.799 | --     | 8.10   | 69.25   | 181.33 | 0.034 | 41.72  | 11.58  | 0.576 | 8.1    | 36.99  | 78.15  | 0.507 |
|                  | DTX           | 23.52  | 87.8   | 0.082 | 25.69 | 27.87  | 0.849 | 41.72  | 23.52 | 0.118 | 42.16  | 41.72  | 0.854 | 27.87  | 27.87 | 0.873 | 42.16  | 23.52  | 0.372 | 27.87  | --    | --    | 25.69  | 27.87  | 0.800 | 82.84  | 36.99  | 21.42   | 15.34  | 0.728 | 27.87  | 23.6   | 0.772 | 34.79  | 32.43  | 17.33  | 0.060 |
|                  | P             | 0.226  | 0.768  |       | 0.513 | 0.282  |       | 0.341  | 0.380 |       | 0.131  | 0.871  |       | 0.912  | 0.705 |       | 0.643  | 0.999  |       | 0.953  | --    |       | 0.999  | 0.824  |       | --     | 0.092  | 0.364   | 0.184  |       | 0.789  | 0.517  |       | 0.435  | 0.794  | 0.165  |       |
| IL-6             | Total         | 41.66  | 89.77  | 0.605 | 41.66 | 53.08  | 0.642 | 47.37  | 43.57 | 0.542 | 24.21  | 71.42  | 0.440 | 41.66  | 64.3  | 0.585 | 43.57  | 121.17 | 0.144 | 49.28  | 37.81 | 0.576 | 92.9   | 43.57  | 0.668 | 198.61 | 39.73  | 43.57   | 84.57  | 0.155 | 53.08  | 41.66  | 0.553 | 39.73  | 26.16  | 64.3   | 0.591 |
|                  | Pem bro + DTX | 22.26  | 89.77  | 0.110 | 37.81 | 89.77  | 0.341 | 37.81  | 41.66 | 0.621 | 14.43  | 89.77  | 0.142 | 37.81  | 52.98 | 0.887 | 30.00  | 92.73  | 0.121 | 52.98  | 37.81 | 0.801 | 97.81  | 39.73  | 0.412 | --     | 26.16  | 6954.77 | 0.401  | 37.81 | 41.66  | 0.874  | 64.3  | 26.16  | 56.01  | 0.570  |       |
|                  | DTX           | 49.28  | 81.41  | 0.433 | 83.11 | 49.28  | 0.623 | 53.08  | 45.48 | 0.543 | 65.03  | 53.08  | 0.999 | 41.66  | 103.9 | 0.606 | 74.69  | 147.99 | 0.289 | 49.28  | --    | --    | 83.16  | 49.28  | 0.801 | 198.61 | 53.08  | 43.57   | 37.81  | 0.189 | 78.49  | 41.64  | 0.364 | 78.49  | 73.66  | 39.73  | 0.883 |
|                  | P             | 0.089  | 0.516  |       | 0.226 | 0.807  |       | 0.447  | 0.518 |       | 0.044  | 0.999  |       | 0.469  | 0.450 |       | 0.355  | 0.564  |       | 0.388  | --    |       | 0.439  | 0.235  |       | --     | 0.179  | 0.948   | 0.513  |       | 0.274  | 0.943  |       | 0.647  | 0.517  | 0.522  |       |

|          |                     |        |        |           |            |            |           |            |            |           |                   |            |                   |            |            |           |            |             |           |            |            |           |             |        |           |            |                   |        |            |                   |            |            |           |            |              |            |                   |
|----------|---------------------|--------|--------|-----------|------------|------------|-----------|------------|------------|-----------|-------------------|------------|-------------------|------------|------------|-----------|------------|-------------|-----------|------------|------------|-----------|-------------|--------|-----------|------------|-------------------|--------|------------|-------------------|------------|------------|-----------|------------|--------------|------------|-------------------|
| IL-10    | Total               | 7.99   | 16.7   | 0.1<br>11 | 10.5<br>2  | 9.24       | 0.6<br>41 | 8.92       | 11.18      | 0.3<br>36 | 7.69              | 10.2       | 0.3<br>74         | 8.61       | 11.8<br>5  | 0.8<br>67 | 11.22      | 11.85       | 0.5<br>21 | 9.56       | 8.95       | 0.7<br>56 | 22.74       | 9.24   | 0.5<br>27 | 16.79      | 7.68              | 9.88   | 30.62      | 0.3<br>44         | 9.24       | 13.2       | 0.4<br>43 | 10.52      | 7.38         | 9.88       | 0.5<br>60         |
|          | Pem<br>bro +<br>DTX | 7.99   | 16.7   | 0.1<br>10 | 8.61       | 16.7       | 0.3<br>83 | 8.61       | 11.85      | 0.4<br>24 | 6.36              | 10.52      | 0.1<br>86         | 9.56       | 13.2<br>1  | 0.8<br>50 | 9.35       | 14.27       | 0.4<br>39 | 11.18      | 8.95       | 0.5<br>70 | 23.54       | 9.56   | 0.4<br>49 | --         | 7.38              | 15.64  | 36.56      | <b>0.0<br/>36</b> | 10.52      | 11.8<br>5  | 0.8<br>74 | 11.85      | 7.38         | 16.54      | 0.2<br>13         |
|          | DTX                 | 8.61   | 19.78  | 0.5<br>91 | 19.3<br>9  | 8.01       | 0.2<br>40 | 9.24       | 9.24       | 0.6<br>21 | 8.01              | 9.88       | 0.8<br>55         | 7.99       | 9.24       | 0.8<br>12 | 11.22      | 9.24        | 0.8<br>58 | 9.24       | --         | --        | 20.01       | 9.24   | 0.9<br>00 | 16.79      | 9.88              | 6.88   | 28.67      | 0.3<br>91         | 8.61       | 20.9<br>3  | 0.4<br>32 | 9.56       | 9.99         | 8.61       | 0.9<br>43         |
|          | P                   | 0.978  | 0.680  |           | 0.64<br>2  | 0.156      |           | 0.970      | 0.568      |           | 0.31<br>4         | 0.685      |                   | 0.416      | 0.92<br>4  |           | 0.814      | 0.564       |           | 0.501      | --         |           | 0.439       | 0.739  |           | --         | 0.12<br>4         | 0.070  | 0.275      |                   | 0.481      | 0.99<br>9  |           | 0.378      | 0.431        | 0.394      |                   |
| IL-12p70 | Total               | 8.13   | 19.35  | 0.1<br>31 | 8.75       | 11.36      | 0.6<br>41 | 11.36      | 9.06       | 0.8<br>92 | 9.44              | 12.04      | 0.2<br>46         | 9.38       | 12.7<br>3  | 0.5<br>95 | 7.22       | 14.14       | 0.3<br>14 | 11.36      | 7.86       | 0.3<br>35 | 20.87       | 9.06   | 0.1<br>55 | 15.53      | 7.82              | 10.08  | 20.19      | 0.3<br>97         | 9.38       | 11.3<br>6  | 0.9<br>42 | 12.73      | 8.13         | 8.44       | 0.5<br>94         |
|          | Pem<br>bro +<br>DTX | 7.52   | 19.35  | 0.0<br>86 | 8.13       | 19.35      | 0.3<br>40 | 8.13       | 14.14      | 0.5<br>42 | 5.78              | 9.38       | <b>0.0<br/>40</b> | 8.13       | 14.1<br>4  | 0.8<br>50 | 9.68       | 16.74       | 0.2<br>21 | 11.13      | 7.86       | 0.4<br>11 | 19.2        | 8.13   | 0.4<br>87 | --         | 6.92              | 16.74  | 29.02      | <b>0.0<br/>38</b> | 8.13       | 14.1<br>4  | 0.7<br>81 | 14.14      | 6.34         | 18.57      | 0.1<br>57         |
|          | DTX                 | 10.37  | 21.29  | 0.6<br>20 | 10.7<br>1  | 11.36      | 0.8<br>50 | 12.04      | 8.75       | 0.3<br>42 | 11.7              | 12.73      | 0.5<br>21         | 11.36      | 7.52       | 0.4<br>75 | 7.22       | 12.73       | 0.7<br>24 | 11.36      | --         | --        | 118.5       | 10.37  | 0.1<br>15 | 15.53      | 11.3<br>6         | 7.22   | 11.36      | 0.5<br>19         | 11.7       | 10.0<br>5  | 0.7<br>10 | 12.38      | 12.04        | 8.44       | 0.2<br>95         |
|          | P                   | 0.249  | 0.953  |           | 0.43<br>7  | 0.625      |           | 0.286      | 0.568      |           | <b>0.04<br/>6</b> | 0.465      |                   | 0.391      | 0.85<br>0  |           | 0.643      | 0.564       |           | 0.977      | --         |           | 0.439       | 0.887  |           | --         | 0.07<br>3         | 0.080  | 0.827      |                   | 0.61       | 0.88<br>6  |           | 0.944      | 0.092        | 0.388      |                   |
| IL-17A   | Total               | 44.81  | 63.63  | 0.1<br>02 | 63.6<br>3  | 44.81      | 0.9<br>35 | 47.18      | 63.63      | 0.8<br>28 | 47.1<br>8         | 51.91      | 0.9<br>38         | 58.89      | 58.8<br>9  | 0.9<br>15 | 51.91      | 58.89       | 0.8<br>55 | 61.26      | 29.12      | 0.2<br>91 | 68.63       | 58.89  | 0.8<br>39 | 83.73      | 37.9<br>5         | 56.53  | 185.0<br>2 | 0.3<br>36         | 44.81      | 92.2<br>8  | 0.1<br>98 | 58.89      | 44.81        | 61.26      | 0.6<br>37         |
|          | Pem<br>bro +<br>DTX | 22.3   | 63.63  | 0.1<br>83 | 26.6<br>6  | 63.63      | 0.2<br>84 | 58.89      | 58.89      | 0.8<br>49 | 40.5<br>9         | 63.63      | 0.5<br>58         | 61.26      | 42.7<br>7  | 0.7<br>76 | 24.48      | 75.58       | 0.1<br>21 | 61.26      | 29.12      | 0.3<br>12 | 71.02       | 58.89  | 0.7<br>05 | --         | 22.3              | 63.63  | 268.1<br>8 | 0.1<br>13         | 58.89      | 68.3<br>8  | 0.6<br>34 | 58.89      | 22.3         | 80.37      | 0.6<br>33         |
|          | DTX                 | 49.49  | 92.29  | 0.3<br>42 | 82.7<br>4  | 35.64      | 0.1<br>98 | 40.19      | 63.63      | 0.8<br>79 | 47.1<br>8         | 31.1       | 0.7<br>14         | 54.17      | 63.6<br>3  | 0.6<br>34 | 101.7<br>9 | 44.81       | 0.2<br>89 | 58.9       | --         | --        | 64.08       | 58.9   | 0.8<br>50 | 83.73      | 63.6<br>3         | 47.18  | 101.8<br>6 | 0.9<br>26         | 42.5       | 111.<br>41 | 0.1<br>37 | 75.62      | 54.22        | 40.84      | 0.5<br>15         |
|          | P                   | 0.546  | 0.860  |           | 0.30<br>5  | 0.171      |           | 0.999      | 0.909      |           | 0.86<br>7         | 0.807      |                   | 0.742      | 0.34<br>5  |           | 0.064      | 0.564       |           | 0.907      | --         |           | 0.439       | 0.924  |           | --         | 0.06<br>1         | 0.439  | 0.827      |                   | 0.789      | 0.47<br>5  |           | 0.647      | 0.435        | 0.391      |                   |
| IL-18    | Total               | 513.6  | 324.81 | 0.6<br>25 | 327.<br>45 | 332.7<br>3 | 0.9<br>99 | 303.7      | 816.7<br>8 | 0.2<br>29 | 420.<br>52        | 269.3<br>9 | 0.6<br>71         | 324.8      | 832.<br>55 | 0.2<br>43 | 294.4      | 955.3<br>5  | 0.0<br>68 | 411.0      | 167.5<br>9 | 0.1<br>36 | 266.7<br>5  | 411.09 | 0.7<br>52 | 625.3<br>5 | 252.<br>21        | 816.78 | 326.1<br>3 | 0.2<br>42         | 327.4<br>5 | 677.<br>28 | 0.3<br>33 | 513.6      | 258.8<br>3   | 294.4<br>6 | 0.1<br>61         |
|          | Pem<br>bro +<br>DTX | 287.86 | 324.81 | 0.7<br>32 | 324.<br>18 | 279.9<br>5 | 0.5<br>01 | 227.1<br>4 | 832.5<br>5 | 0.0<br>74 | 142.<br>4         | 279.9<br>5 | 0.1<br>43         | 283.9      | 893.<br>95 | 0.5<br>08 | 453.0<br>3 | 1042.<br>17 | 0.1<br>21 | 326.1<br>3 | 167.5<br>9 | 0.1<br>66 | 253.5<br>4  | 326.13 | 0.4<br>50 | --         | 179.<br>52        | 893.95 | 324.8<br>1 | 0.1<br>19         | 256.1<br>9 | 832.<br>55 | 0.0<br>75 | 327.4<br>5 | 73.52        | 294.4<br>6 | <b>0.0<br/>22</b> |
|          | DTX                 | 719.26 | 293.14 | 0.7<br>41 | 501.<br>52 | 739.1<br>5 | 0.5<br>45 | 513.6      | 801.0<br>2 | 0.9<br>09 | 595.<br>44        | 258.8<br>3 | 0.4<br>65         | 513.6      | 801.<br>02 | 0.4<br>52 | 294.4<br>6 | 916.9<br>1  | 0.1<br>57 | 595.4<br>4 | --         | --        | 994.7<br>7  | 595.44 | 0.7<br>05 | 625.3<br>5 | 916.<br>91        | 657.31 | 327.4<br>5 | 0.5<br>99         | 637.4<br>2 | 502.<br>36 | 0.6<br>80 | 637.4<br>2 | 797.0<br>9   | 298.6<br>6 | 0.2<br>69         |
|          | P                   | 0.702  | 0.724  |           | 0.78<br>0  | 0.329      |           | 0.095      | 0.732      |           | <b>0.04<br/>6</b> | 0.808      |                   | 0.511      | 0.99<br>9  |           | 0.643      | 0.564       |           | 0.661      | --         |           | 0.439       | 0.635  |           | --         | 0.33<br>8         | 0.897  | 0.827      |                   | 0.145      | 0.56<br>8  |           | 0.805      | <b>0.020</b> | 0.394      |                   |
| IL-23    | Total               | 183.87 | 581.88 | 0.1<br>71 | 161.<br>19 | 255.4<br>4 | 0.4<br>60 | 197.3<br>1 | 219.1      | 0.8<br>29 | 176.<br>43        | 235.3<br>8 | 0.9<br>38         | 161.1<br>9 | 255.<br>44 | 0.3<br>55 | 333.5<br>4 | 231.0<br>4  | 0.6<br>47 | 243.2<br>4 | 56.12      | 0.1<br>20 | 663.2<br>1  | 219.1  | 0.5<br>88 | 380.7      | 107.<br>66        | 267.89 | 736.0<br>8 | 0.2<br>02         | 231.0<br>4 | 207.<br>17 | 0.3<br>86 | 255.4<br>4 | 117.9        | 231.3      | 0.6<br>53         |
|          | Pem<br>bro +<br>DTX | 97.43  | 581.88 | 0.1<br>09 | 161.<br>19 | 231.0<br>4 | 0.4<br>99 | 97.43      | 231.0<br>4 | 0.3<br>03 | 78.4              | 139.1<br>8 | 0.4<br>62         | 150.1<br>8 | 207.<br>45 | 0.7<br>76 | 543.6<br>3 | 207.4<br>5  | 0.9<br>99 | 207.4<br>5 | 56.12      | 0.1<br>29 | 663.2<br>1  | 172.53 | 0.7<br>05 | --         | 26.3<br>5         | 431.11 | 1265       | <b>0.0<br/>15</b> | 139.1<br>8 | 183.<br>87 | 0.4<br>99 | 183.8<br>7 | 97.43        | 431.1<br>1 | 0.2<br>95         |
|          | DTX                 | 255.44 | 364.67 | 0.9<br>34 | 162.<br>53 | 255.4      | 0.8<br>20 | 331.5<br>9 | 207.1<br>7 | 0.4<br>24 | 333.<br>54        | 331.5<br>9 | 0.7<br>14         | 207.1<br>7 | 255.<br>44 | 0.4<br>04 | 333.5<br>4 | 255.4<br>4  | 0.8<br>58 | 255.4<br>4 | --         | --        | 1105.<br>18 | 255.44 | 0.7<br>52 | 380.7      | 255.<br>4         | 255.4  | 207.1<br>7 | 0.9<br>91         | 255.4<br>4 | 231.<br>3  | 0.5<br>91 | 371.6<br>2 | 186.6<br>7   | 133.2<br>7 | 0.2<br>82         |
|          | P                   | 0.188  | 0.814  |           | 0.51<br>4  | 0.769      |           | 0.424      | 0.790      |           | 0.18<br>0         | 0.745      |                   | 0.930      | 0.44<br>9  |           | 0.643      | 0.564       |           | 0.953      | --         |           | 0.999       | 0.646  |           | --         | <b>0.04<br/>0</b> | 0.245  | 0.825      |                   | 0.771      | 0.56<br>7  |           | 0.417      | 0.302        | 0.109      |                   |
| IL-33    | Total               | 15.9   | 58.6   | 0.4<br>23 | 15.9       | 28.62      | 0.8<br>26 | 20.37      | 15.9       | 0.7<br>44 | 22.6<br>9         | 20.37      | 0.9<br>69         | 15.9       | 28.6<br>2  | 0.9<br>27 | 33.25      | 15.9        | 0.3<br>59 | 22.26      | 8.78       | 0.2<br>12 | 146.9<br>2  | 15.9   | 0.7<br>00 | 49.06      | 14.0<br>1         | 33.25  | 85.71      | 0.7<br>29         | 12.13      | 33.2<br>5  | 0.3<br>92 | 33.25      | 12.13        | 14.01      | 0.5<br>36         |
|          | Pem<br>bro +<br>DTX | 12.13  | 58.6   | 0.7<br>32 | 28.6<br>2  | 28.62      | 0.7<br>20 | 28.62      | 28.62      | 0.7<br>60 | 5.52              | 33.25      | 0.1<br>42         | 30.93      | 17.0<br>7  | 0.2<br>97 | 32.06      | 17.03       | 0.4<br>39 | 30.93      | 8.78       | 0.1<br>84 | 146.8<br>8  | 28.62  | 0.8<br>99 | --         | 12.1<br>3         | 45.92  | 155.5<br>3 | 0.4<br>10         | 12.13      | 33.2<br>5  | 0.5<br>78 | 33.25      | 12.13        | 70.88      | 0.6<br>95         |
|          | DTX                 | 15.9   | 72.34  | 0.5<br>60 | 14.0<br>1  | 24.57      | 0.9<br>39 | 12.13      | 15.9       | 0.8<br>78 | 40.6<br>6         | 5.52       | 0.2<br>30         | 12.13      | 33.2<br>5  | 0.2<br>80 | 33.25      | 15.9        | 0.7<br>21 | 15.9       | --         | --        | 188.1<br>6  | 15.9   | 0.5<br>25 | 49.06      | 15.9              | 22.69  | 15.9       | 0.9<br>91         | 14.01      | 24.5<br>7  | 0.5<br>32 | 33.25      | 14.01        | 10.67      | 0.3<br>60         |
|          | P                   | 0.868  | 0.906  |           | 0.61<br>8  | 0.805      |           | 0.619      | 0.674      |           | 0.18<br>0         | 0.16<br>4  |                   | 0.201      | 0.39<br>3  |           | 0.63<br>9  | 0.76<br>7   |           | 0.34<br>0  | --         |           | 0.439       | 0.455  |           | --         | 0.69<br>9         | 0.393  | 0.513      |                   | 0.642      | 0.72<br>0  |           | 0.999      | 0.697        | 0.279      |                   |

Pembro: Pembrolizumab, DTX: Docetaxel, 1T: Primera toma de muestra sanguínea, ECOG: Escala de calidad de vida de acuerdo al *Eastern Cooperative Oncology Group*, NE: sin determinación histológica, EGFR: Receptor del Factor de Crecimiento Epidérmico, PD-L1: Ligando 1 de Muerte Celular Programada. En las celdas se muestran las medianas de concentración de cada citocina asociada a cada variable clínico-patológica. Celdas verdes horizontales: asociación entre variables para un grupo. Celdas verdes verticales: asociación de una variable entre grupos. P ≤ 0.05.

Tabla 11. Análisis bivariado de las características clínicas de los pacientes de los grupos con las concentraciones de citocinas de la 2T

| Variable        |              | Género   |           | P     | Grupos por edad (años) |        |         | Historial de tabaquismo |        |       | Índice tabáquico |        |          | Exposición a humo de leña |        |       | Índice de humo de leña |        |       | ECOG al momento del Dx |        |       | Histología     |        |          |                  |                       |        |        | P        |          |        | Mutaciones de EGFR |          |          | Estado de PD-L1 |       |        | P      |        |       |
|-----------------|--------------|----------|-----------|-------|------------------------|--------|---------|-------------------------|--------|-------|------------------|--------|----------|---------------------------|--------|-------|------------------------|--------|-------|------------------------|--------|-------|----------------|--------|----------|------------------|-----------------------|--------|--------|----------|----------|--------|--------------------|----------|----------|-----------------|-------|--------|--------|--------|-------|
|                 |              | Femenino | Masculino |       | ≤ 60                   | ≥ 60   | Fumador | No fumador              | P      | ≤ 20  | ≥ 21             | P      | Negativo | Positivo                  | P      | ≤ 20  | ≥ 21                   | P      | ≤ 1   | ≥ 2                    | P      | Otros | Adenocarcinoma | P      | Lipídico | Acinar / Papilar | Micropapilar / Sólido | NE     | P      | Negativo | Positivo | P      | No probado         | Negativo | Positivo | P               |       |        |        |        |       |
|                 |              |          |           |       |                        |        |         |                         |        |       |                  |        |          |                           |        |       |                        |        |       |                        |        |       |                |        |          |                  |                       |        |        |          |          |        |                    |          |          |                 |       |        |        |        |       |
| IL-8 (CXCL8)    | Total        | 56.04    | 66.25     | 0.625 | 66.25                  | 51.03  | 0.956   | 88.55                   | 43.67  | 0.104 | 103.32           | 62.43  | 0.616    | 68.83                     | 27.34  | 0.041 | 47.72                  | 27.34  | 0.855 | 57.3                   | 122.61 | 0.495 | 33.90          | 62.41  | 0.528    | 69.58            | 62.41                 | 34.16  | 136.03 | 0.226    | 56.04    | 58.57  | 0.378              | 56.04    | 97.92    | 28.56           | 0.212 | 56.04  | 97.92  | 28.56  | 0.212 |
|                 | Pembro + DTX | 58.57    | 51.03     | 0.970 | 58.57                  | 51.03  | 0.843   | 68.83                   | 48.56  | 0.425 | 172.05           | 56.04  | 0.143    | 63.7                      | 37.95  | 0.508 | 112.05                 | 37.95  | 0.999 | 57.3                   | 57.3   | 0.614 | 33.90          | 63.70  | 0.257    | --               | 68.83                 | 28.56  | 138.78 | 0.113    | 68.83    | 27.34  | 0.219              | 56.04    | 194.19   | 28.56           | 0.259 | 56.04  | 194.19 | 28.56  | 0.259 |
|                 | DTX          | 49.81    | 71.45     | 0.592 | 71.45                  | 49.81  | 0.970   | 97.92                   | 41.25  | 0.094 | 93.9             | 97.92  | 0.410    | 89.89                     | 20.86  | 0.043 | 39.45                  | 20.86  | 0.999 | 59.89                  | --     | --    | 190.55         | 59.89  | 0.801    | 69.58            | 53.53                 | 62.02  | 133.29 | 0.832    | 49.81    | 71.45  | 0.934              | 59.89    | 87.28    | 31.05           | 0.525 | 59.89  | 87.28  | 31.05  | 0.525 |
|                 | P            | 0.529    | 0.860     |       | 0.926                  | 0.626  |         | 0.879                   | 0.494  |       | 0.046            | 0.329  |          | 0.742                     | 0.344  |       | 0.926                  | 0.248  |       | 0.781                  | --     |       | 0.999          | 0.457  |          | --               | 0.18                  | 0.796  | 0.513  |          | 0.32     | 0.774  |                    | 0.778    | 0.121    | 0.099           |       | 0.778  | 0.121  | 0.099  |       |
| IP-10 (CXCL10)  | Total        | 80.2     | 659.9     | 0.434 | 741.1                  | 659.9  | 0.957   | 820.81                  | 709.51 | 0.525 | 856.13           | 750.39 | 0.817    | 735.86                    | 741.1  | 0.289 | 553.08                 | 801.2  | 0.361 | 709.51                 | 709.51 | 0.072 | 787.5          | 738.48 | 0.787    | 693.6            | 821.04                | 700.5  | 696.38 | 0.996    | 908.81   | 652.4  | 0.019              | 741.1    | 656.9    | 793.63          | 0.806 | 741.1  | 656.9  | 793.63 | 0.806 |
|                 | Pembro + DTX | 908.81   | 741.1     | 0.732 | 840.89                 | 881.56 | 0.905   | 908.81                  | 741.1  | 0.342 | 1154.18          | 881.56 | 0.380    | 895.18                    | 771.15 | 0.508 | 1061.05                | 569.94 | 0.439 | 821.04                 | 821.04 | 0.131 | 1669.36        | 861.22 | 0.999    | --               | 881.56                | 700.5  | 927.37 | 0.608    | 927.37   | 735.86 | 0.104              | 801.2    | 995.98   | 793.63          | 0.667 | 801.2  | 995.98 | 793.63 | 0.667 |
|                 | DTX          | 596.9    | 417.62    | 0.161 | 512.18                 | 622.47 | 0.496   | 588.05                  | 475.68 | 0.425 | 728.81           | 492.52 | 0.465    | 536.9                     | 464.01 | 0.405 | 321.9                  | 986.96 | 0.077 | 534.37                 | --     | --    | 787.5          | 512.18 | 0.313    | 693.6            | 464.01                | 668.81 | 531.84 | 0.664    | 694.39   | 321.9  | 0.013              | 562.47   | 481.35   | 743.61          | 0.636 | 562.47 | 481.35 | 743.61 | 0.636 |
|                 | P            | 0.112    | 0.099     |       | 0.058                  | 0.38   |         | 0.074                   | 0.184  |       | 0.096            | 0.167  |          | 0.054                     | 0.450  |       | 0.058                  | 0.248  |       | 0.087                  | --     |       | 0.999          | 0.028  |          | --               | 0.08                  | 0.699  | 0.050  |          | 0.174    | 0.038  |                    | 0.218    | 0.071    | 0.67            |       | 0.218  | 0.071  | 0.67   |       |
| Eotaxin (CCL11) | Total        | 178.72   | 193.4     | 0.727 | 191.5                  | 185.7  | 0.662   | 194.34                  | 168.59 | 0.425 | 217              | 175.37 | 0.563    | 193.4                     | 185.7  | 0.617 | 244.44                 | 88.8   | 0.144 | 188.6                  | 188.6  | 0.804 | 163.31         | 188.6  | 0.513    | 286.89           | 174.42                | 178.6  | 202.34 | 0.696    | 193.4    | 178.72 | 0.686              | 191.5    | 157.34   | 190.69          | 0.958 | 191.5  | 157.34 | 190.69 | 0.958 |
|                 | Pembro + DTX | 191.5    | 193.4     | 0.621 | 191.5                  | 193.4  | 0.721   | 208.04                  | 185.7  | 0.569 | 217              | 193.4  | 0.770    | 175.37                    | 199.77 | 0.571 | 244.44                 | 188.6  | 0.121 | 199.77                 | 199.77 | 0.705 | 163.31         | 199.77 | 0.529    | --               | 191.5                 | 220.59 | 225.96 | 0.703    | 193.4    | 191.5  | 0.843              | 193.4    | 157.34   | 179.59          | 0.761 | 193.4  | 157.34 | 179.59 | 0.761 |
|                 | DTX          | 175.11   | 135.25    | 0.773 | 186.53                 | 136.98 | 0.384   | 194.34                  | 158.47 | 0.569 | 216.96           | 140.81 | 0.522    | 194.34                    | 88.8   | 0.250 | 231.38                 | 79.89  | 0.289 | 175.11                 | --     | --    | 141.57         | 175.11 | 0.753    | 286.89           | 140.81                | 164.98 | 178.72 | 0.682    | 182.92   | 168.59 | 0.741              | 164.98   | 190.19   | 190.69          | 0.818 | 164.98 | 190.19 | 190.69 | 0.818 |
|                 | P            | 0.956    | 0.637     |       | 0.926                  | 0.205  |         | 0.621                   | 0.569  |       | 0.999            | 0.57   |          | 0.878                     | 0.257  |       | 0.926                  | 0.083  |       | 0.492                  | --     |       | 0.999          | 0.537  |          | --               | 0.482                 | 1      | 0.513  |          | 0.593    | 0.668  |                    | 0.398    | 1        | 0.831           |       | 0.398  | 1      | 0.831  |       |
| TARC (CCL17)    | Total        | 162.4    | 230.24    | 0.459 | 172.51                 | 220.94 | 0.743   | 167.45                  | 219.96 | 0.766 | 152.04           | 230.18 | 0.216    | 257.44                    | 109.26 | 0.014 | 44.11                  | 131.06 | 0.312 | 201.71                 | 201.71 | 0.277 | 221.19         | 177.49 | 0.982    | 237.52           | 172.44                | 157.09 | 324.08 | 0.805    | 172.51   | 182.48 | 0.817              | 131.06   | 230.24   | 300.7           | 0.043 | 131.06 | 230.24 | 300.7  | 0.043 |
|                 | Pembro + DTX | 131.06   | 230.24    | 0.676 | 131.06                 | 230.24 | 0.552   | 141.68                  | 131.06 | 0.939 | 185.96           | 141.68 | 0.883    | 190.55                    | 131.06 | 0.256 | 121                    | 131.06 | 0.999 | 185.96                 | 185.96 | 0.377 | 221.19         | 136.37 | 0.570    | --               | 109.26                | 194.25 | 698.25 | 0.129    | 141.68   | 131.06 | 0.999              | 131.06   | 230.24   | 279.07          | 0.351 | 131.06 | 230.24 | 279.07 | 0.351 |
|                 | DTX          | 196.72   | 368.58    | 0.458 | 228.75                 | 191.67 | 0.999   | 172.51                  | 275.03 | 0.676 | 124.5            | 309.07 | 0.068    | 300.7                     | 62.99  | 0.029 | 44.11                  | 109.26 | 0.372 | 201.71                 | --     | --    | 289.95         | 201.71 | 0.850    | 237.52           | 220.94                | 157.09 | 275.03 | 0.964    | 196.72   | 228.75 | 0.710              | 114.14   | 245.77   | 344.56          | 0.074 | 114.14 | 245.77 | 344.56 | 0.074 |
|                 | P            | 0.681    | 0.409     |       | 0.42                   | 1      |         | 0.621                   | 0.621  |       | 0.505            | 0.104  |          | 0.167                     | 0.634  |       | 0.420                  | 0.554  |       | 0.661                  | --     |       | 0.999          | 0.411  |          | --               | 0.055                 | 0.651  | 0.275  |          | 0.437    | 0.999  |                    | 0.944    | 0.439    | 0.24            |       | 0.944  | 0.439  | 0.24   |       |
| MCP-1 (CCL2)    | Total        | 498.32   | 429.08    | 0.158 | 564.59                 | 445.32 | 0.125   | 511.78                  | 367.09 | 0.250 | 531.45           | 495.52 | 0.939    | 608.68                    | 281.78 | 0.001 | 369.08                 | 236.94 | 0.201 | 462.07                 | 462.07 | 0.951 | 445.23         | 462.07 | 0.999    | 797.32           | 461.28                | 381.57 | 694.53 | 0.180    | 525.24   | 318.25 | 0.204              | 456.76   | 420.33   | 650.71          | 0.669 | 456.76 | 420.33 | 650.71 | 0.669 |
|                 | Pembro + DTX | 694.49   | 429.08    | 0.184 | 456.76                 | 458.34 | 0.405   | 608.68                  | 415.94 | 0.305 | 703.45           | 608.68 | 0.999    | 614.35                    | 318.04 | 0.047 | 369.08                 | 223.71 | 0.439 | 457.55                 | 457.55 | 0.801 | 433.98         | 457.55 | 0.450    | --               | 456.76                | 388.08 | 954.64 | 0.331    | 608.68   | 318.25 | 0.219              | 456.76   | 420.33   | 539.18          | 0.966 | 456.76 | 420.33 | 539.18 | 0.966 |
|                 | DTX          | 482.06   | 383.92    | 0.509 | 608                    | 363.55 | 0.290   | 498.32                  | 281.78 | 0.518 | 531.45           | 465.81 | 0.715    | 564.59                    | 256.99 | 0.016 | 351.15                 | 236.94 | 0.480 | 482.06                 | --     | --    | 641.89         | 482.06 | 0.450    | 797.32           | 465.81                | 351.15 | 498.32 | 0.266    | 495.52   | 377.65 | 0.458              | 455.56   | 455.13   | 723.81          | 0.640 | 455.56 | 455.13 | 723.81 | 0.640 |
|                 | P            | 0.286    | 0.906     |       | 0.71                   | 0.696  |         | 0.518                   | 0.518  |       | 0.739            | 0.465  |          | 0.983                     | 0.705  |       | 0.710                  | 0.999  |       | 0.589                  | --     |       | 0.439          | 0.517  |          | --               | 0.609                 | 0.606  | 0.275  |          | 0.56     | 0.668  |                    | 0.526    | 0.796    | 0.67            |       | 0.526  | 0.796  | 0.67   |       |

|                   |               |         |         |       |        |        |       |        |        |       |        |        |       |          |          |       |         |         |       |         |         |       |        |         |       |         |        |         |         |       |         |        |       |        |        |         |       |
|-------------------|---------------|---------|---------|-------|--------|--------|-------|--------|--------|-------|--------|--------|-------|----------|----------|-------|---------|---------|-------|---------|---------|-------|--------|---------|-------|---------|--------|---------|---------|-------|---------|--------|-------|--------|--------|---------|-------|
| RANTES<br>(CCL5)  | Total         | 23317   | 17626   | 0.872 | 8725   | 25522  | 0.177 | 25522  | 8029   | 0.169 | 24915  | 25522  | 0.296 | 24308.00 | 7333.00  | 0.427 | 10151   | 7333    | 0.455 | 23812.5 | 23812.5 | 0.152 | 4592.5 | 23812.5 | 0.382 | 15008.5 | 25522  | 8029    | 13488.5 | 0.072 | 25522   | 6315   | 0.042 | 6315   | 25522  | 16021   | 0.121 |
|                   | Pem bro + DTX | 8725    | 25522   | 0.935 | 6315   | 25522  | 0.176 | 25522  | 3698   | 0.035 | 25522  | 25522  | 0.423 | 17123.50 | 15918.50 | 0.999 | 13655   | 15918.5 | 0.683 | 25522   | 25522   | 0.282 | 3074   | 25522   | 0.226 | --      | 25522  | 17123.5 | 2669    | 0.362 | 25522   | 2488   | 0.005 | 6315   | 25522  | 17123.5 | 0.595 |
|                   | DTX           | 23812.5 | 15682.5 | 0.551 | 18528  | 21411  | 0.585 | 24308  | 18514  | 0.937 | 12749  | 25522  | 0.251 | 24308.00 | 7333.00  | 0.235 | 9635.92 | 7333    | 0.593 | 20915.5 | --      | --    | 15555  | 20915   | 0.845 | 15008.5 | 25522  | 5917    | 24308   | 0.070 | 20471.5 | 21411  | 0.932 | 9663.5 | 25522  | 15325   | 0.116 |
|                   | P             | 0.689   | 0.804   |       | 0.678  | 0.459  |       | 0.170  | 0.090  |       | 0.155  | 0.999  |       | 0.485    | 0.562    |       | 0.678   | 0.767   |       | 0.793   | --      |       | 0.121  | 0.751   |       | --      | 0.749  | 0.296   | 0.999   | 0.286 | 0.131   |        | 0.717 | 0.759  | 0.912  |         |       |
| MIP-1α<br>(CCL3)  | Total         | 32.45   | 26.79   | 0.489 | 26.79  | 26.79  | 0.719 | 23.74  | 29.62  | 0.428 | 40.28  | 9.9    | 0.368 | 26.79    | 32.45    | 0.795 | 32.45   | 26.79   | 0.581 | 26.79   | 26.79   | 0.117 | 16.33  | 26.79   | 0.509 | 64.12   | 29.62  | 23.74   | 32.27   | 0.482 | 37.76   | 5.87   | 0.119 | 26.79  | 42.8   | 21.81   | 0.356 |
|                   | Pem bro + DTX | 5.87    | 26.79   | 0.442 | 13.93  | 52.23  | 0.521 | 13.93  | 26.79  | 0.848 | 53.46  | 5.87   | 0.238 | 9.90     | 45.96    | 0.473 | 47.98   | 35.5    | 0.439 | 9.9     | 9.9     | 0.202 | 29.05  | 20.36   | 0.999 | --      | 13.93  | 5.87    | 37.76   | 0.256 | 37.76   | 5.87   | 0.316 | 26.79  | 94.71  | 5.87    | 0.026 |
|                   | DTX           | 42.8    | 12.88   | 0.036 | 40.03  | 26.79  | 0.179 | 26.79  | 32.45  | 0.396 | 34.79  | 20.69  | 0.640 | 26.79    | 32.45    | 0.747 | 31.45   | 26.79   | 0.589 | 29.62   | --      | --    | 15.93  | 32.45   | 0.277 | 64.12   | 32.45  | 29.62   | 5.08    | 0.423 | 34.796  | 18.7   | 0.335 | 23.74  | 29.62  | 62.92   | 0.051 |
|                   | P             | 0.49    | 0.107   |       | 0.454  | 0.166  |       | 0.787  | 0.848  |       | 0.314  | 0.934  |       | 0.929    | 0.392    |       | 0.454   | 0.564   |       | 0.802   | --      |       | 0.439  | 0.987   |       | --      | 0.748  | 0.432   | 0.268   | 0.733 | 0.999   |        | 0.391 | 0.038  | 0.009  |         |       |
| MIG<br>(CXCL9)    | Total         | 68.23   | 13.48   | 0.423 | 38.11  | 41.96  | 0.518 | 50.42  | 24.86  | 0.301 | 27.02  | 64.76  | 0.247 | 40.01    | 8.22     | 0.542 | 4.74    | 113.92  | 0.400 | 38.11   | 38.11   | 0.061 | 160.34 | 37.18   | 0.077 | 8.59    | 55.33  | 26.39   | 7.37    | 0.508 | 70.65   | 1.26   | 0.004 | 40.01  | 8.22   | 70.67   | 0.626 |
|                   | Pem bro + DTX | 73.11   | 14.68   | 0.569 | 68.23  | 116.89 | 0.721 | 73.11  | 38.11  | 0.362 | 185.59 | 73.11  | 0.770 | 70.67    | 61.07    | 0.508 | 155.59  | 57.74   | 0.439 | 54.12   | 54.12   | 0.166 | 449.56 | 54.12   | 0.208 | --      | 73.11  | 26.39   | 68.23   | 0.698 | 73.11   | 36.25  | 0.191 | 40.01  | 249.65 | 70.67   | 0.790 |
|                   | DTX           | 27.02   | 4.74    | 0.250 | 6.24   | 40.03  | 0.329 | 38.11  | 1.26   | 0.289 | 13.58  | 58.88  | 0.143 | 15.93    | 1.26     | 0.967 | 1.26    | 203.8   | 0.172 | 13.58   | --      | --    | 122.88 | 9.72    | 0.193 | 8.59    | 38.11  | 35.05   | 1.26    | 0.219 | 50.42   | 1.26   | 0.002 | 28.94  | 4.74   | 37.18   | 0.72  |
|                   | P             | 0.151   | 0.086   |       | 0.036  | 0.282  |       | 0.102  | 0.074  |       | 0.094  | 0.685  |       | 0.041    | 0.439    |       | 0.036   | 0.564   |       | 0.082   | --      |       | 0.439  | 0.035   |       | --      | 0.158  | 0.897   | 0.037   | 0.174 | 0.005   |        | 0.377 | 0.115  | 0.453  |         |       |
| ENA-78<br>(CXCL5) | Total         | 343.84  | 241.21  | 0.386 | 392.54 | 241.21 | 0.176 | 249.02 | 345.89 | 0.409 | 219.14 | 287.77 | 0.396 | 343.84   | 194.8    | 0.122 | 135.54  | 315.66  | 0.144 | 325.23  | 325.23  | 0.054 | 273.19 | 325.23  | 0.752 | 596.18  | 402.88 | 192.92  | 403.74  | 0.476 | 256.83  | 487.69 | 0.209 | 315.66 | 256.83 | 325.23  | 0.682 |
|                   | Pem bro + DTX | 392.54  | 256.83  | 0.621 | 392.54 | 256.83 | 0.501 | 256.83 | 392.54 | 0.732 | 217.85 | 334.34 | 0.380 | 363.44   | 181.62   | 0.450 | 171.94  | 596.21  | 0.439 | 363.44  | 363.44  | 0.078 | 361.92 | 325.23  | 0.900 | --      | 256.83 | 325.23  | 1024    | 0.494 | 256.83  | 1024   | 0.143 | 392.54 | 241.21 | 407.48  | 0.355 |
|                   | DTX           | 329.75  | 210.88  | 0.409 | 387.1  | 212.76 | 0.174 | 230.72 | 315.66 | 0.382 | 262.64 | 230.72 | 0.715 | 343.84   | 194.80   | 0.191 | 119.57  | 315.66  | 0.289 | 304.37  | --      | --    | 273.19 | 318.46  | 0.900 | 596.18  | 430.11 | 187.54  | 293.08  | 0.371 | 273.19  | 361.72 | 0.805 | 273.19 | 410.9  | 251.06  | 0.632 |
|                   | P             | 0.784   | 0.637   |       | 0.975  | 0.626  |       | 0.676  | 0.732  |       | 0.739  | 0.465  |       | 0.999    | 0.85     |       | 0.975   | 0.999   |       | 0.438   | --      |       | 0.999  | 0.837   |       | --      | 0.949  | 0.699   | 0.275   | 0.662 | 0.224   |        | 0.597 | 0.197  | 0.394  |         |       |
| MIP-3α<br>(CCL20) | Total         | 1.70    | 1.70    | 0.744 | 1.70   | 1.70   | 0.465 | 1.70   | 1.70   | 0.741 | 1.70   | 2.75   | 0.542 | 1.70     | 1.70     | 0.853 | 1.70    | 1.70    | 0.833 | 1.7     | 1.7     | 0.863 | 1.7    | 1.7     | 0.467 | 1.7     | 3.8    | 1.7     | 1.7     | 0.513 | 1.7     | 1.7    | 0.241 | 1.7    | 1.7    | 3.81    | 0.838 |
|                   | Pem bro + DTX | 3.80    | 1.70    | 0.449 | 3.80   | 5.93   | 0.901 | 5.93   | 1.70   | 0.661 | 304.56 | 3.80   | 0.036 | 3.80     | 10.02    | 0.882 | 10.02   | 20.56   | 0.683 | 3.8     | 3.8     | 0.791 | 5.91   | 3.8     | 0.791 | --      | 3.8    | 3.81    | 92.93   | 0.364 | 5.93    | 1.7    | 0.114 | 3.8    | 1.7    | 3.81    | 0.786 |
|                   | DTX           | 1.70    | 1.70    | 0.919 | 1.70   | 1.70   | 0.351 | 1.70   | 1.70   | 0.303 | 1.70   | 1.70   | 0.104 | 1.70     | 1.70     | 0.922 | 1.70    | 1.70    | 0.999 | 1.7     | --      | --    | 1.7    | 1.7     | 0.351 | 1.7     | 5.93   | 1.7     | 1.7     | 0.080 | 1.7     | 1.7    | 0.919 | 1.7    | 1.7    | 3.81    | 0.466 |
|                   | P             | 0.097   | 0.506   |       | 0.441  | 0.097  |       | 0.059  | 0.56   |       | 0.009  | 0.999  |       | 0.156    | 0.274    |       | 0.441   | 0.519   |       | 0.09    | --      |       | 0.317  | 0.144   |       | --      | 0.358  | 0.176   | 0.121   | 0.044 | 0.93    |        | 0.035 | 0.999  | 0.732  |         |       |
| GROα<br>(CXCL1)   | Total         | 63.65   | 57.94   | 0.944 | 63.65  | 35.68  | 0.148 | 66.52  | 55.11  | 0.924 | 75.19  | 49.66  | 0.938 | 69.40    | 30.33    | 0.057 | 25.42   | 41.13   | 0.511 | 57.94   | 57.94   | 0.803 | 50.75  | 57.94   | 0.427 | 83.96   | 38.4   | 41.3    | 89.74   | 0.188 | 57.94   | 57.94  | 0.571 | 35.68  | 86.82  | 75.19   | 0.324 |
|                   | Pem bro + DTX | 63.65   | 57.94   | 0.760 | 63.65  | 57.94  | 0.361 | 63.65  | 57.94  | 0.303 | 101.47 | 30.33  | 0.039 | 75.23    | 57.94    | 0.999 | 84.11   | 49.53   | 0.221 | 60.79   | 60.79   | 0.527 | 53.66  | 60.79   | 0.376 | --      | 86.82  | 41.3    | 169.1   | 0.033 | 57.94   | 122.05 | 0.141 | 57.94  | 92.66  | 69.55   | 0.453 |
|                   | DTX           | 52.54   | 33.00   | 0.967 | 52.54  | 33.00  | 0.336 | 69.4   | 30.33  | 0.334 | 44.95  | 80.99  | 0.230 | 69.40    | 20.51    | 0.022 | 20.51   | 30.33   | 0.237 | 35.68   | --      | --    | 50.75  | 35.68   | 0.749 | 83.96   | 30.33  | 55.66   | 69.4    | 0.544 | 52.54   | 33     | 0.529 | 33     | 49.86  | 75.19   | 0.600 |
|                   | P             | 0.247   | 0.309   |       | 0.351  | 0.274  |       | 0.818  | 0.056  |       | 0.088  | 0.217  |       | 0.676    | 0.033    |       | 0.351   | 0.564   |       | 0.103   | --      |       | 0.683  | 0.119   |       | --      | 0.084  | 0.948   | 0.05    |       | 0.591   | 0.084  |       | 0.269  | 0.152  | 0.592   |       |
| I-TAC<br>(CXCL11) | Total         | 46.7    | 58.95   | 0.706 | 42.08  | 53.26  | 0.143 | 51.38  | 45.77  | 0.735 | 47.16  | 66.65  | 0.231 | 48.56    | 42.08    | 0.250 | 24.81   | 46.7    | 0.201 | 48.56   | 48.56   | 0.352 | 52.82  | 47.63   | 0.822 | 45.3    | 51.38  | 37.73   | 41.68   | 0.847 | 46.7    | 48.56  | 0.634 | 46.7   | 48.56  | 46.7    | 0.711 |

|               |              |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |        |        |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |        |       |       |        |       |       |       |       |       |
|---------------|--------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|--------|--------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|--------|-------|-------|--------|-------|-------|-------|-------|-------|
|               | Pembro + DTX | 48.56 | 74.35 | 0.999 | 48.56 | 74.35 | 0.812 | 74.35 | 48.56 | 0.849 | 42.62 | 74.35 | 0.378 | 71.44 | 38.67 | 0.508 | 28.99  | 123.49 | 0.439 | 71.44 | 71.44 | 0.208 | 92.17 | 59.49 | 0.900 | --    | 68.54 | 37.73 | 149.64 | 0.291 | 50.44 | 68.54  | 0.781 | 68.54 | 50.44 | 61.45 | 0.988 |
|               | DTX          | 45.3  | 50.51 | 0.869 | 33.03 | 52.79 | 0.023 | 48.56 | 42.08 | 0.621 | 47.16 | 52.32 | 0.584 | 45.77 | 42.08 | 0.501 | 22.77  | 46.7   | 0.289 | 45.3  | --    | --    | 52.82 | 43.46 | 0.378 | 45.3  | 42.08 | 33.95 | 32.14  | 0.784 | 46.23 | 37.11  | 0.248 | 46.23 | 45.32 | 38.49 | 0.683 |
|               | P            | 0.261 | 0.724 |       | 0.088 | 0.922 |       | 0.342 | 0.403 |       | 0.999 | 0.415 |       | 0.282 | 0.705 |       | 0.088  | 0.999  |       | 0.16  | --    |       | 0.999 | 0.217 |       | --    | 0.306 | 0.897 | 0.127  |       | 0.544 | 0.224  |       | 0.245 | 0.606 | 0.522 |       |
| MIP-1β (CCL4) | Total        | 24.03 | 17.37 | 0.978 | 25.62 | 19.09 | 0.891 | 21.56 | 18.23 | 0.892 | 20.7  | 22.35 | 0.969 | 24.03 | 17.37 | 0.844 | 17.37  | 19.09  | 0.783 | 19.09 | 19.09 | 0.780 | 16.44 | 21.56 | 0.498 | 20.31 | 25.62 | 16.48 | 27.11  | 0.727 | 25.62 | 17.37  | 0.452 | 17.37 | 25.62 | 16.44 | 0.635 |
|               | Pembro + DTX | 25.62 | 15.6  | 0.760 | 25.62 | 30.2  | 0.474 | 25.62 | 25.62 | 0.703 | 41.49 | 13.79 | 0.184 | 25.62 | 34.19 | 0.635 | 34.19  | 32.75  | 0.999 | 27.16 | 27.16 | 0.658 | 10.89 | 27.16 | 0.206 | --    | 25.62 | 25.08 | 30.2   | 0.644 | 30.2  | 13.79  | 0.189 | 15.6  | 30.2  | 21.99 | 0.660 |
|               | DTX          | 18.23 | 18.23 | 0.803 | 21.49 | 18.23 | 0.648 | 19.09 | 17.37 | 0.674 | 17.37 | 27.17 | 0.233 | 19.09 | 17.37 | 0.633 | 17.37  | 19.09  | 0.476 | 18.23 | --    | --    | 23.89 | 17.37 | 0.375 | 20.31 | 17.37 | 14.65 | 24.03  | 0.542 | 18.23 | 20.7   | 0.507 | 18.23 | 20.7  | 15.51 | 0.820 |
| P             |              | 0.848 | 0.859 |       | 0.852 | 0.326 |       | 0.849 | 0.543 |       | 0.044 | 0.328 |       | 0.861 | 0.635 |       | 0.852  | 0.999  |       | 0.558 | --    |       | 0.121 | 0.342 |       | --    | 0.797 | 0.364 | 0.827  |       | 0.166 | 0.15   |       | 0.777 | 0.154 | 0.67  |       |
| IL-1β         | Total        | 10.22 | 4.74  | 0.386 | 7.54  | 10.22 | 0.966 | 12.77 | 6.14  | 0.218 | 12.77 | 17.49 | 0.693 | 10.22 | 4.74  | 0.316 | 6.14   | 2.39   | 0.502 | 10.22 | 10.22 | 0.123 | 22.46 | 7.54  | 0.273 | 6.3   | 2.39  | 8.88  | 21.32  | 0.152 | 10.22 | 7.54   | 0.905 | 10.22 | 2.39  | 10.17 | 0.326 |
|               | Pembro + DTX | 10.22 | 2.39  | 0.319 | 7.54  | 2.39  | 0.589 | 2.39  | 7.54  | 0.750 | 11.27 | 2.39  | 0.747 | 8.88  | 3.56  | 0.346 | 3.56   | 6.3    | 0.683 | 8.88  | 8.88  | 0.146 | 14.69 | 6.14  | 0.791 | --    | 2.39  | 8.88  | 20.16  | 0.264 | 10.22 | 4.74   | 0.618 | 4.74  | 2.39  | 20.16 | 0.117 |
|               | DTX          | 11.51 | 8.88  | 0.933 | 8.88  | 15.19 | 0.588 | 15.32 | 2.39  | 0.052 | 12.77 | 24.77 | 0.359 | 10.22 | 7.54  | 0.627 | 13.85  | 2.39   | 0.354 | 10.22 | --    | --    | 22.46 | 8.88  | 0.176 | 6.3   | 2.39  | 8.88  | 22.49  | 0.346 | 8.88  | 16.48  | 0.399 | 17.74 | 6.3   | 2.39  | 0.133 |
| P             |              | 0.779 | 0.418 |       | 0.848 | 0.478 |       | 0.243 | 0.472 |       | 0.615 | 0.203 |       | 0.874 | 0.427 |       | 0.848  | 0.999  |       | 0.952 | --    |       | 0.999 | 0.844 |       | --    | 0.503 | 0.647 | 0.827  |       | 0.799 | 0.192  |       | 0.225 | 0.167 | 0.061 |       |
| IFN-α         | Total        | 9.19  | 1.81  | 0.070 | 4.21  | 5.44  | 0.978 | 4.21  | 4.82  | 0.771 | 1.21  | 11.07 | 0.232 | 10.45 | 1.21  | 0.024 | 1.21   | 1.21   | 0.562 | 5.44  | 5.44  | 0.568 | 25.23 | 3.6   | 0.213 | 1.21  | 4.21  | 2.4   | 21.62  | 0.186 | 2.99  | 10.45  | 0.637 | 9.19  | 1.21  | 3.6   | 0.431 |
|               | Pembro + DTX | 9.19  | 2.99  | 0.117 | 9.19  | 2.99  | 0.188 | 5.44  | 5.44  | 0.848 | 19.68 | 5.44  | 0.883 | 12.94 | 1.21  | 0.023 | 1.21   | 3.32   | 0.317 | 7.31  | 7.31  | 0.254 | 11.71 | 5.44  | 0.949 | --    | 1.81  | 4.82  | 38.16  | 0.247 | 5.44  | 9.19   | 0.936 | 9.19  | 1.21  | 10.45 | 0.088 |
|               | DTX          | 9.84  | 1.21  | 0.217 | 1.21  | 25.23 | 0.196 | 1.21  | 2.99  | 0.968 | 1.21  | 28.85 | 0.232 | 10.45 | 1.21  | 0.446 | 1.21   | 1.21   | 0.999 | 2.1   | --    | --    | 46.01 | 1.21  | 0.106 | 1.21  | 10.45 | 1.21  | 16.7   | 0.228 | 1.21  | 13.57  | 0.597 | 5.83  | 11.41 | 2.1   | 0.776 |
| P             |              | 0.223 | 0.456 |       | 0.05  | 0.295 |       | 0.583 | 0.464 |       | 0.445 | 0.806 |       | 0.3   | 0.718 |       | 0.050  | 0.999  |       | 0.267 | --    |       | 0.121 | 0.156 |       | --    | 0.744 | 0.051 | 0.077  |       | 0.204 | 0.942  |       | 0.315 | 0.396 | 0.132 |       |
| IFN-γ         | Total        | 65.98 | 42.18 | 0.922 | 53.5  | 65.98 | 0.563 | 65.98 | 42.18 | 0.892 | 65.98 | 65.98 | 0.367 | 65.98 | 42.18 | 0.474 | 28.99  | 65.98  | 0.357 | 59.74 | 59.74 | 0.876 | 51.41 | 59.74 | 0.964 | 59.74 | 32.08 | 65.98 | 80.07  | 0.353 | 65.98 | 42.18  | 0.862 | 65.98 | 42.18 | 59.74 | 0.934 |
|               | Pembro + DTX | 32.08 | 65.98 | 0.647 | 94.17 | 42.18 | 0.524 | 65.98 | 32.08 | 0.819 | 54.23 | 65.98 | 0.659 | 72.77 | 23.94 | 0.447 | 107.42 | 23.94  | 0.999 | 54.08 | 54.08 | 0.949 | 51.41 | 54.08 | 0.751 | --    | 15.81 | 87.87 | 109.76 | 0.143 | 42.18 | 109.76 | 0.661 | 79.56 | 32.08 | 80.07 | 0.508 |
|               | DTX          | 65.98 | 37.13 | 0.277 | 47.84 | 65.98 | 0.818 | 65.98 | 42.18 | 0.644 | 65.98 | 65.98 | 0.509 | 53.5  | 65.98 | 0.841 | 28.99  | 79.56  | 0.048 | 59.74 | --    | --    | 51.41 | 59.74 | 0.798 | 59.74 | 42.18 | 40.89 | 65.98  | 0.907 | 65.98 | 42.18  | 0.504 | 49.03 | 65.98 | 47.84 | 0.581 |
| P             |              | 0.912 | 0.235 |       | 0.596 | 0.999 |       | 0.787 | 0.703 |       | 0.726 | 0.87  |       | 0.44  | 0.567 |       | 0.596  | 0.076  |       | 0.566 | --    |       | 0.999 | 0.566 |       | --    | 0.326 | 0.151 | 0.046  |       | 0.864 | 0.518  |       | 0.304 | 0.117 | 0.282 |       |
| TNF-α         | Total        | 19.33 | 23.52 | 0.778 | 19.33 | 23.52 | 0.363 | 21.42 | 21.42 | 0.744 | 21.42 | 21.42 | 0.786 | 23.52 | 19.33 | 0.402 | 19.33  | 19.33  | 0.711 | 21.42 | 21.42 | 0.492 | 15.34 | 23.52 | 0.510 | 7.8   | 23.52 | 19.33 | 25.69  | 0.252 | 19.33 | 23.52  | 0.827 | 19.33 | 23.52 | 23.52 | 0.773 |
|               | Pembro + DTX | 23.52 | 27.87 | 0.818 | 23.52 | 27.87 | 0.749 | 23.52 | 23.52 | 0.939 | 23.60 | 23.52 | 0.766 | 23.52 | 23.6  | 0.812 | 40.41  | 17.68  | 0.439 | 23.52 | 23.52 | 0.751 | 28.53 | 23.52 | 0.899 | --    | 23.52 | 25.69 | 27.87  | 0.775 | 27.87 | 15.34  | 0.139 | 23.52 | 27.87 | 25.69 | 0.631 |
|               | DTX          | 17.33 | 17.33 | 0.803 | 15.34 | 19.33 | 0.286 | 15.34 | 19.33 | 0.848 | 19.43 | 15.34 | 0.313 | 15.34 | 19.33 | 0.842 | 15.45  | 19.33  | 0.856 | 17.33 | --    | --    | 11.72 | 19.33 | 0.374 | 7.8   | 23.52 | 17.33 | 23.52  | 0.089 | 15.34 | 23.52  | 0.096 | 17.33 | 15.81 | 17.33 | 0.922 |
| P             |              | 0.27  | 0.122 |       | 0.149 | 0.327 |       | 0.181 | 0.283 |       | 0.739 | 0.085 |       | 0.192 | 0.443 |       | 0.149  | 0.999  |       | 0.096 | --    |       | 0.221 | 0.134 |       | --    | 0.949 | 0.051 | 0.825  |       | 0.003 | 0.386  |       | 0.547 | 0.3   | 0.065 |       |
| IL-6          | Total        | 33.95 | 26.16 | 0.528 | 30.06 | 33.95 | 0.602 | 33.95 | 28.11 | 0.786 | 28.10 | 41.64 | 0.164 | 33.95 | 26.16 | 0.605 | 22.26  | 45.48  | 0.098 | 32    | 32    | 0.513 | 47.08 | 30.06 | 0.667 | 98.38 | 32    | 20.3  | 32     | 0.264 | 37.81 | 22.26  | 0.050 | 37.81 | 33.95 | 24.2  | 0.370 |
|               | Pembro + DTX | 33.95 | 30.06 | 0.848 | 33.95 | 30.06 | 0.810 | 33.95 | 26.16 | 0.939 | 39.71 | 30.06 | 0.462 | 32    | 35.82 | 0.775 | 33.87  | 35.82  | 0.683 | 35.88 | 35.88 | 0.446 | 18.34 | 35.88 | 0.182 | --    | 30.06 | 33.87 | 45.48  | 0.656 | 33.95 | 26.16  | 0.810 | 45.48 | 30.06 | 18.34 | 0.192 |
|               | DTX          | 32    | 24.21 | 0.535 | 28.11 | 43.51 | 0.384 | 33.95 | 30.06 | 0.542 | 20.30 | 68.00 | 0.035 | 33.95 | 22.26 | 0.475 | 16.39  | 121.17 | 0.157 | 30.06 | --    | --    | 94.58 | 28.11 | 0.130 | 98.38 | 33.95 | 18.34 | 18.34  | 0.052 | 49.28 | 20.3   | 0.032 | 22.26 | 52.81 | 30.06 | 0.313 |

|          |                     |        |        |           |            |             |           |            |            |           |            |            |           |        |        |           |            |            |           |            |            |           |            |        |           |            |            |        |            |           |        |            |           |        |            |            |           |
|----------|---------------------|--------|--------|-----------|------------|-------------|-----------|------------|------------|-----------|------------|------------|-----------|--------|--------|-----------|------------|------------|-----------|------------|------------|-----------|------------|--------|-----------|------------|------------|--------|------------|-----------|--------|------------|-----------|--------|------------|------------|-----------|
| <i>P</i> |                     | 0.848  | 0.906  |           | 0.61<br>8  | 0.35<br>3   |           | 0.819      | 0.760      |           | 0.177      | 0.10<br>4  |           | 0.454  | 0.447  |           | 0.618      | 0.564      |           | 0.895      | --         |           | 0.121      | 0.633  |           | --         | 0.30<br>5  | 0.295  | 0.046      |           | 0.307  | 0.172      |           | 0.303  | 0.439      | 0.279      |           |
| IL-10    | Total               | 8.61   | 7.99   | 0.1<br>68 | 8.61       | 9.24        | 0.9<br>34 | 8.61       | 8.61       | 0.9<br>24 | 8.61       | 8.61       | 0.9<br>99 | 8.61   | 8.61   | 0.5<br>21 | 7.68       | 9.24       | 0.0<br>94 | 8.61       | 8.61       | 0.7<br>78 | 9.56       | 8.61   | 0.4<br>53 | 9.56       | 8.61       | 7.68   | 8.61       | 0.27<br>1 | 8.61   | 8.61       | 0.33<br>0 | 9.24   | 7.99       | 7.99       | 0.36<br>9 |
|          | Pem<br>bro +<br>DTX | 8.61   | 7.38   | 0.1<br>81 | 8.61       | 7.38        | 0.8<br>42 | 8.61       | 8.61       | 0.7<br>89 | 10.2<br>9  | 8.61       | 0.4<br>59 | 8.61   | 8.31   | 0.9<br>24 | 7.08       | 10.2<br>1  | 0.1<br>21 | 8.3        | 8.3        | 0.5<br>26 | 8.01       | 8.61   | 0.8<br>49 | --         | 8.61       | 7.99   | 13.2       | 0.80<br>5 | 8.61   | 7.99       | 0.40<br>2 | 8.61   | 7.38       | 7.08       | 0.40<br>0 |
|          | DTX                 | 9.24   | 8.3    | 0.6<br>77 | 8.61       | 9.24        | 0.9<br>70 | 8.61       | 9.24       | 0.8<br>48 | 8.61       | 11.8<br>5  | 0.5<br>80 | 9.24   | 8.61   | 0.2<br>00 | 8.30       | 9.24       | 0.4<br>71 | 8.92       | --         | --        | 11.8<br>8  | 8.61   | 0.1<br>82 | 9.56       | 11.8<br>5  | 7.38   | 8.61       | 0.03<br>6 | 9.24   | 8.61       | 0.56<br>0 | 9.24   | 8.61       | 8.61       | 0.72<br>9 |
| <i>P</i> |                     | 0.698  | 0.170  |           | 0.41       | 0.42<br>6   |           | 0.538      | 0.379      |           | 0.73<br>6  | 0.28<br>7  |           | 0.144  | 0.847  |           | 0.41       | 0.37<br>4  |           | 0.21<br>1  | --         |           | 0.12<br>1  | 0.434  |           | --         | 0.03<br>3  | 0.744  | 0.50<br>0  |           | 0.406  | 0.38<br>7  |           | 0.569  | 0.241      | 0.59<br>2  |           |
| IL-12p70 | Total               | 8.13   | 8.75   | 0.68<br>4 | 7.52       | 8.75        | 0.6<br>40 | 8.75       | 8.44       | 0.6<br>54 | 7.52       | 8.75       | 0.2<br>93 | 8.75   | 8.75   | 0.6<br>37 | 9.06       | 7.52       | 0.5<br>82 | 8.75       | 8.75       | 0.6<br>18 | 10.05      | 8.44   | 0.3<br>53 | 6.65       | 9.39       | 7.52   | 8.75       | 0.27<br>9 | 8.75   | 8.13       | 0.95<br>4 | 8.75   | 8.75       | 7.82       | 0.36<br>5 |
|          | Pemb<br>ro +<br>DTX | 7.52   | 8.75   | 0.90<br>9 | 7.52       | 8.75        | 0.7<br>80 | 8.75       | 6.92       | 0.3<br>59 | 9.06       | 8.75       | 0.5<br>51 | 8.44   | 7.22   | 0.6<br>35 | 8.13       | 6.63       | 0.1<br>21 | 7.82       | 7.82       | 0.8<br>49 | 7.26       | 7.82   | 0.6<br>57 | --         | 7.52       | 6.93   | 6.45       | 0.15<br>6 | 8.75   | 7.52       | 0.69<br>0 | 7.52   | 8.75       | 6.95       | 0.48<br>2 |
|          | DTX                 | 8.75   | 10.05  | 0.96<br>7 | 8.13       | 9.06        | 0.5<br>68 | 7.52       | 10.69      | 0.1<br>26 | 7.52       | 10.0<br>3  | 0.1<br>40 | 8.75   | 9.38   | 0.3<br>81 | 10.37      | 8.75       | 0.9<br>99 | 8.75       | --         | --        | 35.52      | 8.75   | 0.0<br>66 | 6.65       | 10.6<br>9  | 8.13   | 7.52       | 0.17<br>0 | 8.75   | 10.05      | 0.53<br>4 | 9.7    | 8.75       | 8.13       | 0.72<br>3 |
| <i>P</i> |                     | 0.364  | 0.336  |           | 0.75<br>6  | 0.16<br>6   |           | 0.848      | 0.094      |           | 0.122      | 0.28<br>6  |           | 0.644  | 0.129  |           | 0.756      | 0.083      |           | 0.258      | --         |           | 0.121      | 0.474  |           | --         | 0.09<br>5  | 0.397  | 0.077      |           | 0.542  | 0.316      |           | 0.479  | 0.793      | 0.391      |           |
| IL-17A   | Total               | 26.66  | 40.19  | 0.46<br>6 | 40.1<br>9  | 31.1        | 0.4<br>58 | 37.9       | 28.88      | 0.8<br>81 | 37.9       | 40.2<br>1  | 0.5<br>10 | 35.61  | 40.19  | 0.8<br>79 | 40.19      | 31.1       | 0.8<br>54 | 33.35      | 33.35      | 0.2<br>24 | 56.55      | 28.88  | 0.1<br>24 | 42.88      | 33.4<br>2  | 24.48  | 37.9       | 0.81<br>7 | 35.61  | 26.66      | 0.69<br>5 | 49.47  | 26.66      | 24.48      | 0.21<br>6 |
|          | Pemb<br>ro +<br>DTX | 35.61  | 40.19  | 0.84<br>9 | 35.6<br>1  | 40.1<br>9   | 0.9<br>37 | 35.61      | 40.19      | 0.4<br>69 | 37.9       | 26.6<br>6  | 0.7<br>69 | 37.9   | 35.64  | 0.8<br>87 | 21.62      | 52.12      | 0.4<br>39 | 33.35      | 33.35      | 0.2<br>30 | 73.17      | 33.35  | 0.0<br>88 | --         | 26.6<br>6  | 28.88  | 63.63      | 0.32<br>4 | 40.19  | 26.66      | 0.81<br>2 | 31.1   | 40.19      | 40.21      | 0.86<br>3 |
|          | DTX                 | 22.36  | 49.54  | 0.18<br>5 | 49.5<br>4  | 24.4<br>8   | 0.3<br>23 | 40.19      | 26.66      | 0.3<br>21 | 23.29      | 63.6<br>3  | 0.2<br>00 | 26.66  | 40.19  | 0.9<br>37 | 47.18      | 26.66      | 0.4<br>80 | 31.13      | --         | --        | 42.54      | 26.66  | 0.7<br>04 | 42.88      | 58.8<br>9  | 20.18  | 18.06      | 0.47<br>0 | 31.13  | 29.12      | 0.64<br>8 | 51.82  | 24.48      | 18.06      | 0.16<br>5 |
| <i>P</i> |                     | 0.335  | 0.592  |           | 0.85<br>2  | 0.52<br>5   |           | 0.541      | 0.208      |           | 0.866      | 0.19<br>2  |           | 0.692  | 0.999  |           | 0.852      | 0.248      |           | 0.895      | --         |           | 0.121      | 0.874  |           | --         | 0.30<br>3  | 0.647  | 0.127      |           | 0.807  | 0.519      |           | 0.804  | 0.896      | 0.108      |           |
| IL-18    | Total               | 581.19 | 444.04 | 0.50<br>2 | 510.<br>91 | 581.<br>19  | 0.2<br>62 | 567.6<br>2 | 514.9<br>4 | 0.7<br>76 | 435.3<br>1 | 567.<br>62 | 0.2<br>31 | 575.75 | 359.15 | 0.3<br>25 | 278.6<br>2 | 916.9<br>1 | 0.0<br>11 | 564.9      | 564.9      | 0.1<br>53 | 880.9<br>2 | 536.52 | 0.3<br>10 | 481.8<br>2 | 528.<br>45 | 547.36 | 746.5<br>6 | 0.87<br>9 | 554.06 | 518.9<br>8 | 0.97<br>7 | 575.75 | 438.7<br>1 | 470.7<br>8 | 0.66<br>9 |
|          | Pemb<br>ro +<br>DTX | 719.06 | 438.71 | 0.05<br>3 | 575.<br>75 | 438.<br>71  | 0.1<br>22 | 502.8<br>5 | 510.9<br>1 | 0.9<br>39 | 612.6      | 502.<br>85 | 0.6<br>59 | 532.48 | 356.51 | 0.1<br>30 | 298.4<br>3 | 539.1      | 0.1<br>21 | 532.4<br>8 | 532.4<br>8 | 0.1<br>30 | 473.4<br>4 | 532.48 | 0.6<br>59 | --         | 502.<br>85 | 507.23 | 982.2<br>1 | 0.30<br>9 | 444.04 | 575.7<br>5 | 0.20<br>4 | 554.06 | 242.9<br>9 | 742.5<br>3 | 0.07<br>2 |
|          | DTX                 | 550.08 | 720.84 | 0.32<br>2 | 319.<br>53 | 1087<br>.95 | 0.0<br>16 | 627.6<br>3 | 518.9<br>8 | 0.7<br>32 | 427.3<br>8 | 778.<br>25 | 0.1<br>44 | 627.63 | 518.98 | 0.7<br>21 | 270.6<br>9 | 1259       | 0.0<br>34 | 604.4<br>1 | --         | --        | 2017.<br>5 | 550.08 | 0.0<br>78 | 481.8<br>2 | 581.<br>19 | 648.61 | 227.1<br>4 | 0.82<br>7 | 635.87 | 416.6<br>1 | 0.24<br>8 | 612.65 | 772.2<br>7 | 319.5<br>3 | 0.46<br>2 |
| <i>P</i> |                     | 0.352  | 0.346  |           | 0.06<br>3  | 0.01<br>9   |           | 0.761      | 0.732      |           | 0.505      | 0.19<br>3  |           | 0.913  | 0.705  |           | 0.063      | 0.083      |           | 0.781      | --         |           | 0.121      | 0.602  |           | --         | 0.65<br>5  | 0.999  | 0.275      |           | 0.423  | 0.253      |           | 0.833  | 0.039      | 0.391      |           |
| IL-23    | Total               | 77.88  | 77.88  | 0.93<br>2 | 59.3<br>7  | 77.8<br>8   | 0.4<br>30 | 59.99      | 77.88      | 0.9<br>45 | 59.99      | 52.1<br>1  | 0.9<br>69 | 77.88  | 77.88  | 0.9<br>02 | 26.35      | 139.1<br>8 | 0.1<br>95 | 77.88      | 77.88      | 0.3<br>79 | 119.5<br>3 | 68.62  | 0.3<br>05 | 78.4       | 34.2<br>2  | 52.11  | 130.8<br>7 | 0.90<br>2 | 59.37  | 77.88      | 0.82<br>6 | 97.43  | 26.35      | 26.35      | 0.32<br>1 |
|          | Pemb<br>ro +<br>DTX | 77.88  | 77.88  | 0.51<br>3 | 77.8<br>8  | 77.8<br>8   | 0.7<br>79 | 26.35      | 97.43      | 0.4<br>65 | 116.7<br>6 | 26.3<br>5  | 0.5<br>50 | 77.88  | 118.3  | 0.3<br>89 | 105.1<br>1 | 118.3      | 0.9<br>99 | 87.65      | 87.65      | 0.3<br>08 | 52.11      | 87.65  | 0.6<br>10 | --         | 26.3<br>5  | 87.65  | 207.1<br>7 | 0.27<br>2 | 26.35  | 97.43      | 0.40<br>0 | 97.43  | 26.35      | 26.35      | 0.43<br>4 |
|          | DTX                 | 68.62  | 26.35  | 0.29<br>7 | 26.3<br>5  | 108.<br>53  | 0.4<br>00 | 77.88      | 26.35      | 0.3<br>56 | 59.99      | 161.<br>19 | 0.4<br>63 | 59.37  | 26.35  | 0.3<br>78 | 20.58      | 139.1<br>8 | 0.2<br>71 | 50.73      | --         | --        | 246.3<br>9 | 34.22  | 0.0<br>74 | 78.4       | 42.1       | 26.35  | 14.81      | 0.55<br>9 | 68.62  | 20.58      | 0.18<br>2 | 87.65  | 34.22      | 42.86      | 0.80<br>3 |
| <i>P</i> |                     | 0.656  | 0.166  |           | 0.65<br>8  | 0.80<br>6   |           | 0.538      | 0.335      |           | 0.615      | 0.32<br>2  |           | 0.739  | 0.25   |           | 0.658      | 0.767      |           | 0.626      | --         |           | 0.121      | 0.441  |           | --         | 0.39<br>6  | 0.293  | 0.121      |           | 0.477  | 0.189      |           | 0.644  | 0.895      | 0.827      |           |
| IL-33    | Total               | 8.65   | 5.52   | 0.25<br>6 | 5.52       | 8.65        | 0.7<br>04 | 5.52       | 14.29      | 0.0<br>97 | 5.48       | 8.65       | 0.1<br>68 | 5.52   | 5.52   | 0.8<br>15 | 5.52       | 8.65       | 0.5<br>72 | 5.52       | 5.52       | 0.2<br>13 | 25.82      | 5.52   | 0.2<br>75 | 17.03      | 8.82       | 7.08   | 5.52       | 0.98<br>6 | 8.65   | 5.52       | 0.98<br>8 | 8.65   | 5.52       | 5.48       | 0.22<br>5 |
|          | Pemb<br>ro +<br>DTX | 12.13  | 5.52   | 0.16<br>1 | 5.52       | 8.65        | 0.4<br>16 | 5.52       | 8.65       | 0.2<br>13 | 5.48       | 8.65       | 0.4<br>43 | 8.65   | 5.44   | 0.0<br>81 | 5.44       | 7.04       | 0.3<br>17 | 5.52       | 5.52       | 0.2<br>45 | 7.04       | 7.08   | 0.5<br>18 | --         | 5.44       | 8.65   | 5.52       | 0.65<br>9 | 8.65   | 5.52       | 0.93<br>5 | 8.65   | 5.44       | 5.52       | 0.50<br>4 |
|          | DTX                 | 7.08   | 5.52   | 0.93<br>2 | 5.48       | 16.4<br>1   | 0.1<br>59 | 5.52       | 19.93      | 0.3<br>66 | 5.48       | 15.9<br>0  | 0.2<br>49 | 5.44   | 8.65   | 0.2<br>51 | 7.08       | 24.18      | 0.5<br>89 | 5.52       | --         | --        | 70.83      | 5.52   | 0.0<br>19 | 17.03      | 15.9       | 5.44   | 5.52       | 0.55<br>3 | 7.04   | 5.52       | 0.93<br>2 | 14.29  | 5.52       | 5.44       | 0.38<br>4 |
| <i>P</i> |                     | 0.465  | 0.667  |           | 0.26<br>1  | 0.22<br>8   |           | 0.905      | 0.847      |           | 0.85<br>5  | 0.35<br>3  |           | 0.268  | 0.080  |           | 0.26<br>1  | 0.37<br>4  |           | 0.84<br>4  | --         |           | 0.121      | 0.482  |           | --         | 0.50<br>6  | 0.224  | 0.197      |           | 0.86   | 0.883      |           | 0.943  | 0.786      | 0.494      |           |

Pembro: Pembrolizumab, DTX: Docetaxel, 2T: Segunda toma de muestra sanguínea, ECOG: Escala de calidad de vida de acuerdo al *Eastern Cooperative Oncology Group*, NE: sin determinación histológica, EGFR: Receptor del Factor de Crecimiento Epidérmico, PD-L1: Ligando 1 de Muerte Celular Programada. En las celdas se muestran las medianas de concentración de cada citocina asociada a cada variable clínico-patológica. Celdas verdes horizontales: asociación entre variables para un grupo. Celdas verdes verticales: asociación de una variable entre grupos. P ≤ 0.05.

**Análisis de correlación entre las concentraciones de citocinas de primera y segunda toma de muestra sanguínea**

El análisis de correlación entre los niveles de concentración de las citocinas de primera y segunda toma de muestra sanguínea, mostró que existieron múltiples asociaciones entre estas dos condiciones en el total de pacientes, donde se presentaron 63 eventos de asociación entre las concentraciones de primera toma contra primera toma y 101 eventos entre las concentraciones de segunda toma contra segunda toma (tabla 12), así como 68 y 110 eventos, respectivamente, en el grupo de Pembrolizumab más Docetaxel (tabla 13). El grupo de Docetaxel como monoterapia fue el que presentó la menor cantidad de asociaciones en este aspecto, con 51 y 39 eventos, respectivamente (tabla 14).

En primera toma de muestra sanguínea, las citocinas TNF- $\alpha$  e IL-17A fueron las que mayor número de eventos de correlación presentaron en el total de pacientes (12 eventos) y en el grupo de Pembrolizumab (11 eventos), respectivamente. Mientras que en el grupo de Docetaxel fueron 3 citocinas, MIP-1 $\beta$ , IFN- $\gamma$  e IL-10, las que presentaron el mayor número de asociaciones en esta condición, con 9 eventos cada una. Para la segunda toma de muestra sanguínea, tanto el total de pacientes como el grupo de Docetaxel presentaron dos citocinas con el mayor número de asociaciones, siendo éstas ITAC y MIP-1 $\beta$  (15 eventos cada una), así como IFN- $\gamma$  e IL-23 (8 eventos cada una), respectivamente. Por su parte, en el grupo de Pembrolizumab más Docetaxel fue ITAC la que mayor número de asociaciones presentó con 17 eventos, aunque debe de destacarse que IL-18 y MIP-1 $\beta$  también presentaron un gran número de eventos, con 16 y 15 respectivamente.

Tanto en el total de pacientes como en el grupo de Pembrolizumab más Docetaxel, la mayoría de las asociaciones ocurrieron entre ITAC, MIP-1 $\beta$ , IL-1 $\beta$ , IFN- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-10, IL-12p70, IL-17A, IL-18, IL-23 e IL-33, mientras que en el grupo de Docetaxel no existió algún patrón de asociación reconocible.

En el total de pacientes y el grupo de Pembrolizumab más Docetaxel, la citocina MIP-3 $\alpha$  no tuvo correlación en primera ni en segunda toma en sus niveles de concentración con los de alguna otra citocina, lo mismo ocurrió con MIP-1 $\alpha$  en el grupo de Pembrolizumab más Docetaxel y RANTES en el grupo de Docetaxel como monoterapia.

Tabla 12. Análisis de correlación de las concentraciones de citocinas en la primera y segunda toma de muestra sanguínea en el total de pacientes

| Variable           |   | IL8<br>(CXCL8) | IP10<br>(CXCL10)  | Eotaxin<br>(CCL11) | TARC<br>(CCL17) | MCP1<br>(CCL2)    | RANTES<br>(CCL5) | MIP1a<br>(CCL3) | MIG<br>(CXCL9)    | ENA78<br>(CXCL5) | MIP3a<br>(CCL20) | GROa<br>(CXCL1) | ITAC<br>(CXCL11)  | MIP1b<br>(CCL4) | IL-1β             | IFN α             | IFN γ             | TN Fα             | IL-6              | IL-10             | IL-12p70          | IL-17A            | IL-18             | IL-23             | IL-33             |
|--------------------|---|----------------|-------------------|--------------------|-----------------|-------------------|------------------|-----------------|-------------------|------------------|------------------|-----------------|-------------------|-----------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| IL8<br>(CXCL8)     | r |                | 0.114             | 0.266              | 0.174           | <b>0.517</b>      | 0.228            | 0.303           | 0.147             | 0.050            | 0.135            | <b>0.463</b>    | <b>0.374</b>      | <b>0.361</b>    | 0.22<br>2         | 0.17<br>0         | 0.19<br>0         | 0.27<br>5         | 0.20<br>8         | 0.19<br>0         | 0.189             | 0.20<br>1         | <b>0.54<br/>2</b> | 0.18<br>9         | 0.19<br>8         |
|                    | P |                | 0.482             | 0.097              | 0.284           | <b>0.001</b>      | 0.157            | 0.058           | 0.365             | 0.760            | 0.405            | <b>0.003</b>    | <b>0.018</b>      | <b>0.022</b>    | 0.16<br>8         | 0.29<br>3         | 0.24<br>0         | 0.08<br>6         | 0.19<br>7         | 0.24<br>1         | 0.243             | 0.21<br>3         | <b>&lt;0.001</b>  | 0.24<br>2         | 0.22<br>2         |
| IP10<br>(CXCL10)   | r | 0.230          |                   | <b>0.434</b>       | 0.087           | 0.256             | 0.063            | 0.121           | <b>0.929</b>      | -0.003           | 0.038            | 0.013           | 0.261             | 0.052           | 0.19<br>5         | 0.16<br>3         | 0.19<br>6         | 0.21<br>5         | 0.14<br>5         | 0.20<br>0         | 0.198             | 0.19<br>7         | 0.24<br>2         | 0.17<br>9         | 0.20<br>5         |
|                    | P | 0.153          |                   | <b>0.005</b>       | 0.594           | 0.110             | 0.699            | 0.456           | <b>&lt;0.0001</b> | 0.983            | 0.817            | 0.936           | 0.104             | 0.749           | 0.22<br>9         | 0.31<br>5         | 0.22<br>4         | 0.18<br>2         | 0.37<br>1         | 0.21<br>6         | 0.220             | 0.22<br>2         | 0.13<br>3         | 0.26<br>8         | 0.20<br>5         |
| Eotaxin<br>(CCL11) | r | -0.052         | 0.090             |                    | -0.117          | <b>0.528</b>      | 0.071            | 0.193           | <b>0.363</b>      | 0.092            | 0.080            | 0.053           | 0.162             | 0.156           | 0.24<br>5         | 0.25<br>0         | 0.24<br>1         | 0.27<br>2         | 0.20<br>6         | 0.24<br>7         | 0.242             | 0.24<br>5         | 0.23<br>6         | 0.22<br>4         | 0.24<br>8         |
|                    | P | 0.749          | 0.582             |                    | 0.470           | <b>&lt;0.0001</b> | 0.665            | 0.232           | <b>0.021</b>      | 0.574            | 0.624            | 0.745           | 0.318             | 0.335           | 0.12<br>8         | 0.12<br>0         | 0.13<br>3         | 0.09<br>0         | 0.20<br>3         | 0.12<br>5         | 0.133             | 0.12<br>8         | 0.14<br>3         | 0.16<br>4         | 0.12<br>3         |
| TARC<br>(CCL17)    | r | -0.078         | -0.276            | 0.098              |                 | -0.068            | -0.119           | 0.056           | 0.168             | 0.172            | -0.036           | <b>0.396</b>    | <b>0.660</b>      | -0.007          | 0.05<br>9         | 0.00<br>3         | 0.05<br>9         | 0.00<br>4         | 0.04<br>9         | 0.05<br>6         | 0.056             | 0.05<br>7         | <b>0.46<br/>2</b> | 0.05<br>9         | 0.05<br>8         |
|                    | P | 0.634          | 0.084             | 0.548              |                 | 0.675             | 0.463            | 0.731           | 0.299             | 0.290            | 0.824            | <b>0.011</b>    | <b>&lt;0.0001</b> | 0.964           | 0.71<br>7         | 0.98<br>3         | 0.71<br>8         | 0.98<br>2         | 0.76<br>2         | 0.73<br>1         | 0.730             | 0.72<br>7         | <b>0.00<br/>3</b> | 0.71<br>9         | 0.72<br>0         |
| MCP1<br>(CCL2)     | r | 0.077          | 0.091             | <b>0.780</b>       | 0.037           |                   | <b>0.411</b>     | 0.293           | 0.139             | 0.129            | 0.290            | 0.236           | 0.173             | 0.218           | <b>0.36<br/>3</b> | <b>0.44<br/>7</b> | <b>0.34<br/>5</b> | <b>0.34<br/>6</b> | <b>0.33<br/>2</b> | <b>0.35<br/>4</b> | <b>0.34<br/>5</b> | <b>0.33<br/>9</b> | 0.29<br>8         | <b>0.32<br/>7</b> | <b>0.34<br/>9</b> |
|                    | P | 0.638          | 0.577             | <b>&lt;0.0001</b>  | 0.820           |                   | <b>0.008</b>     | 0.067           | 0.394             | 0.429            | 0.069            | 0.143           | 0.287             | 0.177           | <b>0.02<br/>1</b> | <b>0.00<br/>4</b> | <b>0.02<br/>9</b> | <b>0.02<br/>9</b> | <b>0.02<br/>6</b> | <b>0.02<br/>5</b> | <b>0.02<br/>9</b> | <b>0.03<br/>2</b> | 0.06<br>2         | <b>0.04<br/>0</b> | <b>0.02<br/>7</b> |
| RANTES<br>(CCL5)   | r | 0.002          | -0.010            | 0.126              | -0.088          | 0.212             |                  | 0.108           | 0.068             | -0.252           | 0.154            | -0.086          | -0.105            | <b>0.336</b>    | 0.15<br>5         | 0.24<br>7         | 0.16<br>2         | 0.14<br>2         | 0.18<br>5         | 0.16<br>2         | 0.153             | 0.13<br>4         | 0.00<br>3         | 0.18<br>5         | 0.14<br>8         |
|                    | P | 0.988          | 0.953             | 0.437              | 0.591           | 0.189             |                  | 0.508           | 0.675             | 0.117            | 0.344            | 0.600           | 0.518             | <b>0.034</b>    | 0.34<br>0         | 0.12<br>4         | 0.31<br>9         | 0.38<br>1         | 0.25<br>3         | 0.31<br>7         | 0.345             | 0.41<br>1         | 0.98<br>3         | 0.25<br>3         | 0.36<br>3         |
| MIP1a<br>(CCL3)    | r | -0.028         | -0.109            | 0.080              | 0.135           | -0.042            | -0.150           |                 | 0.101             | -0.048           | 0.052            | <b>0.343</b>    | 0.241             | <b>0.312</b>    | 0.16<br>3         | 0.12<br>5         | 0.16<br>8         | 0.21<br>2         | 0.16<br>1         | 0.16<br>1         | 0.163             | 0.15<br>3         | 0.24<br>0         | 0.19<br>2         | 0.16<br>6         |
|                    | P | 0.866          | 0.504             | 0.623              | 0.407           | 0.799             | 0.357            |                 | 0.537             | 0.767            | 0.748            | <b>0.030</b>    | 0.134             | <b>0.050</b>    | 0.31<br>6         | 0.44<br>2         | 0.30<br>0         | 0.18<br>9         | 0.32<br>1         | 0.32<br>0         | 0.315             | 0.34<br>6         | 0.13<br>5         | 0.23<br>4         | 0.30<br>6         |
| MIG<br>(CXCL9)     | r | 0.238          | <b>0.641</b>      | 0.217              | 0.014           | 0.009             | -0.098           | -0.071          |                   | 0.043            | 0.017            | 0.059           | <b>0.353</b>      | 0.107           | 0.24<br>4         | 0.20<br>6         | 0.24<br>1         | 0.24<br>7         | 0.19<br>1         | 0.23<br>9         | 0.239             | 0.23<br>2         | <b>0.32<br/>4</b> | 0.23<br>2         | 0.24<br>6         |
|                    | P | 0.139          | <b>&lt;0.0001</b> | 0.179              | 0.933           | 0.956             | 0.547            | 0.662           |                   | 0.792            | 0.916            | 0.716           | <b>0.026</b>      | 0.511           | 0.12<br>9         | 0.20<br>3         | 0.13<br>5         | 0.12<br>5         | 0.23<br>7         | 0.13<br>8         | 0.137             | 0.14<br>9         | <b>0.04<br/>2</b> | 0.14<br>9         | 0.12<br>5         |
| ENA78<br>(CXCL5)   | r | -0.214         | -0.035            | -0.043             | 0.266           | -0.034            | 0.238            | -0.095          | -0.061            |                  | -0.076           | <b>0.419</b>    | 0.192             | -0.064          | 0.01<br>3         | 0.00<br>2         | 0.01<br>6         | 0.11<br>4         | 0.03<br>6         | 0.02<br>5         | 0.021             | 0.02<br>1         | 0.06<br>4         | 0.02<br>2         | 0.02<br>0         |
|                    | P | 0.185          | 0.831             | 0.793              | 0.097           | 0.836             | 0.139            | 0.560           | 0.708             |                  | 0.640            | <b>0.007</b>    | 0.235             | 0.695           | 0.93<br>7         | 0.99<br>0         | 0.92<br>2         | 0.48<br>5         | 0.82<br>5         | 0.87<br>6         | 0.896             | 0.89<br>6         | 0.69<br>4         | 0.89<br>2         | 0.90<br>0         |
| MIP3a<br>(CCL20)   | r | 0.033          | 0.038             | 0.043              | -0.088          | -0.163            | -0.211           | -0.053          | 0.110             | -0.146           |                  | 0.189           | 0.010             | 0.120           | 0.01<br>8         | 0.01<br>7         | 0.00<br>6         | 0.02<br>5         | 0.00<br>6         | 0.00<br>4         | 0.002             | 0.00<br>6         | 0.08<br>1         | 0.01<br>4         | 0.00<br>2         |
|                    | P | 0.841          | 0.816             | 0.793              | 0.591           | 0.314             | 0.191            | 0.747           | 0.498             | 0.370            |                  | 0.244           | 0.950             | 0.462           | 0.91<br>5         | 0.91<br>6         | 0.97<br>1         | 0.87<br>7         | 0.96<br>9         | 0.98<br>0         | 0.989             | 0.97<br>1         | 0.61<br>8         | 0.93<br>1         | 0.99<br>1         |
| GROa<br>(CXCL1)    | r | 0.171          | -0.146            | 0.243              | 0.087           | 0.282             | 0.236            | 0.037           | -0.094            | 0.102            | 0.140            |                 | <b>0.424</b>      | <b>0.329</b>    | 0.09<br>6         | 0.03<br>8         | 0.10<br>2         | 0.06<br>8         | 0.12<br>8         | 0.12<br>9         | 0.122             | 0.11<br>4         | <b>0.36<br/>4</b> | 0.05<br>9         | 0.11<br>7         |
|                    | P | 0.291          | 0.368             | 0.131              | 0.592           | 0.078             | 0.143            | 0.823           | 0.566             | 0.533            | 0.389            |                 | <b>0.006</b>      | <b>0.038</b>    | 0.55<br>7         | 0.81<br>8         | 0.53<br>0         | 0.67<br>9         | 0.43<br>3         | 0.42<br>6         | 0.453             | 0.48<br>4         | <b>0.02<br/>1</b> | 0.71<br>6         | 0.47<br>2         |

|                  |   |        |        |        |        |        |        |        |       |        |        |         |        |       |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |
|------------------|---|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|-------|--------|--------|---------|--------|-------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| ITAC<br>(CXCL11) | r | -0.063 | -0.135 | 0.339  | 0.192  | 0.143  | 0.082  | -0.040 | 0.225 | 0.414  | 0.047  | 0.225   |        | 0.144 | 0.40<br>0   | 0.35<br>8   | 0.37<br>9   | 0.38<br>6   | 0.36<br>2   | 0.38<br>6   | 0.38<br>2   | 0.39<br>6   | 0.77<br>7   | 0.36<br>1   | 0.39<br>0   |
|                  | P | 0.700  | 0.406  | 0.032  | 0.236  | 0.380  | 0.616  | 0.807  | 0.163 | 0.008  | 0.772  | 0.163   |        | 0.375 | 0.01<br>0   | 0.02<br>3   | 0.01<br>6   | 0.01<br>4   | 0.02<br>2   | 0.01<br>4   | 0.01<br>5   | 0.01<br>1   | <0.0<br>001 | 0.02<br>2   | 0.01<br>3   |
| MIP1b<br>(CCL4)  | r | 0.174  | -0.095 | 0.350  | 0.075  | 0.372  | 0.364  | -0.067 | 0.129 | -0.155 | 0.027  | 0.690   | 0.127  |       | 0.35<br>7   | 0.42<br>3   | 0.37<br>7   | 0.29<br>9   | 0.34<br>1   | 0.32<br>8   | 0.33<br>6   | 0.34<br>8   | 0.23<br>9   | 0.50<br>1   | 0.32<br>6   |
|                  | P | 0.283  | 0.561  | 0.027  | 0.644  | 0.018  | 0.021  | 0.681  | 0.427 | 0.340  | 0.866  | <0.0001 | 0.433  |       | 0.02<br>4   | 0.00<br>7   | 0.01<br>6   | 0.06<br>1   | 0.03<br>1   | 0.03<br>9   | 0.03<br>4   | 0.02<br>8   | 0.13<br>7   | 0.00<br>1   | 0.04<br>0   |
| IL-1β            | r | 0.046  | 0.043  | -0.113 | 0.019  | -0.053 | -0.227 | -0.056 | 0.143 | -0.075 | -0.023 | -0.122  | -0.044 | 0.099 |             | 0.93<br>9   | 0.99<br>6   | 0.88<br>9   | 0.96<br>3   | 0.99<br>6   | 0.99<br>7   | 0.99<br>4   | 0.53<br>6   | 0.97<br>4   | 0.99<br>8   |
|                  | P | 0.779  | 0.794  | 0.486  | 0.908  | 0.747  | 0.160  | 0.733  | 0.379 | 0.646  | 0.886  | 0.453   | 0.790  | 0.543 |             | <0.0<br>001 | <0.0<br>001 | <0.0<br>001 | <0.0<br>001 | <0.0<br>001 | <0.0<br>01  | <0.0<br>001 | <0.0<br>001 | <0.0<br>001 | <0.0<br>001 |
| IFNα             | r | 0.039  | -0.029 | 0.101  | -0.020 | 0.163  | -0.001 | -0.067 | 0.136 | -0.093 | -0.001 | 0.132   | -0.012 | 0.403 | 0.86<br>7   |             | 0.94<br>0   | 0.81<br>9   | 0.89<br>9   | 0.93<br>1   | 0.93<br>3   | 0.92<br>0   | 0.47<br>9   | 0.93<br>4   | 0.93<br>2   |
|                  | P | 0.810  | 0.858  | 0.536  | 0.901  | 0.314  | 0.995  | 0.682  | 0.401 | 0.568  | 0.995  | 0.418   | 0.943  | 0.010 | <0.0<br>001 |             | <0.0<br>001 | <0.0<br>001 | <0.0<br>001 | <0.0<br>001 | <0.0<br>01  | 0.00<br>001 | <0.0<br>001 | <0.0<br>001 | <0.0<br>001 |
| IFNγ             | r | 0.025  | 0.017  | -0.108 | 0.015  | -0.054 | -0.197 | -0.055 | 0.158 | -0.113 | -0.035 | -0.063  | -0.061 | 0.203 | 0.98<br>5   | 0.88<br>9   |             | 0.87<br>9   | 0.96<br>6   | 0.99<br>7   | 0.99<br>8   | 0.99<br>3   | 0.50<br>4   | 0.98<br>6   | 0.99<br>7   |
|                  | P | 0.877  | 0.919  | 0.506  | 0.928  | 0.742  | 0.223  | 0.734  | 0.331 | 0.489  | 0.831  | 0.701   | 0.708  | 0.210 | <0.0<br>001 | <0.0<br>001 |             | <0.0<br>001 | <0.0<br>001 | <0.0<br>001 | <0.0<br>01  | 0.00<br>001 | <0.0<br>001 | <0.0<br>001 | <0.0<br>001 |
| TNFα             | r | 0.311  | -0.034 | -0.333 | 0.313  | -0.226 | -0.405 | -0.063 | 0.170 | -0.018 | 0.038  | 0.057   | -0.109 | 0.014 | 0.63<br>2   | 0.46<br>2   | 0.62<br>0   |             | 0.82<br>9   | 0.89<br>2   | 0.88<br>2   | 0.87<br>2   | 0.48<br>9   | 0.84<br>5   | 0.88<br>8   |
|                  | P | 0.051  | 0.837  | 0.035  | 0.049  | 0.160  | 0.010  | 0.700  | 0.293 | 0.911  | 0.818  | 0.729   | 0.505  | 0.930 | <0.0<br>001 | 0.00<br>3   | <0.0<br>001 |             | <0.0<br>001 | <0.0<br>001 | <0.0<br>01  | <0.0<br>001 | <0.0<br>001 | <0.0<br>001 | <0.0<br>001 |
| IL-6             | r | 0.042  | 0.033  | -0.188 | 0.015  | -0.087 | -0.210 | -0.108 | 0.151 | -0.057 | -0.006 | -0.098  | -0.059 | 0.073 | 0.94<br>9   | 0.80<br>8   | 0.94<br>5   | 0.67<br>9   |             | 0.96<br>6   | 0.96<br>8   | 0.96<br>1   | 0.52<br>4   | 0.94<br>7   | 0.96<br>7   |
|                  | P | 0.795  | 0.839  | 0.245  | 0.929  | 0.594  | 0.194  | 0.508  | 0.352 | 0.728  | 0.970  | 0.546   | 0.715  | 0.654 | <0.0<br>001 | <0.0<br>001 | <0.0<br>001 | <0.0<br>001 |             | <0.0<br>001 | <0.0<br>001 | 0.00<br>001 | <0.0<br>001 | <0.0<br>001 | <0.0<br>001 |
| IL-10            | r | 0.028  | 0.043  | -0.092 | -0.017 | -0.024 | -0.211 | -0.059 | 0.130 | -0.105 | -0.035 | -0.139  | -0.066 | 0.106 | 0.99<br>4   | 0.87<br>2   | 0.98<br>7   | 0.58<br>1   | 0.94<br>0   |             | 0.99<br>9   | 0.99<br>3   | 0.50<br>7   | 0.97<br>2   | 0.99<br>9   |
|                  | P | 0.866  | 0.791  | 0.574  | 0.917  | 0.886  | 0.191  | 0.717  | 0.423 | 0.517  | 0.831  | 0.393   | 0.688  | 0.516 | <0.0<br>001 | <0.0<br>001 | <0.0<br>001 | <0.0<br>001 | <0.0<br>001 |             | <0.00<br>01 | <0.0<br>001 | 0.00<br>001 | <0.0<br>001 | <0.0<br>001 |
| IL-12p70         | r | -0.002 | 0.072  | -0.075 | -0.038 | -0.009 | -0.183 | -0.061 | 0.150 | -0.053 | -0.041 | -0.153  | -0.061 | 0.105 | 0.98<br>5   | 0.88<br>1   | 0.98<br>0   | 0.54<br>2   | 0.93<br>6   | 0.99<br>2   |             | 0.99<br>5   | 0.50<br>7   | 0.97<br>5   | 1.00<br>0   |
|                  | P | 0.992  | 0.658  | 0.647  | 0.818  | 0.957  | 0.257  | 0.709  | 0.356 | 0.745  | 0.800  | 0.347   | 0.708  | 0.519 | <0.0<br>001 | <0.0<br>001 | <0.0<br>001 | <0.0<br>001 | <0.0<br>001 | <0.0<br>001 |             | <0.0<br>001 | 0.00<br>001 | <0.0<br>001 | <0.0<br>001 |
| IL-17A           | r | 0.313  | 0.004  | -0.240 | 0.268  | -0.241 | -0.377 | -0.049 | 0.143 | 0.038  | 0.030  | 0.012   | -0.074 | 0.061 | 0.56<br>7   | 0.41<br>6   | 0.53<br>7   | 0.83<br>0   | 0.57<br>7   | 0.50<br>4   | 0.47<br>9   |             | 0.51<br>0   | 0.97<br>2   | 0.99<br>5   |
|                  | P | 0.049  | 0.979  | 0.135  | 0.095  | 0.134  | 0.017  | 0.762  | 0.379 | 0.817  | 0.854  | 0.942   | 0.650  | 0.708 | <0.0<br>001 | 0.00<br>8   | <0.0<br>001 | <0.0<br>001 | <0.0<br>001 | 0.00<br>1   | 0.00<br>2   |             | 0.00<br>1   | <0.0<br>001 | <0.0<br>001 |
| IL-18            | r | 0.072  | 0.127  | 0.364  | 0.334  | 0.159  | -0.130 | -0.114 | 0.444 | 0.127  | 0.014  | -0.208  | 0.301  | 0.029 | 0.26<br>1   | 0.22<br>8   | 0.28<br>2   | 0.18<br>3   | 0.28<br>5   | 0.25<br>9   | 0.277       | 0.16<br>9   |             | 0.48<br>6   | 0.51<br>6   |
|                  | P | 0.660  | 0.435  | 0.021  | 0.035  | 0.326  | 0.426  | 0.485  | 0.004 | 0.435  | 0.934  | 0.199   | 0.060  | 0.861 | 0.10<br>4   | 0.15<br>7   | 0.07<br>8   | 0.25<br>5   | 0.07<br>8   | 0.10<br>7   | 0.084       | 0.29<br>6   |             | 0.00<br>1   | 0.00<br>1   |
| IL-23            | r | 0.031  | -0.031 | -0.089 | 0.057  | -0.097 | -0.075 | -0.038 | 0.239 | -0.159 | 0.033  | 0.152   | -0.021 | 0.490 | 0.84<br>1   | 0.83<br>3   | 0.90<br>1   | 0.50<br>7   | 0.81<br>0   | 0.83<br>9   | 0.83<br>1   | 0.45<br>8   | 0.24<br>9   |             | 0.97<br>2   |
|                  | P | 0.849  | 0.848  | 0.585  | 0.726  | 0.551  | 0.646  | 0.817  | 0.137 | 0.328  | 0.838  | 0.348   | 0.898  | 0.001 | <0.0<br>001 | <0.0<br>001 | <0.0<br>001 | <0.0<br>001 | <0.0<br>001 | <0.0<br>001 | <0.00<br>01 | 0.00<br>3   | 0.12<br>2   |             | <0.0<br>001 |
| IL-33            | r | 0.045  | 0.065  | -0.106 | -0.024 | -0.032 | -0.222 | -0.060 | 0.151 | -0.075 | -0.053 | -0.167  | -0.078 | 0.075 | 0.99<br>0   | 0.86<br>7   | 0.98<br>2   | 0.62<br>1   | 0.94<br>6   | 0.99<br>2   | 0.99<br>1   | 0.54<br>7   | 0.28<br>5   | 0.81<br>2   |             |
|                  | P | 0.780  | 0.690  | 0.516  | 0.886  | 0.847  | 0.168  | 0.712  | 0.353 | 0.644  | 0.747  | 0.302   | 0.631  | 0.645 | <0.0<br>001 | <0.0<br>001 | <0.0<br>001 | <0.0<br>001 | <0.0<br>001 | <0.00<br>01 | <0.0<br>001 | 0.07<br>5   | <0.0<br>001 |             |             |

r: coeficiente de determinación de Pearson. Celda violeta: 1ºT vs. 1ºT. Celda anaranjada: 2ºT vs. 2ºT. P ≤ 0.05.

Tabla 13. Análisis de correlación de las concentraciones de citocinas en primera y segunda toma de muestra sanguínea de los pacientes tratados con Pembrolizumab más Docetaxel

| Variable           |   | IL-8<br>(CXCL8) | IP-10<br>(CXCL10) | Eotaxin<br>(CCL11) | TARC<br>(CCL17) | MCP-1<br>(CCL2) | RANTES<br>(CCL5) | MIP-1α<br>(CCL3) | MIG<br>(CXCL9) | ENA-78<br>(CXCL5) | MIP-3α<br>(CCL20) | GROα<br>(CXCL1) | I-TAC<br>(CXCL11) | MIP-1β<br>(CCL4) | IL-1β | IFN-α | IFN-γ | TN F-α | IL-6  | IL-10 | IL-12p70 | IL-17A | IL-18 | IL-23 | IL-33 |
|--------------------|---|-----------------|-------------------|--------------------|-----------------|-----------------|------------------|------------------|----------------|-------------------|-------------------|-----------------|-------------------|------------------|-------|-------|-------|--------|-------|-------|----------|--------|-------|-------|-------|
| IL-8<br>(CXCL8)    | r |                 | 0.144             | 0.561              | 0.322           | 0.471           | 0.148            | 0.361            | 0.181          | 0.091             | 0.156             | 0.430           | 0.580             | 0.711            | 0.262 | 0.203 | 0.229 | 0.367  | 0.270 | 0.232 | 0.230    | 0.247  | 0.674 | 0.233 | 0.239 |
|                    | P |                 | 0.545             | 0.010              | 0.166           | 0.036           | 0.535            | 0.117            | 0.446          | 0.702             | 0.511             | 0.059           | 0.007             | <0.0001          | 0.264 | 0.391 | 0.331 | 0.111  | 0.251 | 0.325 | 0.330    | 0.293  | 0.001 | 0.323 | 0.311 |
| IP-10<br>(CXCL10)  | r | 0.204           |                   | 0.610              | 0.265           | 0.260           | 0.148            | 0.068            | 0.947          | 0.024             | -0.026            | -0.086          | 0.235             | 0.111            | 0.165 | 0.118 | 0.165 | 0.149  | 0.135 | 0.165 | 0.165    | 0.163  | 0.280 | 0.164 | 0.169 |
|                    | P | 0.388           |                   | 0.004              | 0.258           | 0.268           | 0.534            | 0.776            | <0.0001        | 0.920             | 0.913             | 0.719           | 0.319             | 0.641            | 0.487 | 0.620 | 0.486 | 0.530  | 0.572 | 0.487 | 0.488    | 0.493  | 0.232 | 0.488 | 0.476 |
| Eotaxin<br>(CCL11) | r | -0.094          | -0.018            |                    | 0.244           | 0.595           | 0.314            | 0.222            | 0.646          | 0.104             | 0.132             | 0.183           | 0.595             | 0.586            | 0.436 | 0.465 | 0.418 | 0.499  | 0.406 | 0.415 | 0.413    | 0.405  | 0.652 | 0.417 | 0.418 |
|                    | P | 0.694           | 0.939             |                    | 0.299           | 0.006           | 0.178            | 0.347            | 0.002          | 0.663             | 0.579             | 0.440           | 0.006             | 0.007            | 0.054 | 0.039 | 0.067 | 0.025  | 0.076 | 0.069 | 0.070    | 0.076  | 0.002 | 0.068 | 0.066 |
| TARC<br>(CCL17)    | r | -0.112          | -0.359            | -0.068             |                 | 0.170           | -0.286           | 0.210            | 0.325          | 0.761             | -0.028            | 0.684           | 0.608             | 0.180            | 0.189 | 0.111 | 0.171 | 0.107  | 0.162 | 0.166 | 0.169    | 0.187  | 0.558 | 0.170 | 0.174 |
|                    | P | 0.639           | 0.120             | 0.777              |                 | 0.473           | 0.222            | 0.375            | 0.162          | <0.0001           | 0.908             | 0.001           | 0.004             | 0.448            | 0.424 | 0.636 | 0.471 | 0.653  | 0.496 | 0.484 | 0.476    | 0.431  | 0.011 | 0.474 | 0.464 |
| MCP-1<br>(CCL2)    | r | 0.073           | -0.026            | 0.866              | 0.026           |                 | 0.424            | 0.267            | 0.184          | 0.079             | 0.374             | 0.189           | 0.413             | 0.516            | 0.475 | 0.599 | 0.451 | 0.450  | 0.445 | 0.448 | 0.448    | 0.441  | 0.552 | 0.449 | 0.450 |
|                    | P | 0.760           | 0.912             | <0.0001            | 0.914           |                 | 0.063            | 0.254            | 0.437          | 0.739             | 0.105             | 0.426           | 0.071             | 0.020            | 0.034 | 0.005 | 0.046 | 0.047  | 0.049 | 0.047 | 0.048    | 0.052  | 0.012 | 0.047 | 0.047 |
| RANTES<br>(CCL5)   | r | 0.024           | 0.073             | 0.374              | -0.104          | 0.423           |                  | 0.141            | 0.152          | -0.302            | 0.218             | -0.241          | -0.115            | 0.424            | 0.225 | 0.324 | 0.225 | 0.157  | 0.240 | 0.228 | 0.227    | 0.192  | 0.038 | 0.227 | 0.222 |
|                    | P | 0.921           | 0.759             | 0.104              | 0.663           | 0.063           |                  | 0.553            | 0.521          | 0.196             | 0.356             | 0.306           | 0.629             | 0.062            | 0.340 | 0.163 | 0.339 | 0.508  | 0.308 | 0.333 | 0.335    | 0.416  | 0.875 | 0.336 | 0.347 |
| MIP-1α<br>(CCL3)   | r | -0.081          | -0.189            | 0.094              | 0.341           | -0.052          | -0.235           |                  | 0.058          | -0.097            | 0.013             | 0.312           | 0.308             | 0.382            | 0.151 | 0.089 | 0.144 | 0.225  | 0.151 | 0.146 | 0.148    | 0.141  | 0.358 | 0.154 | 0.152 |
|                    | P | 0.734           | 0.425             | 0.693              | 0.141           | 0.826           | 0.319            |                  | 0.809          | 0.683             | 0.958             | 0.180           | 0.186             | 0.097            | 0.525 | 0.710 | 0.543 | 0.340  | 0.524 | 0.539 | 0.534    | 0.554  | 0.122 | 0.516 | 0.523 |
| MIG<br>(CXCL9)     | r | 0.255           | 0.761             | -0.092             | -0.318          | -0.151          | -0.194           | -0.131           |                | 0.079             | -0.039            | -0.024          | 0.353             | 0.148            | 0.215 | 0.164 | 0.210 | 0.211  | 0.182 | 0.211 | 0.210    | 0.202  | 0.371 | 0.210 | 0.216 |
|                    | P | 0.278           | <0.0001           | 0.700              | 0.172           | 0.524           | 0.412            | 0.582            |                | 0.741             | 0.870             | 0.922           | 0.127             | 0.534            | 0.362 | 0.489 | 0.374 | 0.372  | 0.442 | 0.373 | 0.375    | 0.397  | 0.107 | 0.373 | 0.361 |
| ENA-78<br>(CXCL5)  | r | -0.224          | -0.134            | -0.034             | 0.539           | -0.083          | 0.187            | -0.101           | -0.125         |                   | -0.135            | 0.588           | 0.540             | -0.140           | 0.029 | 0.010 | 0.038 | 0.161  | 0.047 | 0.044 | 0.041    | 0.021  | 0.250 | 0.043 | 0.041 |
|                    | P | 0.343           | 0.572             | 0.888              | 0.014           | 0.727           | 0.430            | 0.671            | 0.600          |                   | 0.571             | 0.006           | 0.014             | 0.557            | 0.902 | 0.965 | 0.875 | 0.498  | 0.845 | 0.855 | 0.863    | 0.929  | 0.288 | 0.858 | 0.865 |
| MIP-3α<br>(CCL20)  | r | -0.025          | 0.006             | 0.041              | -0.135          | -0.151          | -0.320           | -0.115           | 0.069          | -0.174            |                   | 0.153           | -0.032            | 0.114            | 0.015 | 0.030 | 0.029 | 0.021  | 0.026 | 0.026 | 0.030    | 0.028  | 0.086 | 0.021 | 0.031 |
|                    | P | 0.918           | 0.978             | 0.865              | 0.569           | 0.526           | 0.168            | 0.630            | 0.773          | 0.462             |                   | 0.521           | 0.894             | 0.631            | 0.951 | 0.900 | 0.902 | 0.931  | 0.914 | 0.912 | 0.901    | 0.908  | 0.718 | 0.915 | 0.898 |
| GROα<br>(CXCL1)    | r | 0.146           | -0.305            | 0.643              | 0.295           | 0.658           | 0.308            | -0.019           | -0.338         | 0.314             | 0.025             |                 | 0.465             | 0.170            | 0.178 | 0.144 | 0.202 | 0.121  | 0.204 | 0.205 | 0.203    | 0.193  | 0.385 | 0.200 | 0.196 |
|                    | P | 0.540           | 0.190             | 0.002              | 0.207           | 0.002           | 0.187            | 0.935            | 0.145          | 0.177             | 0.916             |                 | 0.039             | 0.475            | 0.453 | 0.544 | 0.392 | 0.612  | 0.389 | 0.385 | 0.390    | 0.415  | 0.093 | 0.398 | 0.408 |
|                    | r | -0.094          | -0.178            | 0.298              | 0.167           | 0.139           | 0.211            | -0.058           | 0.054          | 0.658             | 0.018             | 0.381           |                   | 0.455            | 0.490 | 0.447 | 0.458 | 0.464  | 0.459 | 0.460 | 0.459    | 0.485  | 0.853 | 0.462 | 0.467 |

| I-TAC<br>(CXCL11<br>) | P | 0.694  | 0.452   | 0.201   | 0.481  | 0.559   | 0.372  | 0.807  | 0.823  | 0.002  | 0.940  | 0.098  |        | 0.044  | 0.02<br>8   | 0.04<br>8   | 0.04<br>2   | 0.04<br>0   | 0.04<br>2   | 0.04<br>1   | 0.04<br>2   | 0.03<br>0   | <0.0<br>001 | 0.04<br>0   | 0.03<br>8   |
|-----------------------|---|--------|---------|---------|--------|---------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| MIP-1β<br>(CCL4)      | r | 0.180  | -0.094  | 0.769   | -0.176 | 0.918   | 0.447  | -0.189 | -0.166 | -0.187 | -0.169 | 0.598  | 0.157  |        | 0.59<br>9   | 0.56<br>0   | 0.57<br>3   | 0.62<br>5   | 0.60<br>2   | 0.57<br>6   | 0.57<br>5   | 0.57<br>6   | 0.64<br>4   | 0.57<br>8   | 0.57<br>9   |
|                       | P | 0.447  | 0.693   | <0.0001 | 0.457  | <0.0001 | 0.048  | 0.426  | 0.484  | 0.430  | 0.476  | 0.005  | 0.509  |        | 0.00<br>5   | 0.01<br>0   | 0.00<br>8   | 0.00<br>3   | 0.00<br>5   | 0.00<br>8   | 0.00<br>8   | 0.00<br>8   | 0.00<br>2   | 0.00<br>8   | 0.00<br>7   |
| IL-1β                 | r | 0.018  | 0.035   | -0.143  | 0.002  | -0.030  | -0.323 | -0.085 | 0.162  | -0.102 | -0.074 | -0.289 | -0.063 | 0.104  |             | 0.94<br>6   | 0.99<br>0   | 0.93<br>2   | 0.99<br>6   | 0.99<br>8   | 0.99<br>8   | 0.99<br>7   | 0.62<br>8   | 0.99<br>8   | 0.99<br>9   |
|                       | P | 0.939  | 0.882   | 0.547   | 0.993  | 0.899   | 0.165  | 0.720  | 0.495  | 0.669  | 0.758  | 0.216  | 0.791  | 0.664  |             | <0.0<br>001 | <0.0<br>001 | <0.0<br>001 | <0.0<br>001 | <0.0<br>001 | <0.0<br>001 | <0.0<br>001 | 0.00<br>3   | <0.0<br>001 | <0.0<br>001 |
| IFN-α                 | r | 0.008  | -0.048  | 0.158   | -0.055 | 0.271   | -0.143 | -0.112 | 0.074  | -0.177 | -0.087 | 0.014  | -0.046 | 0.425  | 0.89<br>4   |             | 0.94<br>4   | 0.86<br>4   | 0.93<br>7   | 0.94<br>1   | 0.94<br>2   | 0.93<br>0   | 0.57<br>8   | 0.94<br>1   | 0.94<br>1   |
|                       | P | 0.974  | 0.842   | 0.505   | 0.818  | 0.247   | 0.547  | 0.639  | 0.757  | 0.456  | 0.715  | 0.953  | 0.848  | 0.062  | <0.0<br>001 |             | <0.0<br>001 | <0.0<br>001 | <0.0<br>001 | <0.0<br>001 | <0.0<br>001 | 0.00<br>8   | <0.0<br>001 | <0.0<br>001 |             |
| IFN-γ                 | r | -0.008 | 0.016   | -0.139  | -0.026 | -0.014  | -0.326 | -0.086 | 0.137  | -0.143 | -0.102 | -0.293 | -0.102 | 0.129  | 0.99<br>5   | 0.90<br>2   |             | 0.92<br>8   | 0.99<br>7   | 1.00<br>0   | 1.00<br>0   | 0.99<br>7   | 0.59<br>4   | 1.00<br>0   | 1.00<br>0   |
|                       | P | 0.974  | 0.948   | 0.559   | 0.914  | 0.953   | 0.160  | 0.717  | 0.564  | 0.549  | 0.670  | 0.209  | 0.669  | 0.589  | <0.0<br>001 | <0.0<br>001 |             | <0.0<br>001 | <0.0<br>001 | <0.0<br>001 | <0.0<br>001 | 0.00<br>6   | <0.0<br>001 | <0.0<br>001 |             |
| TNF-α                 | r | 0.337  | 0.998   | -0.383  | 0.186  | -0.220  | -0.615 | -0.100 | 0.326  | -0.037 | -0.017 | -0.176 | -0.111 | -0.125 | 0.67<br>2   | 0.50<br>8   | 0.67<br>5   |             | 0.92<br>1   | 0.92<br>7   | 0.92<br>7   | 0.92<br>3   | 0.62<br>2   | 0.92<br>8   | 0.93<br>1   |
|                       | P | 0.146  | <0.0001 | 0.096   | 0.433  | 0.351   | 0.004  | 0.675  | 0.161  | 0.876  | 0.942  | 0.457  | 0.643  | 0.600  | 0.00<br>1   | 0.02<br>2   | 0.00<br>1   |             | <0.0<br>001 | <0.0<br>001 | <0.0<br>001 | 0.00<br>3   | <0.0<br>001 | <0.0<br>001 |             |
| IL-6                  | r | 0.036  | 0.012   | -0.214  | -0.026 | -0.097  | -0.395 | -0.119 | 0.183  | -0.100 | -0.033 | -0.292 | -0.074 | 0.053  | 0.98<br>6   | 0.87<br>0   | 0.98<br>6   | 0.74<br>6   |             | 0.99<br>7   | 0.99<br>7   | 0.99<br>5   | 0.60<br>4   | 0.99<br>7   | 0.99<br>7   |
|                       | P | 0.881  | 0.958   | 0.365   | 0.913  | 0.684   | 0.085  | 0.616  | 0.441  | 0.674  | 0.891  | 0.211  | 0.756  | 0.825  | <0.0<br>001 | <0.0<br>001 | <0.0<br>001 | <0.0<br>001 |             | <0.0<br>001 | <0.0<br>001 | 0.00<br>5   | <0.0<br>001 | 0.00<br>0   |             |
| IL-10                 | r | -0.003 | 0.030   | -0.125  | -0.025 | -0.004  | -0.301 | -0.088 | 0.141  | -0.141 | -0.085 | -0.297 | -0.097 | 0.132  | 0.99<br>8   | 0.90<br>5   | 0.99<br>7   | 0.64<br>3   | 0.98<br>1   |             | 1.00<br>0   | 0.99<br>8   | 0.59<br>5   | 1.00<br>0   | 1.00<br>0   |
|                       | P | 0.990  | 0.902   | 0.601   | 0.916  | 0.987   | 0.198  | 0.711  | 0.554  | 0.553  | 0.720  | 0.203  | 0.685  | 0.579  | <0.0<br>001 | <0.0<br>001 | <0.0<br>001 | 0.00<br>2   | <0.0<br>001 |             | <0.0<br>001 | 0.00<br>6   | <0.0<br>001 | <0.0<br>001 |             |
| IL-12p70              | r | -0.027 | 0.034   | -0.111  | -0.029 | 0.004   | -0.290 | -0.085 | 0.137  | -0.140 | -0.083 | -0.299 | -0.095 | 0.136  | 0.99<br>6   | 0.90<br>7   | 0.99<br>5   | 0.62<br>0   | 0.97<br>6   | 0.99<br>9   |             | 0.99<br>8   | 0.59<br>4   | 1.00<br>0   | 1.00<br>0   |
|                       | P | 0.911  | 0.886   | 0.640   | 0.904  | 0.987   | 0.215  | 0.721  | 0.565  | 0.557  | 0.728  | 0.200  | 0.690  | 0.568  | <0.0<br>001 | <0.0<br>001 | <0.0<br>001 | 0.00<br>4   | <0.0<br>001 | <0.0<br>001 |             | <0.0<br>001 | 0.00<br>6   | <0.0<br>001 |             |
| IL-17A                | r | 0.410  | 0.109   | -0.297  | 0.101  | -0.210  | -0.545 | -0.077 | 0.363  | 0.011  | -0.031 | -0.112 | 0.008  | -0.079 | 0.66<br>8   | 0.50<br>4   | 0.66<br>4   | 0.92<br>3   | 0.72<br>3   | 0.63<br>4   | 0.61<br>3   |             | 0.60<br>6   | 0.99<br>8   | 0.99<br>8   |
|                       | P | 0.072  | 0.649   | 0.203   | 0.673  | 0.374   | 0.013  | 0.748  | 0.115  | 0.962  | 0.898  | 0.637  | 0.975  | 0.742  | 0.00<br>1   | 0.02<br>4   | 0.00<br>1   | <0.0<br>001 | <0.0<br>001 | 0.00<br>3   | 0.00<br>4   |             | 0.00<br>5   | <0.0<br>001 | <0.0<br>001 |
| IL-18                 | r | 0.255  | 0.146   | -0.162  | -0.127 | -0.120  | -0.279 | -0.130 | 0.157  | 0.038  | 0.098  | -0.189 | 0.084  | 0.077  | 0.57<br>2   | 0.45<br>1   | 0.58<br>0   | 0.60<br>1   | 0.61<br>0   | 0.55<br>2   | 0.53<br>9   | 0.70<br>3   |             | 0.59<br>8   | 0.60<br>3   |
|                       | P | 0.278  | 0.538   | 0.494   | 0.593  | 0.615   | 0.234  | 0.586  | 0.509  | 0.872  | 0.682  | 0.426  | 0.726  | 0.746  | 0.00<br>8   | 0.04<br>6   | 0.00<br>7   | 0.00<br>5   | 0.00<br>4   | 0.01<br>2   | 0.01<br>4   | 0.00<br>1   |             | 0.00<br>5   | 0.00<br>5   |
| IL-23                 | r | -0.012 | 0.025   | -0.127  | -0.017 | -0.004  | -0.300 | -0.089 | 0.138  | -0.135 | -0.094 | -0.302 | -0.099 | 0.131  | 0.99<br>7   | 0.90<br>2   | 0.99<br>8   | 0.65<br>0   | 0.98<br>1   | 1.00<br>0   | 0.99<br>9   | 0.63<br>6   | 0.55<br>8   |             | 1.00<br>0   |
|                       | P | 0.961  | 0.918   | 0.594   | 0.944  | 0.988   | 0.198  | 0.708  | 0.561  | 0.571  | 0.693  | 0.196  | 0.677  | 0.582  | <0.0<br>001 | <0.0<br>001 | <0.0<br>001 | 0.00<br>2   | <0.0<br>001 | <0.0<br>001 | <0.0<br>001 | 0.00<br>3   | 0.01<br>1   | <0.0<br>001 |             |
| IL-33                 | r | 0.019  | 0.033   | -0.147  | -0.040 | -0.018  | -0.328 | -0.089 | 0.164  | -0.157 | -0.101 | -0.308 | -0.109 | 0.126  | 0.99<br>5   | 0.89<br>7   | 0.99<br>9   | 0.68<br>5   | 0.98<br>7   | 0.99<br>7   | 0.99<br>4   | 0.67<br>3   | 0.58<br>5   | 0.99<br>7   |             |
|                       | P | 0.937  | 0.890   | 0.536   | 0.867  | 0.941   | 0.158  | 0.709  | 0.489  | 0.510  | 0.672  | 0.186  | 0.649  | 0.595  | <0.0<br>001 | <0.0<br>001 | <0.0<br>001 | 0.00<br>1   | <0.0<br>001 | <0.0<br>001 | <0.0<br>001 | 0.00<br>1   | 0.00<br>7   | <0.0<br>001 |             |

r: coeficiente de determinación de Pearson. Celda violeta: 1<sup>o</sup>T vs. 1<sup>o</sup>T. Celda anaranjada: 2<sup>o</sup>T vs. 2<sup>o</sup>T. P  $\leq$  0.05.

Tabla 14. Análisis de correlación de las concentraciones de citocinas en primera y segunda toma de muestra sanguínea de los pacientes tratados con Docetaxel

| Variable           |   | IL-8<br>(CXCL8) | IP-10<br>(CXCL10) | Eotaxin<br>(CCL11) | TARC<br>(CCL17) | MCP-1<br>(CCL2) | RANTES<br>(CCL5) | MIP-1α<br>(CCL3) | MIG<br>(CXCL9) | ENA-78<br>(CXCL5) | MIP-3α<br>(CCL20) | GROα<br>(CXCL1) | I-TAC<br>(CXCL11) | MIP-1β<br>(CCL4) | IL-1β | IFN-α  | IFN-γ  | TN-F-α | IL-6   | IL-10 | IL-12p70 | IL-17A | IL-18 | IL-23  | IL-33 |
|--------------------|---|-----------------|-------------------|--------------------|-----------------|-----------------|------------------|------------------|----------------|-------------------|-------------------|-----------------|-------------------|------------------|-------|--------|--------|--------|--------|-------|----------|--------|-------|--------|-------|
| IL-8<br>(CXCL8)    | r |                 |                   |                    |                 |                 |                  |                  |                |                   |                   |                 |                   |                  | 0.239 | 0.004  | 0.010  | 0.064  | 0.013  | 0.097 | -0.106   | 0.047  | 0.284 | 0.025  | 0.034 |
|                    | P |                 | -0.133            | 0.012              | 0.123           | 0.571           | 0.364            | 0.129            | -0.192         | 0.002             | -0.051            | 0.512           | 0.009             | 0.095            | 0.309 | 0.986  | 0.966  | 0.787  | 0.955  | 0.685 | 0.656    | 0.845  | 0.225 | 0.918  | 0.887 |
| IP-10<br>(CXCL10)  | r | 0.343           |                   | 0.485              | 0.075           | 0.304           | -0.068           | 0.164            | 0.445          | -0.165            | -0.086            | -0.038          | 0.266             | -0.077           | 0.420 | 0.088  | 0.122  | 0.147  | 0.061  | 0.019 | 0.032    | 0.012  | 0.086 | 0.012  | 0.012 |
|                    | P | 0.139           |                   | 0.030              | 0.752           | 0.193           | 0.777            | 0.490            | 0.049          | 0.486             | 0.719             | 0.874           | 0.257             | 0.747            | 0.065 | 0.711  | 0.607  | 0.537  | 0.799  | 0.753 | 0.892    | 0.960  | 0.964 | 0.720  | 0.961 |
| Eotaxin<br>(CCL11) | r | 0.021           | 0.265             |                    | -0.265          | 0.494           | -0.118           | 0.268            | -0.153         | 0.082             | -0.069            | -0.106          | -0.256            | -0.058           | 0.397 | 0.181  | 0.135  | 0.042  | 0.051  | 0.027 | 0.241    | 0.046  | 0.220 | 0.096  | 0.213 |
|                    | P | 0.931           | 0.259             |                    | 0.260           | 0.027           | 0.620            | 0.253            | 0.519          | 0.730             | 0.773             | 0.658           | 0.275             | 0.807            | 0.083 | 0.445  | 0.572  | 0.808  | 0.509  | 0.909 | 0.306    | 0.838  | 0.351 | 0.688  | 0.367 |
| TARC<br>(CCL17)    | r | 0.037           | -0.218            | 0.246              |                 | -0.211          | -0.049           | -0.068           | 0.591          | -0.096            | 0.111             | 0.358           | 0.887             | -0.074           | 0.227 | 0.160  | 0.019  | 0.033  | 0.068  | 0.062 | 0.140    | 0.146  | 0.532 | 0.020  | 0.162 |
|                    | P | 0.878           | 0.357             | 0.296              |                 | 0.373           | 0.839            | 0.776            | 0.006          | 0.688             | 0.641             | 0.121           | <0.0001           | 0.757            | 0.336 | 0.500  | 0.937  | 0.892  | 0.777  | 0.795 | 0.555    | 0.539  | 0.016 | 0.933  | 0.495 |
| MCP-1<br>(CCL2)    | r | 0.261           | 0.437             | 0.670              | 0.040           |                 | 0.420            | 0.458            | -0.278         | 0.174             | -0.092            | 0.283           | -0.232            | -0.007           | 0.157 | 0.085  | 0.105  | 0.048  | 0.011  | 0.021 | -0.201   | 0.059  | 0.181 | 0.076  | 0.089 |
|                    | P | 0.266           | 0.054             | 0.001              | 0.867           |                 | 0.065            | 0.042            | 0.234          | 0.463             | 0.701             | 0.226           | 0.324             | 0.977            | 0.508 | 0.721  | 0.659  | 0.841  | 0.963  | 0.349 | 0.395    | 0.804  | 0.446 | 0.750  | 0.708 |
| RANTES<br>(CCL5)   | r | -0.093          | -0.147            | -0.164             | -0.086          | -0.122          |                  | 0.115            | -0.253         | -0.206            | 0.266             | 0.233           | -0.060            | 0.294            | 0.112 | 0.289  | 0.211  | 0.285  | 0.3181 | 0.281 | -0.001   | 0.126  | 0.092 | 0.212  | 0.112 |
|                    | P | 0.697           | 0.535             | 0.489              | 0.717           | 0.607           |                  | 0.629            | 0.283          | 0.383             | 0.258             | 0.323           | 0.802             | 0.209            | 0.639 | 0.217  | 0.372  | 0.582  | 0.230  | 0.995 | 0.598    | 0.701  | 0.370 | 0.639  |       |
| MIP-1α<br>(CCL3)   | r | 0.725           | 0.257             | -0.011             | -0.104          | 0.138           | 0.173            |                  | 0.211          | 0.020             | 0.466             | 0.409           | -0.088            | 0.433            | 0.203 | 0.290  | 0.458  | 0.278  | 0.117  | 0.012 | 0.088    | 0.118  | 0.366 | 0.480  | 0.228 |
|                    | P | <0.0001         | 0.274             | 0.965              | 0.663           | 0.562           | 0.465            |                  | 0.372          | 0.933             | 0.038             | 0.073           | 0.712             | 0.056            | 0.392 | 0.216  | 0.042  | 0.236  | 0.623  | 0.713 | 0.621    | 0.112  | 0.032 | 0.334  |       |
| MIG<br>(CXCL9)     | r | 0.217           | 0.374             | 0.678              | 0.317           | 0.366           | 0.034            | 0.178            |                | -0.185            | 0.373             | 0.197           | 0.662             | 0.218            | 0.069 | 0.186  | 0.245  | 0.150  | 0.080  | 0.080 | 0.284    | 0.051  | 0.062 | 0.256  | 0.091 |
|                    | P | 0.359           | 0.104             | 0.001              | 0.173           | 0.112           | 0.887            | 0.452            |                | 0.434             | 0.106             | 0.406           | 0.001             | 0.773            | 0.432 | 0.298  | 0.297  | 0.538  | 0.737  | 0.224 | 0.830    | 0.794  | 0.277 | 0.703  |       |
| ENA-78<br>(CXCL5)  | r | -0.358          | 0.164             | -0.046             | 0.095           | 0.041           | 0.294            | -0.150           | 0.042          |                   | 0.017             | 0.259           | -0.193            | -0.023           | 0.001 | 0.096  | 0.038  | 0.124  | 0.057  | 0.09  | 0.048    | 0.229  | 0.184 | 0.001  | 0.076 |
|                    | P | 0.121           | 0.490             | 0.848              | 0.689           | 0.863           | 0.208            | 0.529            | 0.862          |                   | 0.944             | 0.271           | 0.414             | 0.922            | 0.995 | 0.687  | 0.873  | 0.604  | 0.611  | 0.840 | 0.331    | 0.438  | 0.996 | 0.711  |       |
| MIP-3α<br>(CCL20)  | r | 0.265           | -0.100            | -0.035             | 0.100           | -0.279          | 0.068            | 0.452            | 0.284          | -0.085            |                   | 0.487           | 0.041             | 0.911            | 0.333 | 0.765  | 0.938  | 0.223  | 0.013  | 0.072 | 0.528    | 0.342  | 0.119 | 0.937  | 0.072 |
|                    | P | 0.259           | 0.674             | 0.885              | 0.675           | 0.234           | 0.777            | 0.045            | 0.225          | 0.723             |                   | 0.029           | 0.865             | <0.0001          | 0.151 | <0.001 | <0.001 | 0.344  | 0.309  | 0.764 | 0.017    | 0.140  | 0.617 | <0.001 | 0.763 |
| GRO-α<br>(CXCL1)   | r | 0.391           | -0.026            | -0.141             | 0.022           | -0.147          | 0.185            | 0.232            | 0.134          | -0.066            | 0.576             |                 | 0.266             | 0.564            | 0.273 | 0.329  | 0.572  | 0.261  | 0.072  | 0.034 | 0.145    | <0.001 | 0.293 | 0.551  | 0.189 |
|                    | P | 0.089           | 0.913             | 0.554              | 0.927           | 0.538           | 0.435            | 0.324            | 0.574          | 0.781             | 0.008             |                 | 0.257             | 0.010            | 0.244 | 0.157  | 0.008  | 0.265  | 0.762  | 0.574 | 0.542    | 0.999  | 0.210 | 0.012  | 0.426 |

|                   |   |        |        |         |        |        |        |        |         |        |         |         |        |         |        |        |        |       |       |       |        |       |       |        |        |
|-------------------|---|--------|--------|---------|--------|--------|--------|--------|---------|--------|---------|---------|--------|---------|--------|--------|--------|-------|-------|-------|--------|-------|-------|--------|--------|
| I-TAC<br>(CXCL11) | r | -0.075 | -0.107 | 0.417   | 0.318  | 0.180  | -0.131 | -0.156 | 0.584   | 0.030  | 0.030   | 0.011   |        | -0.128  | 0.280  | 0.167  | 0.077  | 0.038 | 0.026 | 0.099 | 0.107  | 0.157 | 0.627 | 0.083  | 0.136  |
|                   | P | 0.754  | 0.654  | 0.067   | 0.171  | 0.447  | 0.582  | 0.510  | 0.007   | 0.900  | 0.899   | 0.962   |        | 0.591   | 0.232  | 0.482  | 0.748  | 0.875 | 0.913 | 0.677 | 0.654  | 0.508 | 0.003 | 0.728  | 0.567  |
| MIP-1β<br>(CCL4)  | r | 0.465  | -0.107 | -0.008  | 0.194  | -0.253 | 0.303  | 0.448  | 0.451   | -0.134 | 0.819   | 0.765   | 0.117  |         | 0.512  | 0.865  | 0.960  | 0.138 | 0.058 | 0.051 | 0.600  | 0.377 | 0.160 | 0.959  | 0.042  |
|                   | P | 0.039  | 0.652  | 0.973   | 0.413  | 0.281  | 0.194  | 0.048  | 0.046   | 0.574  | <0.0001 | <0.0001 | 0.622  |         | 0.021  | <0.001 | <0.001 | 0.562 | 0.806 | 0.659 | 0.005  | 0.101 | 0.501 | <0.001 | 0.860  |
| IL-1β             | r | 0.062  | -0.188 | -0.223  | 0.374  | -0.287 | 0.027  | 0.087  | 0.025   | 0.069  | 0.290   | 0.339   | -0.130 | 0.382   |        | 0.628  | 0.466  | 0.024 | 0.012 | 0.114 | 0.428  | 0.243 | 0.011 | 0.452  | 0.309  |
|                   | P | 0.794  | 0.426  | 0.345   | 0.104  | 0.220  | 0.912  | 0.714  | 0.917   | 0.771  | 0.214   | 0.144   | 0.584  | 0.096   |        | 0.003  | 0.038  | 0.919 | 0.616 | 0.632 | 0.060  | 0.303 | 0.963 | 0.046  | 0.186  |
| IFN-α             | r | 0.047  | -0.124 | -0.109  | 0.118  | -0.252 | 0.437  | 0.193  | 0.346   | 0.168  | 0.551   | 0.410   | 0.033  | 0.647   | 0.572  |        | 0.843  | 0.037 | 0.097 | 0.233 | 0.748  | 0.202 | 0.114 | 0.860  | 0.342  |
|                   | P | 0.843  | 0.601  | 0.649   | 0.622  | 0.283  | 0.054  | 0.415  | 0.135   | 0.479  | 0.012   | 0.072   | 0.890  | 0.002   | 0.008  |        | <0.001 | 0.878 | 0.684 | 0.323 | <0.001 | 0.392 | 0.632 | <0.001 | 0.140  |
| IFN-γ             | r | 0.259  | -0.200 | -0.134  | 0.308  | -0.363 | 0.256  | 0.211  | 0.354   | -0.033 | 0.715   | 0.693   | 0.085  | 0.883   | 0.642  | 0.811  |        | 0.201 | 0.128 | 0.093 | 0.595  | 0.280 | 0.079 | 0.995  | 0.008  |
|                   | P | 0.271  | 0.397  | 0.574   | 0.186  | 0.116  | 0.275  | 0.372  | 0.125   | 0.889  | <0.0001 | 0.001   | 0.722  | <0.0001 | 0.002  | <0.001 |        | 0.396 | 0.591 | 0.697 | 0.006  | 0.231 | 0.740 | <0.001 | 0.972  |
| TNF-α             | r | 0.076  | -0.232 | -0.304  | 0.596  | -0.224 | -0.085 | -0.086 | -0.211  | 0.038  | 0.121   | 0.326   | -0.183 | 0.204   | 0.782  | 0.217  | 0.462  | 0.246 | 0.634 | -     | 0.288  | 0.18  | 0.103 | 0.193  | 0.222  |
|                   | P | 0.749  | 0.325  | 0.192   | 0.006  | 0.342  | 0.722  | 0.719  | 0.371   | 0.874  | 0.612   | 0.160   | 0.439  | 0.389   | <0.001 | 0.358  | 0.040  | 0.295 | 0.003 | 0.312 | 0.219  | 0.667 | 0.416 | 0.348  |        |
| IL-6              | r | -0.077 | 0.066  | -0.210  | 0.158  | -0.030 | 0.299  | -0.232 | 0.028   | 0.086  | 0.072   | 0.288   | -0.057 | 0.188   | 0.432  | 0.236  | 0.362  | 0.440 |       | 0.038 | 0.304  | 0.036 | 0.186 | 0.102  | 0.515  |
|                   | P | 0.747  | 0.781  | 0.374   | 0.505  | 0.901  | 0.201  | 0.325  | 0.906   | 0.718  | 0.763   | 0.218   | 0.812  | 0.428   | 0.057  | 0.316  | 0.117  | 0.052 | 0.875 | 0.880 | 0.193  | 0.881 | 0.432 | 0.667  | 0.020  |
| IL-10             | r | 0.130  | -0.285 | -0.274  | 0.396  | -0.369 | 0.072  | -0.045 | 0.123   | 0.114  | 0.406   | 0.461   | -0.107 | 0.591   | 0.780  | 0.673  | 0.810  | 0.640 | 0.402 |       | 0.003  | 0.156 | 0.099 | 0.121  | 0.049  |
|                   | P | 0.586  | 0.224  | 0.243   | 0.084  | 0.110  | 0.764  | 0.850  | 0.607   | 0.631  | 0.075   | 0.041   | 0.654  | 0.006   | <0.001 | 0.001  | <0.001 | 0.002 | 0.079 |       | 0.990  | 0.512 | 0.678 | 0.613  | 0.838  |
| IL-12p70          | r | -0.029 | 0.281  | -0.027  | -0.018 | -0.067 | 0.223  | -0.070 | 0.349   | 0.558  | 0.073   | 0.107   | 0.030  | 0.226   | 0.433  | 0.634  | 0.452  | 0.087 | 0.320 | 0.542 |        | 0.271 | 0.041 | 0.611  | 0.713  |
|                   | P | 0.902  | 0.231  | 0.909   | 0.940  | 0.778  | 0.345  | 0.771  | 0.131   | 0.011  | 0.760   | 0.653   | 0.900  | 0.338   | 0.057  | 0.003  | 0.045  | 0.717 | 0.169 | 0.014 |        | 0.249 | 0.864 | 0.004  | <0.001 |
| IL-17A            | r | 0.035  | -0.222 | -0.177  | 0.430  | -0.300 | -0.178 | -0.021 | -0.208  | 0.077  | 0.291   | 0.114   | -0.257 | 0.191   | 0.755  | 0.252  | 0.347  | 0.699 | 0.280 | 0.590 | 0.199  |       | 0.163 | 0.275  | 0.133  |
|                   | P | 0.885  | 0.347  | 0.456   | 0.058  | 0.199  | 0.454  | 0.929  | 0.380   | 0.746  | 0.214   | 0.633   | 0.274  | 0.420   | <0.001 | 0.284  | 0.133  | 0.001 | 0.232 | 0.006 | 0.400  |       | 0.493 | 0.240  | 0.576  |
| IL-18             | r | -0.214 | 0.195  | 0.792   | 0.491  | 0.461  | -0.044 | -0.231 | 0.778   | 0.184  | -0.022  | -0.198  | 0.649  | 0.003   | 0.122  | 0.106  | 0.015  | 0.146 | 0.036 | 0.110 | 0.141  | 0.183 |       | 0.092  | 0.006  |
|                   | P | 0.366  | 0.410  | <0.0001 | 0.028  | 0.041  | 0.852  | 0.327  | <0.0001 | 0.437  | 0.926   | 0.403   | 0.002  | 0.991   | 0.609  | 0.657  | 0.949  | 0.538 | 0.879 | 0.644 | 0.554  | 0.440 | 0.699 | 0.980  |        |
| IL-23             | r | 0.314  | -0.191 | -0.036  | 0.147  | -0.309 | 0.263  | 0.358  | 0.429   | -0.197 | 0.857   | 0.700   | 0.155  | 0.954   | 0.401  | 0.735  | 0.910  | 0.166 | 0.217 | 0.603 | 0.232  | 0.163 | 0.027 |        | 0.023  |
|                   | P | 0.178  | 0.421  | 0.880   | 0.535  | 0.184  | 0.263  | 0.121  | 0.059   | 0.406  | <0.0001 | 0.001   | 0.514  | <0.0001 | 0.080  | <0.001 | <0.001 | 0.484 | 0.358 | 0.005 | 0.325  | 0.492 | 0.911 |        | 0.922  |
| IL-33             | r | -0.138 | 0.133  | -0.129  | 0.228  | -0.127 | 0.113  | -0.190 | 0.085   | 0.562  | -0.078  | -0.037  | -0.133 | 0.019   | 0.655  | 0.517  | 0.350  | 0.443 | 0.369 | 0.605 | 0.868  | 0.535 | 0.068 | 0.013  |        |
|                   | P | 0.562  | 0.577  | 0.587   | 0.333  | 0.593  | 0.634  | 0.422  | 0.723   | 0.010  | 0.744   | 0.878   | 0.577  | 0.936   | 0.002  | 0.020  | 0.130  | 0.050 | 0.009 | 0.005 | <0.001 | 0.015 | 0.776 | 0.957  |        |

r: coeficiente de determinación de Pearson. Celda violeta: 1ºT vs. 1ºT. Celda anaranjada: 2ºT vs. 2ºT. P ≤ 0.05.

**Análisis de correlación de los valores de biometría hemática con la concentración de citocinas en la primera y segunda toma de muestra sanguínea por grupo de tratamiento**

Entre los valores de concentración de citocinas y de biometría hemática, existieron las siguientes asociaciones en primera toma de muestra sanguínea (tabla 15):

- Total de pacientes (15 eventos de correlación):
  - IL-8: monocitos y eosinófilos.
  - IP-10: plaquetas (correlación negativa).
  - Eotaxin: eosinófilos, RPL y RNL (todas correlaciones negativas).
  - MIP-1 $\alpha$ : albúmina.
  - MIP-3 $\alpha$ : plaquetas y albúmina (correlación negativa).
  - GRO $\alpha$ : plaquetas y linfocitos.
  - MIP-1 $\beta$ : RPL (correlación negativa).
  - TNF- $\alpha$ : neutrófilos, monocitos y eosinófilos.
- Pembrolizumab + DTX (12 eventos de correlación):
  - IL-8: linfocitos.
  - Eotaxin: linfocitos.
  - TARC: eosinófilos y ACE.
  - MCP-1: linfocitos.
  - MIP-1 $\alpha$ : albúmina.
  - MIP-3 $\alpha$ : plaquetas y albúmina (correlación negativa).
  - GRO $\alpha$ : linfocitos.
  - MIP-1 $\beta$ : linfocitos y RPL.
  - TNF- $\alpha$ : monocitos y eosinófilos.
- DTX (6 eventos de correlación):
  - MIP-3 $\alpha$ : linfocitos.
  - IFN- $\gamma$ : plaquetas.
  - TNF- $\alpha$ : neutrófilos.

- IL-10: neutrófilos.
- IL-12p70: RNL.
- IL-33: RNL.

Las citocinas RANTES, MIG, ENA-78, I-TAC, IL-1 $\beta$ , IFN- $\alpha$ , IL-6, IL-17A, IL-18 e IL-23 no tuvieron correlación en ningún grupo con alguna variable de biometría hemática en esta condición.

En segunda toma de muestra sanguínea, las correlaciones existieron en (tabla 16):

- Total de pacientes (7 eventos de correlación):
  - Eotaxin: RNL (correlación negativa).
  - TARC: linfocitos (correlación negativa), RPL, RNL y albúmina (correlación negativa).
  - MCP-1: albúmina.
  - MIP-3 $\alpha$ : plaquetas.
  - MIP-1 $\beta$ : neutrófilos y ACE.
- Pembrolizumab + DTX (2 eventos de correlación):
  - ENA-78: RPL.
  - MIP-3 $\alpha$ : plaquetas.
- DTX (19 eventos de correlación):
  - Eotaxin: RPL (correlación negativa), RNL y albúmina.
  - TARC: RPL.
  - MCP-1: albúmina y ACE (correlación negativa).
  - MIP-3 $\alpha$ : linfocitos y basófilos.
  - I-TAC: RPL y albúmina (correlación negativa).
  - MIP-1 $\beta$ : basófilos.
  - IFN- $\gamma$ : linfocitos y basófilos.
  - IL-6: plaquetas.
  - IL-18: plaquetas, monocitos y albúmina (correlación negativa).
  - IL-23: linfocitos y basófilos.

Las citocinas IL-8, IP-10, RANTES, MIP-1 $\alpha$ , MIG, GRO $\alpha$ , MIP-1 $\beta$ , IL-1 $\beta$ , IFN- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ , IL-10, IL-12p70, IL-17A e IL-33 no tuvieron correlación en ningún grupo con alguna variable de biometría hemática en esta condición.

Tabla 15. Análisis de correlación de los valores de biometría hemática con las concentraciones de citocinas de la 1T

| Variable        |   | (x10 <sup>9</sup> células/L) |              |       |             |              |       |            |              |       |           |              |       |             |              |       |           |              |       | RPL    |              |       | RNL    |              |         | Albúmina (g/dL) |              |       | ACE (ng/mL) |        |       |
|-----------------|---|------------------------------|--------------|-------|-------------|--------------|-------|------------|--------------|-------|-----------|--------------|-------|-------------|--------------|-------|-----------|--------------|-------|--------|--------------|-------|--------|--------------|---------|-----------------|--------------|-------|-------------|--------|-------|
|                 |   | Plaquetas                    |              |       | Neutrófilos |              |       | Linfocitos |              |       | Monocitos |              |       | Eosinófilos |              |       | Basófilos |              |       |        |              |       |        |              |         |                 |              |       |             |        |       |
|                 |   | Tot al                       | Pemb ro+ DTX | DT X  | Tot al      | Pemb ro+ DTX | DT X  | Tot al     | Pemb ro+ DTX | DT X  | Tot al    | Pemb ro+ DTX | DT X  | Tot al      | Pemb ro+ DTX | DT X  | Tot al    | Pemb ro+ DTX | DT X  | Tot al | Pemb ro+ DTX | DTX   | Tot al | Pemb ro+ DTX | DT X    | Tot al          | Pemb ro+ DTX | DT X  |             |        |       |
| IL-8 (CXCL8)    | r | 0.162                        | 0.256        | 0.128 | 0.230       | 0.310        | 0.076 | 0.022      | 0.998        | 0.185 | 0.394     | 0.433        | 0.161 | 0.336       | 0.347        | 0.331 | 0.022     | -0.095       | 0.045 | 0.020  | 0.112        | 0.171 | 0.332  | 0.300        | 0.110   | 0.094           | 0.177        | 0.328 | 0.090       | -0.150 | 0.050 |
|                 | P | 0.319                        | 0.275        | 0.591 | 0.153       | 0.184        | 0.749 | 0.893      | < 0.0001     | 0.434 | 0.057     | 0.497        | 0.092 | 0.034       | 0.134        | 0.154 | 0.892     | 0.692        | 0.850 | 0.901  | 0.639        | 0.471 | 0.416  | 0.198        | 0.643   | 0.565           | 0.455        | 0.158 | 0.583       | 0.529  | 0.834 |
| IP-10 (CXCL10)  | r | -0.3                         | -0.381       | 0.350 | 0.144       | -0.271       | 0.086 | 0.123      | -0.333       | 0.144 | 0.187     | -0.296       | 0.022 | 0.147       | -0.243       | 0.084 | 0.118     | -0.262       | 0.297 | 0.036  | 0.107        | 0.178 | 0.052  | 0.031        | 0.135   | 0.126           | -0.102       | 0.232 | 0.255       | -0.278 | 0.266 |
|                 | P | 0.020                        | 0.097        | 0.130 | 0.376       | 0.247        | 0.719 | 0.451      | 0.152        | 0.544 | 0.247     | 0.206        | 0.928 | 0.366       | 0.302        | 0.726 | 0.469     | 0.265        | 0.204 | 0.828  | 0.654        | 0.453 | 0.751  | 0.898        | 0.570   | 0.438           | 0.669        | 0.324 | 0.113       | 0.235  | 0.258 |
| Eotaxin (CCL11) | r | 0.183                        | -0.032       | 0.329 | 0.204       | -0.174       | 0.243 | 0.311      | 0.483        | 0.169 | 0.210     | -0.111       | 0.440 | 0.327       | -0.325       | 0.380 | 0.155     | -0.248       | 0.216 | 0.333  | -0.334       | 0.333 | 0.333  | -0.424       | 0.263   | 0.163           | 0.138        | 0.179 | 0.110       | -0.114 | 0.113 |
|                 | P | 0.259                        | 0.892        | 0.157 | 0.206       | 0.463        | 0.379 | 0.515      | 0.031        | 0.475 | 0.949     | 0.640        | 0.052 | 0.239       | 0.163        | 0.988 | 0.339     | 0.291        | 0.360 | 0.015  | 0.515        | 0.336 | 0.063  | 0.063        | 0.262   | 0.314           | 0.562        | 0.450 | 0.632       | 0.013  | 0.344 |
| TARC (CCL17)    | r | 0.136                        | 0.087        | 0.141 | 0.215       | 0.264        | 0.199 | 0.189      | 0.227        | 0.170 | 0.117     | 0.068        | 0.254 | 0.331       | 0.448        | 0.097 | 0.004     | -0.127       | 0.033 | 0.113  | -0.129       | 0.166 | 0.065  | -0.131       | 0.063   | 0.118           | 0.174        | 0.119 | 0.460       | 0.164  |       |
|                 | P | 0.403                        | 0.714        | 0.552 | 0.182       | 0.261        | 0.400 | 0.242      | 0.336        | 0.474 | 0.470     | 0.776        | 0.280 | 0.152       | 0.048        | 0.684 | 0.978     | 0.593        | 0.889 | 0.413  | 0.589        | 0.485 | 0.688  | 0.582        | 0.792   | 0.470           | 0.464        | 0.617 | 0.063       | 0.041  | 0.490 |
| MCP-1 (CCL2)    | r | 0.194                        | -0.149       | 0.299 | 0.059       | -0.098       | 0.005 | 0.288      | 0.518        | 0.030 | 0.062     | -0.041       | 0.090 | 0.182       | -0.191       | 0.145 | 0.024     | -0.203       | 0.055 | 0.366  | -0.336       | 0.163 | 0.152  | -0.320       | <0.0001 | 0.176           | 0.285        | 0.035 | 0.128       | -0.117 | 0.148 |
|                 | P | 0.229                        | 0.532        | 0.200 | 0.716       | 0.681        | 0.983 | 0.072      | 0.019        | 0.901 | 0.703     | 0.863        | 0.706 | 0.261       | 0.420        | 0.541 | 0.883     | 0.390        | 0.818 | 0.143  | 0.148        | 0.492 | 0.350  | 0.169        | 0.998   | 0.278           | 0.224        | 0.884 | 0.430       | 0.623  | 0.534 |
| RANTES (CCL5)   | r | 0.112                        | -0.100       | 0.128 | 0.171       | -0.204       | 0.132 | 0.062      | 0.260        | 0.100 | 0.068     | -0.208       | 0.161 | 0.097       | -0.243       | 0.171 | 0.099     | -0.190       | 0.146 | 0.083  | -0.178       | 0.012 | 0.136  | -0.351       | 0.018   | 0.040           | 0.208        | 0.128 | 0.061       | -0.059 | 0.063 |
|                 | P | 0.491                        | 0.675        | 0.591 | 0.293       | 0.387        | 0.509 | 0.702      | 0.269        | 0.674 | 0.677     | 0.378        | 0.496 | 0.551       | 0.303        | 0.472 | 0.543     | 0.423        | 0.538 | 0.909  | 0.453        | 0.611 | 0.404  | 0.129        | 0.939   | 0.807           | 0.378        | 0.589 | 0.707       | 0.805  | 0.791 |
| MIP-1α (CCL3)   | r | 0.036                        | 0.001        | 0.169 | 0.151       | 0.228        | 0.140 | 0.054      | 0.031        | 0.064 | 0.106     | 0.090        | 0.001 | 0.120       | -0.169       | 0.208 | 0.037     | -0.053       | 0.072 | 0.311  | -0.108       | 0.446 | 0.002  | 0.106        | 0.367   | 0.317           | 0.459        | 0.125 | 0.045       | -0.057 | 0.134 |
|                 | P | 0.824                        | 0.997        | 0.476 | 0.352       | 0.333        | 0.557 | 0.743      | 0.896        | 0.114 | 0.514     | 0.707        | 0.673 | 0.62        | 0.475        | 0.380 | 0.21      | 0.824        | 0.63  | 0.421  | 0.651        | 0.49  | 0.92   | 0.656        | 0.111   | 0.046           | 0.042        | 0.000 | 0.783       | 0.812  | 0.574 |
| MIG (CXCL9)     | r | 0.087                        | -0.099       | 0.053 | 0.008       | 0.051        | 0.053 | 0.055      | -0.168       | 0.304 | 0.013     | 0.102        | 0.224 | 0.051       | -0.003       | 0.199 | 0.039     | 0.085        | 0.042 | 0.162  | -0.062       | 0.258 | 0.028  | 0.116        | 0.148   | 0.155           | -0.180       | 0.154 | 0.264       | -0.262 | 0.286 |
|                 | P | 0.592                        | 0.679        | 0.825 | 0.963       | 0.832        | 0.823 | 0.737      | 0.479        | 0.193 | 0.935     | 0.668        | 0.341 | 0.753       | 0.991        | 0.00  | 0.812     | 0.723        | 0.861 | 0.19   | 0.794        | 0.272 | 0.866  | 0.625        | 0.535   | 0.338           | 0.446        | 0.516 | 0.265       | 0.221  |       |
| ENA-78 (CXCL5)  | r | 0.026                        | 0.016        | 0.081 | 0.153       | 0.122        | 0.190 | 0.070      | -0.037       | 0.161 | 0.064     | -0.035       | 0.261 | 0.260       | 0.342        | 0.137 | 0.011     | -0.143       | 0.007 | 0.022  | 0.071        | 0.029 | 0.086  | -0.059       | 0.193   | 0.038           | 0.035        | 0.053 | 0.072       | 0.256  | 0.131 |
|                 | P | 0.873                        | 0.947        | 0.735 | 0.45        | 0.608        | 0.423 | 0.667      | 0.876        | 0.497 | 0.697     | 0.885        | 0.267 | 0.105       | 0.139        | 0.565 | 0.945     | 0.547        | 0.976 | 0.892  | 0.767        | 0.904 | 0.597  | 0.803        | 0.416   | 0.817           | 0.882        | 0.825 | 0.276       | 0.581  |       |

| MIP-3α<br>(CCL20) | r | 0.3<br>34 | 0.487  | 0.3<br>74 | -         | -             | -         | -         | 0.0<br>97    | -0.130<br>0.0 | 0.0<br>11       | 0.028         | 0.5<br>57     | -               | -             | -             | -               | -             | -              | 0.0<br>97      | -0.130<br>0.5 | 0.0<br>11       | 0.028           | 0.5<br>57      | -              | -              | -               | -             | -              | -              | -               | -             | -         | -         | - | - | - | - |
|-------------------|---|-----------|--------|-----------|-----------|---------------|-----------|-----------|--------------|---------------|-----------------|---------------|---------------|-----------------|---------------|---------------|-----------------|---------------|----------------|----------------|---------------|-----------------|-----------------|----------------|----------------|----------------|-----------------|---------------|----------------|----------------|-----------------|---------------|-----------|-----------|---|---|---|---|
|                   |   | 0.0<br>35 | 0.030  | 0.1<br>04 | 0.0<br>53 | 0.586<br>0.63 | 0.5<br>54 | 0.908     | 0.0<br>11    | 0.1<br>53     | -0.226<br>0.338 | 0.1<br>76     | 0.1<br>30     | -0.202<br>0.392 | 0.0<br>23     | 0.0<br>13     | -0.107<br>0.655 | 0.0<br>02     | 0.0<br>92      | 0.082<br>0.733 | 0.2<br>59     | 0.1<br>76       | -0.114<br>0.632 | 0.33<br>1      | 0.15<br>3      | 0.4<br>08      | -0.640<br>0.002 | 0.1<br>82     | -              | 0.1<br>40      | -0.250<br>0.287 | 0.2<br>18     | 0.3<br>57 |           |   |   |   |   |
| GRO-α<br>(CXCL1)  | r | 0.3<br>25 | 0.241  | 0.4<br>30 | 0.2<br>64 | 0.400<br>0.1  | 0.1<br>55 | 0.5<br>07 | 0.637        | 0.4<br>39     | 0.1<br>63       | 0.187<br>0.1  | 0.2<br>66     | 0.265<br>0.1    | 0.3<br>01     | 0.0<br>45     | -0.181<br>0.26  | 0.0<br>91     | -0.381<br>0.15 | 0.2<br>15      | 0.1<br>34     | -0.084<br>0.724 | 0.14<br>2       | 0.55<br>0      | 0.0<br>68      | 0.270<br>0.250 | 0.1<br>19       | -             | 0.0<br>50      | 0.116<br>0.627 | 0.0<br>19       | 0.0<br>38     |           |           |   |   |   |   |
|                   |   | 0.0<br>41 | 0.306  | 0.0<br>58 | 0.1<br>00 | 0.081<br>0.15 | 0.5<br>15 | 0.003     | 0.0<br>53    | 0.3<br>15     | 0.429<br>0.61   | 0.6<br>61     | 0.0<br>98     | 0.259<br>0.98   | 0.1<br>98     | 0.7<br>84     | 0.445<br>0.15   | 0.9<br>69     | 0.0<br>69      | 0.098<br>0.63  | 0.3<br>63     | 0.4<br>09       | 0.724<br>0.724  | 0.55<br>0      | 0.6<br>75      | 0.250<br>0.250 | 0.6<br>19       | 0.7<br>58     | 0.627<br>0.627 | 0.9<br>38      |                 |               |           |           |   |   |   |   |
| I-TAC<br>(CXCL11) | r | 0.1<br>82 | 0.132  | 0.3<br>24 | 0.0<br>33 | 0.065<br>0.0  | -         | 0.2<br>36 | 0.294        | 0.2<br>08     | 0.1<br>25       | 0.082<br>0.1  | 0.1<br>79     | 0.0<br>55       | 0.076<br>0.0  | 0.0<br>44     | -0.033<br>0.1   | 0.1<br>28     | 0.0<br>99      | -0.284<br>0.1  | 0.1<br>56     | -               | -0.239<br>0.02  | 0.02<br>3      | 0.0<br>52      | -0.001<br>0.1  | 0.1<br>76       | -             | 0.0<br>61      | 0.015<br>0.0   | 0.2<br>21       | 0.2<br>21     |           |           |   |   |   |   |
|                   |   | 0.2<br>61 | 0.579  | 0.1<br>63 | 0.8<br>42 | 0.786<br>0.9  | 0.9<br>32 | 0.1<br>43 | 0.209        | 0.3<br>78     | 0.4<br>43       | 0.731<br>0.4  | 0.4<br>50     | 0.7<br>37       | 0.749         | 0.8<br>50     | 0.7<br>86       | 0.891<br>0.5  | 0.5<br>92      | 0.5<br>44      | 0.225<br>0.5  | 0.5<br>10       | 0.3<br>86       | 0.311          | 0.92<br>5      | 0.7<br>52      | 0.997           | 0.4<br>57     | 0.7<br>07      | 0.950          | 0.3<br>49       | 0.3<br>49     |           |           |   |   |   |   |
| MIP-1β<br>(CCL4)  | r | 0.1<br>68 | -0.108 | 0.3<br>64 | -         | -0.121<br>0.0 | 0.0<br>32 | 0.4<br>79 | 0.566        | 0.4<br>24     | -               | 0.0<br>0.013  | 0.0<br>37     | 0.0<br>94       | -0.245<br>0.1 | 0.1<br>03     | 0.0<br>72       | -0.184<br>0.0 | 0.0<br>93      | -              | -0.400<br>0.2 | 0.2<br>69       | -               | -0.339<br>0.25 | 0.25<br>6      | 0.0<br>36      | 0.334           | 0.1<br>89     | 0.1<br>13      | -0.155<br>0.0  | 0.0<br>80       | 0.0<br>80     |           |           |   |   |   |   |
|                   |   | 0.3<br>01 | 0.651  | 0.1<br>15 | 0.8<br>13 | 0.612<br>0.95 | 0.8<br>95 | 0.0<br>02 | 0.009        | 0.0<br>62     | 0.9<br>46       | 0.957<br>0.78 | 0.8<br>78     | 0.5<br>62       | 0.298         | 0.6<br>65     | 0.6<br>58       | 0.438<br>0.96 | 0.6<br>96      | 0.080          | 0.2<br>51     | 0.2<br>78       | 0.144           | 0.27<br>6      | 0.8<br>27      | 0.150          | 0.4<br>24       | 0.4<br>86     | 0.514          | 0.7<br>37      | 0.7<br>37       |               |           |           |   |   |   |   |
| IL-1β             | r | 0.0<br>34 | -0.060 | 0.2<br>53 | -         | -0.077<br>0.3 | 0.3<br>07 | 0.0<br>16 | 0.050        | 0.1<br>00     | 0.0<br>57       | 0.040<br>0.0  | 0.0<br>09     | 0.0<br>35       | -0.052<br>0.0 | 0.0<br>19     | -               | 0.0<br>46     | -0.031<br>0.1  | 0.1<br>71      | -             | -0.178<br>0.0   | 0.0<br>09       | -              | -0.165<br>0.14 | 0.14<br>0      | 0.0<br>18       | -0.057<br>0.0 | 0.0<br>54      | -              | 0.0<br>79       | -0.093<br>0.2 | 0.2<br>26 | 0.2<br>26 |   |   |   |   |
|                   |   | 0.8<br>37 | 0.801  | 0.2<br>82 | 0.8<br>46 | 0.748<br>0.1  | 0.1<br>87 | 0.9<br>20 | 0.833        | 0.6<br>74     | 0.7<br>28       | 0.867<br>0.71 | 0.9<br>71     | 0.8<br>29       | 0.827         | 0.9<br>37     | 0.7<br>76       | 0.898<br>0.71 | 0.4<br>45      | 0.4<br>56      | 0.452<br>0.9  | 0.9<br>71       | 0.5<br>56       | 0.486          | 0.55<br>7      | 0.9<br>12      | 0.813           | 0.8<br>22     | 0.6<br>27      | 0.696          | 0.3<br>37       | 0.3<br>37     |           |           |   |   |   |   |
| IFN-α             | r | 0.0<br>58 | 0.005  | 0.3<br>20 | 0.0<br>37 | -0.016<br>0.2 | 0.2<br>40 | 0.2<br>24 | 0.369        | 0.0<br>53     | 0.0<br>72       | 0.057<br>0.0  | 0.0<br>13     | 0.0<br>94       | -0.142<br>0.0 | 0.0           | 0.0<br>71       | -0.066<br>0.1 | 0.1<br>41      | 0.1<br>74      | -0.316<br>0.1 | 0.1<br>01       | -               | -0.260<br>0.20 | 0.20<br>0      | 0.0<br>38      | 0.069           | 0.1<br>08     | 0.1<br>55      | -0.162<br>0.2  | 0.2<br>43       | 0.2<br>43     |           |           |   |   |   |   |
|                   |   | 0.7<br>23 | 0.984  | 0.1<br>69 | 0.8<br>20 | 0.946<br>0.8  | 0.3<br>08 | 0.1<br>66 | 0.110        | 0.8<br>24     | 0.6<br>57       | 0.811<br>0.55 | 0.9<br>55     | 0.5<br>63       | 0.551         | 0.7<br>78     | 0.6<br>62       | 0.782<br>0.54 | 0.5<br>84      | 0.2<br>84      | 0.174<br>0.73 | 0.6<br>73       | 0.5<br>08       | 0.269          | 0.39<br>8      | 0.8<br>17      | 0.772           | 0.6<br>51     | 0.4<br>41      | 0.496          | 0.3<br>02       | 0.3<br>02     |           |           |   |   |   |   |
| IFN-γ             | r | 0.0<br>04 | -0.075 | 0.5<br>04 | -         | -0.079<br>0.3 | 0.3<br>49 | 0.0<br>69 | 0.068        | 0.2<br>23     | 0.0<br>58       | 0.052<br>0.0  | 0.0<br>46     | 0.0<br>33       | -0.062<br>0.1 | 0.1<br>22     | 0.0<br>45       | 0.007<br>0.0  | 0.1<br>32      | 0.1<br>40      | -0.199<br>0.0 | 0.0<br>49       | -               | -0.176<br>0.05 | 0.05<br>3      | 0.0<br>19      | -0.017<br>0.1   | 0.1<br>65     | 0.0<br>90      | -0.097<br>0.2  | 0.2<br>23       | 0.2<br>23     |           |           |   |   |   |   |
|                   |   | 0.9<br>83 | 0.755  | 0.0<br>23 | 0.9<br>18 | 0.740<br>0.1  | 0.1<br>31 | 0.6<br>71 | 0.777        | 0.3<br>45     | 0.7<br>21       | 0.828<br>0.48 | 0.8<br>48     | 0.8<br>38       | 0.794         | 0.6<br>08     | 0.7<br>85       | 0.977<br>0.79 | 0.5<br>90      | 0.3<br>90      | 0.401<br>0.47 | 0.8<br>37       | 0.5<br>15       | 0.459          | 0.82<br>4      | 0.9<br>06      | 0.944           | 0.4<br>88     | 0.5<br>79      | 0.684          | 0.3<br>46       | 0.3<br>46     |           |           |   |   |   |   |
| TNF-α             | r | 0.1<br>81 | 0.180  | 0.2<br>64 | 0.3<br>78 | 0.341<br>0.4  | 0.4<br>88 | -         | 0.0<br>07    | 0.013<br>0.0  | 0.0<br>23       | 0.4<br>20     | 0.454<br>0.2  | 0.2<br>75       | 0.4<br>53     | 0.506<br>0.2  | 0.2<br>75       | 0.0<br>55     | 0.242<br>0.0   | 0.0<br>68      | 0.1<br>08     | -0.143<br>0.0   | 0.0<br>41       | 0.1<br>00      | 0.102<br>0.16  | 0.16<br>3      | 0.0<br>70       | 0.025         | 0.1<br>08      | 0.0<br>41      | 0.047<br>0.2    | 0.2<br>23     | 0.2<br>23 |           |   |   |   |   |
|                   |   | 0.2<br>62 | 0.448  | 0.2<br>61 | 0.0<br>16 | 0.142<br>0.0  | 0.0<br>29 | 0.956     | 0.9<br>67    | 0.956         | 0.9<br>24       | 0.0<br>07     | 0.044<br>0.2  | 0.2<br>40       | 0.0<br>03     | 0.023<br>0.2  | 0.2<br>40       | 0.7<br>36     | 0.304<br>0.76  | 0.7<br>36      | 0.5<br>08     | 0.548<br>0.62   | 0.8<br>38       | 0.5<br>38      | 0.668          | 0.49<br>2      | 0.6<br>66       | 0.916         | 0.6<br>50      | 0.8<br>03      | 0.844           | 0.3<br>46     | 0.3<br>46 |           |   |   |   |   |
| IL-6              | r | 0.0<br>70 | 0.012  | 0.3<br>31 | 0.0<br>80 | 0.002<br>0.4  | 0.4<br>06 | -         | 0.0<br>15    | 0.038<br>0.1  | 0.1<br>52       | 0.1<br>09     | 0.103<br>0.0  | 0.0<br>95       | 0.0<br>13     | 0.021<br>0.0  | 0.0<br>76       | 0.1<br>17     | 0.049<br>0.4   | 0.4<br>44      | 0.0<br>53     | -0.172<br>0.2   | 0.2<br>42       | 0.0<br>26      | -0.104<br>0.38 | 0.38<br>9      | 0.1<br>08       | -0.077<br>0.3 | 0.3<br>10      | 0.0<br>98      | -0.094<br>0.1   | 0.1<br>83     | 0.1<br>83 |           |   |   |   |   |
|                   |   | 0.6<br>67 | 0.958  | 0.1<br>53 | 0.6<br>24 | 0.993<br>0.0  | 0.0<br>76 | 0.9<br>29 | 0.874        | 0.5<br>22     | 0.5<br>04       | 0.666<br>0.91 | 0.6<br>91     | 0.9<br>38       | 0.928         | 0.7<br>49     | 0.4<br>71       | 0.836<br>0.50 | 0.0<br>50      | 0.7<br>47      | 0.469<br>0.03 | 0.3<br>03       | 0.8<br>73       | 0.663          | 0.09<br>0      | 0.5<br>07      | 0.746           | 0.1<br>84     | 0.5<br>48      | 0.695          | 0.4<br>40       | 0.4<br>40     |           |           |   |   |   |   |
| IL-10             | r | 0.0<br>53 | -0.081 | 0.4<br>39 | -         | -0.102<br>0.4 | 0.4<br>64 | 0.0<br>28 | 0.056<br>0.0 | 0.0<br>27     | 0.0<br>39       | 0.017<br>0.0  | 0.0<br>17     | 0.0<br>64       | -0.089<br>0.0 | 0.0<br>33     | 0.0<br>36       | -0.030<br>0.1 | 0.1<br>63      | 0.1<br>23      | -0.180<br>0.0 | 0.0<br>77       | -               | -0.174<br>0.26 | 0.26<br>0      | 0.0<br>20      | -0.051<br>0.0   | 0.0<br>38     | 0.0<br>64      | -0.105<br>0.0  | 0.0<br>81       | 0.0<br>81     |           |           |   |   |   |   |
|                   |   | 0.7<br>44 | 0.733  | 0.0<br>53 | 0.7<br>22 | 0.670<br>0.0  | 0.0<br>62 | 0.815     | 0.9<br>11    | 0.815         | 0.9<br>62       | 0.4<br>00     | 0.944<br>0.44 | 0.9<br>44       | 0.6<br>93     | 0.709<br>0.89 | 0.8<br>26       | 0.899<br>0.93 | 0.4<br>51      | 0.447<br>0.47  | 0.7<br>47     | 0.5<br>22       | 0.463           | 0.26<br>9      | 0.9<br>04      | 0.832          | 0.8<br>74       | 0.6<br>95     | 0.660          | 0.7<br>36      | 0.7<br>36       |               |           |           |   |   |   |   |
| IL-12p70          | r | 0.0<br>57 | -0.095 | 0.2<br>07 | 0.0<br>52 | -0.120<br>0.3 | 0.3<br>93 | 0.0<br>15 | 0.054<br>0.1 | 0.1<br>22     | 0.0<br>09       | -0.008<br>0.0 | 0.0<br>75     | 0.0<br>85       | -0.113<br>0.0 | 0.0<br>40     | 0.0<br>32       | -0.043<br>0.0 | 0.0<br>67      | 0.0<br>97      | -0.180<br>0.2 | 0.2<br>31       | -               | -0.183<br>0.46 | 0.46<br>4      | 0.0<br>44      | -0.058<br>0.1   | 0.1<br>82     | 0.0<br>84      | -0.105<br>0.0  | 0.1<br>66       | 0.1<br>66     |           |           |   |   |   |   |
|                   |   | 0.7<br>27 | 0.691  | 0.3<br>81 | 0.7<br>48 | 0.614<br>0.0  | 0.0<br>86 | 0.9<br>26 | 0.822        | 0.6<br>08     | 0.9<br>58       | 0.972<br>0.53 | 0.7<br>53     | 0.6<br>03       | 0.635<br>0.68 | 0.8<br>67     | 0.8<br>46       | 0.857<br>0.79 | 0.7<br>51      | 0.5<br>51      | 0.447<br>0.28 | 0.3<br>28       | 0.6<br>87       | 0.441          | 0.03<br>9      | 0.7<br>86      | 0.807           | 0.4<br>43     | 0.6<br>05      | 0.660          | 0.4<br>85       | 0.4<br>85     |           |           |   |   |   |   |

|        |   |                |        |                |                |        |           |           |         |           |           |           |           |           |           |            |           |         |              |           |               |           |           |        |           |           |        |           |           |        |           |
|--------|---|----------------|--------|----------------|----------------|--------|-----------|-----------|---------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|------------|-----------|---------|--------------|-----------|---------------|-----------|-----------|--------|-----------|-----------|--------|-----------|-----------|--------|-----------|
| IL-17A | r | 0.1<br>56      | 0.076  | 0.2<br>59      | 0.1<br>84      | 0.271  | 0.0<br>73 | -<br>39   | -<br>63 | 0.2<br>62 | 0.360     | 0.0<br>76 | 0.2<br>50 | 0.416     | 0.0<br>92 | -<br>74    | -<br>02   | -<br>87 | 0.0<br>0.005 | 0.1<br>02 | 0.0<br>-0.207 | 0.0<br>29 | 0.0<br>31 | 0.080  | 0.00<br>3 | 0.1<br>18 | 0.112  | 0.1<br>17 | 0.0<br>21 | 0.049  | 0.0<br>19 |
|        | P | 0.3<br>37      | 0.750  | 0.2<br>71      | 0.2<br>57      | 0.248  | 0.7<br>59 | 0.8<br>10 | 0.962   | 0.7<br>92 | 0.1<br>03 | 0.119     | 0.7<br>49 | 0.1<br>19 | 0.068     | 0.92<br>01 | 0.6<br>49 | 0.984   | 0.6<br>70    | 0.5<br>95 | 0.381         | 0.9<br>04 | 0.8<br>50 | 0.737  | 0.99<br>0 | 0.4<br>67 | 0.640  | 0.6<br>25 | 0.8<br>96 | 0.837  | 0.9<br>38 |
| IL-18  | r | -<br>0.0<br>44 | 0.056  | -<br>0.1<br>27 | -<br>0.1<br>03 | -0.233 | 0.0<br>25 | 0.0<br>72 | -0.070  | 0.1<br>39 | 0.0<br>77 | 0.019     | 0.1<br>48 | 0.1<br>63 | -0.104    | 0.2<br>66  | 0.0<br>29 | -0.139  | 0.0<br>13    | 0.0<br>39 | -0.005        | 0.0<br>77 | 0.0<br>85 | -0.280 | 0.01<br>9 | 0.0<br>37 | 0.199  | 0.0<br>37 | 0.3<br>04 | -0.289 | 0.3<br>26 |
|        | P | 0.7<br>89      | 0.813  | 0.5<br>94      | 0.5<br>26      | 0.322  | 0.9<br>17 | 0.6<br>57 | 0.770   | 0.5<br>58 | 0.6<br>39 | 0.938     | 0.5<br>34 | 0.3<br>15 | 0.664     | 0.2<br>57  | 0.8<br>59 | 0.558   | 0.9<br>57    | 0.8<br>12 | 0.984         | 0.7<br>47 | 0.6<br>03 | 0.231  | 0.93<br>7 | 0.8<br>19 | 0.401  | 0.8<br>78 | 0.0<br>57 | 0.217  | 0.1<br>61 |
| IL-23  | r | 0.1<br>23      | -0.085 | 0.4<br>23      | -<br>0.0<br>30 | -0.106 | 0.0<br>95 | 0.1<br>77 | 0.052   | 0.3<br>43 | 0.0<br>14 | 0.018     | 0.1<br>09 | 0.0<br>67 | -0.085    | 0.0<br>28  | 0.0<br>43 | -0.022  | 0.0<br>65    | 0.1<br>59 | -0.181        | 0.1<br>44 | 0.1<br>58 | -0.183 | 0.14<br>4 | 0.0<br>94 | -0.044 | 0.1<br>81 | 0.1<br>16 | -0.099 | 0.1<br>50 |
|        | P | 0.4<br>49      | 0.721  | 0.0<br>63      | 0.8<br>53      | 0.655  | 0.6<br>89 | 0.2<br>75 | 0.826   | 0.1<br>39 | 0.9<br>32 | 0.941     | 0.6<br>48 | 0.6<br>83 | 0.720     | 0.9<br>06  | 0.7<br>93 | 0.926   | 0.7<br>84    | 0.3<br>26 | 0.444         | 0.5<br>44 | 0.3<br>31 | 0.440  | 0.54<br>4 | 0.5<br>64 | 0.853  | 0.4<br>44 | 0.4<br>78 | 0.677  | 0.5<br>29 |
| IL-33  | r | -<br>0.0<br>52 | -0.070 | 0.1<br>67      | -<br>0.0<br>23 | -0.076 | 0.4<br>31 | 0.0<br>05 | 0.056   | 0.2<br>53 | 0.0<br>82 | 0.064     | 0.0<br>38 | 0.0<br>35 | -0.060    | 0.0<br>79  | 0.0<br>40 | 0.015   | 0.1<br>09    | 0.1<br>09 | -0.189        | 0.2<br>46 | 0.0<br>65 | -0.163 | 0.47<br>8 | 0.0<br>02 | -0.020 | 0.0<br>33 | 0.0<br>85 | -0.110 | 0.1<br>83 |
|        | P | 0.7<br>51      | 0.769  | 0.4<br>81      | 0.8<br>87      | 0.751  | 0.0<br>58 | 0.9<br>74 | 0.815   | 0.2<br>81 | 0.6<br>17 | 0.788     | 0.8<br>74 | 0.8<br>30 | 0.801     | 0.7<br>40  | 0.8<br>07 | 0.951   | 0.6<br>47    | 0.5<br>04 | 0.424         | 0.2<br>95 | 0.6<br>88 | 0.491  | 0.03<br>3 | 0.9<br>92 | 0.935  | 0.8<br>89 | 0.6<br>01 | 0.643  | 0.4<br>40 |

Pembro: Pembrolizumab, DTX: Docetaxel, 1ºT: primera toma de muestra, RPL: Razón Plaquetas/Linfocitos, RNL: Razón Neutrófilos/Linfocitos, ACE: Antígeno Carcinoembrionario. P ≤ 0.05.

Tabla 16. Análisis de correlación de los valores de biometría hemática con las concentraciones de citocinas de la 2T

| Variable        |   | (x10 <sup>9</sup> células/L) |              |      |             |              |      |            |              |      |           |              |      |             |              |      |           |              |      | RPL    |              |      | RNL    |              |      | Albúmina (g/dL) |              |      | ACE (ng/mL) |              |      |
|-----------------|---|------------------------------|--------------|------|-------------|--------------|------|------------|--------------|------|-----------|--------------|------|-------------|--------------|------|-----------|--------------|------|--------|--------------|------|--------|--------------|------|-----------------|--------------|------|-------------|--------------|------|
|                 |   | Plaquetas                    |              |      | Neutrófilos |              |      | Linfocitos |              |      | Monocitos |              |      | Eosinófilos |              |      | Basófilos |              |      |        |              |      |        |              |      |                 |              |      |             |              |      |
|                 |   | Tot al                       | Pemb ro+ DTX | DT X | Tot al      | Pemb ro+ DTX | DT X | Tota l     | Pemb ro+ DTX | DT X | Tot al    | Pemb ro+ DTX | DT X | Tot al      | Pemb ro+ DTX | DT X | Tot al    | Pemb ro+ DTX | DT X | Tot al | Pemb ro+ DTX | DTX  | Tot al | Pemb ro+ DTX | DT X | Tot al          | Pemb ro+ DTX | DT X | Tot al      | Pemb ro+ DTX | DT X |
| IL-8 (CXCL8)    | r | -                            | -            | -    | -           | -            | -    | -          | -            | -    | -         | -            | -    | -           | -            | -    | -         | -            | -    | -      | -            | -    | -      | -            | -    | -               | -            | -    | -           | -            | -    |
|                 |   | 0.0                          | -0.075       | 0.0  | 0.1         | -0.214       | 0.1  | 0.22       | -0.252       | 0.2  | 0.1       | -0.124       | 0.0  | 0.1         | -0.314       | 0.1  | 0.1       | -0.115       | 0.1  | 0.0    | 0.022        | 0.14 | 0.0    | -0.049       | 0.0  | 0.0             | -0.013       | 0.1  | 0.0         | -0.136       | 0.3  |
|                 | P | 47                           | 30           | 0.9  | 0.3         | 0.366        | 0.6  | 0.16       | 0.284        | 0.3  | 0.4       | 0.602        | 0.7  | 0.4         | 0.178        | 0.5  | 0.5       | 0.628        | 0.4  | 0.7    | 0.928        | 0.55 | 0.7    | 0.837        | 0.9  | 0.6             | 0.956        | 0.4  | 0.6         | 0.590        | 0.3  |
| IP-10 (CXCL10)  | r | -                            | -            | -    | -           | -            | -    | -          | -            | -    | -         | -            | -    | -           | -            | -    | -         | -            | -    | -      | -            | -    | -      | -            | -    | -               | -            | -    | -           | -            | -    |
|                 |   | 0.1                          | -0.288       | 0.1  | 0.1         | -0.145       | 0.3  | 0.05       | -0.142       | 0.1  | 0.0       | 0.013        | 0.2  | 0.0         | -0.293       | 0.1  | 0.38      | -0.009       | 0.03 | 0.1    | -0.164       | 0.02 | 0.1    | -0.050       | 0.3  | 0.0             | -0.206       | 0.1  | 0.1         | -0.173       | 0.5  |
|                 | P | 57                           | 0.6          | 0.29 | 0.2         | 0.542        | 0.7  | 0.73       | 0.549        | 0.5  | 0.7       | 0.958        | 0.2  | 0.6         | 0.211        | 0.5  | 0.8       | 0.969        | 0.6  | 0.4    | 0.491        | 0.92 | 0.3    | 0.833        | 0.1  | 0.5             | 0.384        | 0.5  | 0.4         | 0.493        | 0.0  |
| Eotaxin (CCL11) | r | -                            | -            | -    | -           | -            | -    | -          | -            | -    | -         | -            | -    | -           | -            | -    | -         | -            | -    | -      | -            | -    | -      | -            | -    | -               | -            | -    | -           | -            | -    |
|                 |   | 0.0                          | -0.100       | 0.0  | 0.2         | -0.046       | 0.3  | 0.24       | 0.022        | 0.3  | 0.1       | 0.117        | 0.1  | 0.0         | -0.382       | 0.0  | 0.0       | -0.063       | 0.4  | 0.2    | -0.187       | 0.45 | 0.3    | -0.081       | 0.3  | 0.3             | -0.036       | 0.5  | 0.0         | -0.027       | 0.4  |
|                 | P | 27                           | 0.9          | 0.14 | 0.0         | 0.848        | 0.1  | 0.12       | 0.927        | 0.0  | 0.4       | 0.624        | 0.4  | 0.5         | 0.097        | 0.7  | 0.5       | 0.793        | 0.0  | 0.0    | 0.431        | 0.04 | 0.0    | 0.733        | 0.0  | 0.0             | 0.881        | 0.0  | 0.6         | 0.917        | 0.1  |
| TARC (CCL17)    | r | -                            | -            | -    | -           | -            | -    | -          | -            | -    | -         | -            | -    | -           | -            | -    | -         | -            | -    | -      | -            | -    | -      | -            | -    | -               | -            | -    | -           | -            | -    |
|                 |   | 0.0                          | -0.163       | 0.2  | 0.2         | -0.211       | 0.3  | 0.32       | -0.388       | 0.3  | 0.1       | -0.073       | 0.1  | 0.1         | 0.123        | 0.0  | 0.0       | 0.127        | 0.1  | 0.4    | 0.396        | 0.70 | 0.4    | 0.332        | 0.4  | 0.4             | -0.105       | 0.6  | 0.1         | -0.209       | 0.3  |
|                 | P | 70                           | 0.2          | 0.94 | 0.1         | 0.371        | 0.1  | 0.04       | 0.091        | 0.1  | 0.4       | 0.758        | 0.4  | 0.4         | 0.606        | 0.7  | 0.9       | 0.592        | 0.6  | 0.0    | 0.084        | 0.00 | 0.0    | 0.153        | 0.0  | 0.0             | 0.660        | 0.0  | 0.4         | 0.406        | 0.3  |
| MCP-1 (CCL2)    | r | -                            | -            | -    | -           | -            | -    | -          | -            | -    | -         | -            | -    | -           | -            | -    | -         | -            | -    | -      | -            | -    | -      | -            | -    | -               | -            | -    | -           | -            | -    |
|                 |   | 0.0                          | -0.066       | 0.1  | 0.2         | 0.014        | 0.4  | 0.08       | 0.100        | 0.0  | 0.1       | -0.082       | 0.2  | 0.0         | -0.434       | 0.0  | 0.1       | -0.248       | 0.0  | 0.1    | -0.137       | 0.23 | 0.2    | -0.066       | 0.3  | 0.3             | 0.244        | 0.4  | 0.0         | 0.155        | 0.6  |
|                 | P | 89                           | 0.5          | 0.71 | 0.1         | 0.953        | 0.0  | 0.59       | 0.674        | 0.7  | 0.2       | 0.730        | 0.3  | 0.9         | 0.056        | 0.7  | 0.3       | 0.292        | 0.7  | 0.2    | 0.564        | 0.31 | 0.1    | 0.783        | 0.1  | 0.0             | 0.300        | 0.0  | 0.6         | 0.540        | 0.0  |
| RANTES (CCL5)   | r | -                            | -            | -    | -           | -            | -    | -          | -            | -    | -         | -            | -    | -           | -            | -    | -         | -            | -    | -      | -            | -    | -      | -            | -    | -               | -            | -    | -           | -            | -    |
|                 |   | 0.1                          | 0.144        | 0.0  | 0.0         | 0.158        | 0.0  | 0.03       | 0.326        | 0.2  | 0.0       | 0.246        | 0.1  | 0.1         | -0.009       | 0.2  | 0.2       | -0.280       | 0.0  | 0.1    | -0.306       | 0.17 | 0.0    | -0.270       | 0.0  | 0.1             | -0.341       | 0.0  | 0.1         | 0.281        | 0.4  |
|                 | P | 14                           | 0.7          | 0.01 | 0.7         | 0.505        | 0.8  | 0.81       | 0.161        | 0.3  | 0.5       | 0.295        | 0.5  | 0.3         | 0.971        | 0.3  | 0.1       | 0.232        | 0.7  | 0.4    | 0.190        | 0.44 | 0.8    | 0.249        | 0.8  | 0.2             | 0.141        | 0.9  | 0.3         | 0.258        | 0.1  |
| MIP-1α (CCL3)   | r | -                            | -            | -    | -           | -            | -    | -          | -            | -    | -         | -            | -    | -           | -            | -    | -         | -            | -    | -      | -            | -    | -      | -            | -    | -               | -            | -    | -           | -            | -    |
|                 |   | 0.1                          | -0.311       | 0.0  | 0.1         | -0.190       | 0.2  | 0.05       | -0.254       | 0.4  | 0.2       | -0.236       | 0.0  | 0.0         | -0.204       | 0.1  | 0.0       | -0.111       | 0.2  | 0.1    | -0.101       | 0.21 | 0.1    | 0.055        | 0.3  | 0.0             | -0.006       | 0.4  | 0.0         | -0.122       | 0.1  |
|                 | P | 93                           | 0.2          | 0.65 | 0.2         | 0.423        | 0.3  | 0.73       | 0.281        | 0.0  | 0.1       | 0.316        | 0.7  | 0.8         | 0.387        | 0.6  | 0.7       | 0.640        | 0.2  | 0.4    | 0.671        | 0.36 | 0.4    | 0.818        | 0.1  | 0.5             | 0.980        | 0.0  | 0.6         | 0.629        | 0.6  |
| MIG (CXCL9)     | r | -                            | -            | -    | -           | -            | -    | -          | -            | -    | -         | -            | -    | -           | -            | -    | -         | -            | -    | -      | -            | -    | -      | -            | -    | -               | -            | -    | -           | -            | -    |
|                 |   | 0.1                          | -0.171       | 0.0  | 0.0         | -0.089       | 0.0  | 0.07       | -0.132       | 0.0  | 0.0       | 0.165        | 0.2  | 0.0         | -0.204       | 0.0  | 0.1       | 0.133        | 0.0  | 0.0    | -0.122       | 0.34 | 0.0    | -0.009       | 0.0  | 0.1             | -0.230       | 0.2  | 0.1         | -0.164       | 0.0  |
|                 | P | 00                           | 0.8          | 0.23 | 0.5         | 0.710        | 0.7  | 0.63       | 0.580        | 0.9  | 0.7       | 0.487        | 0.3  | 0.5         | 0.388        | 0.9  | 0.3       | 0.575        | 0.8  | 0.6    | 0.609        | 0.13 | 0.6    | 0.969        | 0.8  | 0.3             | 0.330        | 0.2  | 0.5         | 0.517        | 0.9  |
| ENA-78 (CXCL5)  | r | -                            | -            | -    | -           | -            | -    | -          | -            | -    | -         | -            | -    | -           | -            | -    | -         | -            | -    | -      | -            | -    | -      | -            | -    | -               | -            | -    | -           | -            | -    |
|                 |   | 0.1                          | -0.074       | 0.1  | 0.1         | -0.049       | 0.2  | 0.20       | -0.061       | 0.3  | 0.2       | 0.028        | 0.4  | 0.1         | 0.054        | 0.1  | 0.0       | 0.067        | 0.0  | 0.1    | 0.463        | 0.31 | 0.0    | 0.213        | 0.1  | 0.1             | 0.069        | 0.2  | 0.0         | 0.012        | 0.3  |
|                 | P | 04                           | 0.5          | 0.56 | 0.2         | 0.836        | 0.3  | 0.19       | 0.800        | 0.0  | 0.1       | 0.908        | 0.0  | 0.4         | 0.820        | 0.5  | 0.7       | 0.779        | 0.8  | 0.4    | 0.040        | 0.17 | 0.6    | 0.368        | 0.5  | 0.2             | 0.772        | 0.2  | 0.8         | 0.963        | 0.3  |

|                   |   |       |        |       |   |       |        |       |   |         |        |       |   |       |        |       |   |       |        |       |   |       |        |       |       |        |         |       |        |        |       |       |        |       |       |        |        |       |
|-------------------|---|-------|--------|-------|---|-------|--------|-------|---|---------|--------|-------|---|-------|--------|-------|---|-------|--------|-------|---|-------|--------|-------|-------|--------|---------|-------|--------|--------|-------|-------|--------|-------|-------|--------|--------|-------|
| MIP-3α<br>(CCL20) | r | 0.379 | 0.491  | 0.183 | - | 0.009 | 0.036  | 0.105 | - | 0.067   | -0.150 | 0.487 | - | 0.072 | -0.030 | 0.148 | - | 0.059 | -0.115 | 0.035 | - | 0.038 | -0.078 | 0.449 | 0.193 | 0.238  | 0.167   | -     | 0.010  | 0.296  | 0.088 | 0.001 | -0.033 | 0.233 | -     | 0.076  | -0.111 | 0.097 |
|                   | P | 0.016 | 0.028  | 0.440 | - | 0.957 | 0.880  | 0.660 | - | 0.682   | 0.529  | 0.029 | - | 0.657 | 0.899  | 0.533 | - | 0.718 | 0.631  | 0.885 | - | 0.816 | 0.743  | 0.047 | 0.233 | 0.313  | 0.481   | -     | 0.951  | 0.205  | 0.713 | 0.995 | 0.891  | 0.323 | -     | 0.696  | 0.661  | 0.777 |
| GRO-α<br>(CXCL1)  | r | 0.053 | -0.062 | 0.209 | - | 0.092 | -0.054 | 0.057 | - | 0.065   | -0.262 | 0.174 | - | 0.113 | -0.021 | 0.073 | - | 0.130 | -0.036 | 0.124 | - | 0.127 | 0.081  | 0.205 | 0.300 | 0.385  | 0.118   | -     | 0.072  | 0.341  | 0.104 | 0.039 | -0.047 | 0.084 | 0.207 | 0.200  | 0.394  |       |
|                   | P | 0.746 | 0.795  | 0.377 | - | 0.572 | 0.821  | 0.810 | - | 0.692   | 0.264  | 0.463 | - | 0.489 | 0.931  | 0.761 | - | 0.424 | 0.880  | 0.604 | - | 0.433 | 0.736  | 0.387 | 0.060 | 0.094  | 0.621   | -     | 0.657  | 0.142  | 0.662 | 0.811 | 0.845  | 0.725 | 0.281 | 0.426  | 0.230  |       |
| I-TAC<br>(CXCL11) | r | 0.094 | -0.126 | 0.399 | - | 0.071 | 0.027  | 0.182 | - | 0.134   | 0.042  | 0.350 | - | 0.189 | 0.227  | 0.298 | - | 0.032 | -0.125 | 0.037 | - | 0.169 | 0.251  | 0.183 | 0.227 | -0.012 | 0.732   | 0.076 | -0.031 | 0.209  | 0.213 | 0.031 | 0.613  | -     | 0.051 | -0.108 | 0.349  |       |
|                   | P | 0.563 | 0.596  | 0.081 | - | 0.661 | 0.910  | 0.442 | - | 0.408   | 0.859  | 0.131 | - | 0.242 | 0.336  | 0.201 | - | 0.845 | 0.599  | 0.876 | - | 0.299 | 0.287  | 0.439 | 0.159 | 0.961  | <0.0001 | 0.640 | 0.897  | 0.376  | 0.187 | 0.896 | 0.004  | 0.792 | 0.670 | 0.293  |        |       |
| MIP-1β<br>(CCL4)  | r | 0.025 | -0.150 | 0.155 | - | 0.032 | -0.286 | 0.087 | - | 0.285   | 0.012  | 0.443 | - | 0.068 | -0.072 | 0.197 | - | 0.152 | -0.236 | 0.164 | - | 0.035 | -0.213 | 0.515 | 0.202 | -0.234 | 0.207   | -     | 0.126  | -0.398 | 0.110 | 0.055 | -0.179 | 0.228 | 0.026 | -0.062 | 0.275  |       |
|                   | P | 0.879 | 0.528  | 0.513 | - | 0.846 | 0.221  | 0.715 | - | 0.074   | 0.959  | 0.050 | - | 0.675 | 0.761  | 0.405 | - | 0.350 | 0.317  | 0.489 | - | 0.830 | 0.368  | 0.020 | 0.211 | 0.321  | 0.382   | -     | 0.437  | 0.082  | 0.645 | 0.736 | 0.451  | 0.334 | 0.894 | 0.805  | 0.412  |       |
| IL-1β             | r | 0.099 | -0.144 | 0.140 | - | 0.121 | -0.177 | 0.019 | - | 0.015   | -0.034 | 0.121 | - | 0.024 | 0.030  | 0.048 | - | 0.062 | -0.114 | 0.234 | - | 0.035 | -0.061 | 0.178 | 0.097 | -0.110 | 0.293   | -     | 0.072  | -0.218 | 0.120 | 0.078 | 0.093  | 0.037 | 0.067 | -0.096 | 0.377  |       |
|                   | P | 0.543 | 0.545  | 0.557 | - | 0.456 | 0.455  | 0.937 | - | 0.925   | 0.887  | 0.612 | - | 0.883 | 0.899  | 0.839 | - | 0.704 | 0.631  | 0.320 | - | 0.832 | 0.799  | 0.453 | 0.554 | 0.646  | 0.209   | -     | 0.658  | 0.357  | 0.613 | 0.634 | 0.696  | 0.876 | 0.728 | 0.705  | 0.254  |       |
| IFN-α             | r | 0.076 | -0.144 | 0.141 | - | 0.068 | -0.088 | 0.080 | - | 0.125   | 0.116  | 0.420 | - | 0.037 | 0.094  | 0.297 | - | 0.082 | -0.170 | 0.113 | - | 0.050 | -0.103 | 0.382 | 0.147 | -0.154 | 0.284   | -     | 0.103  | -0.268 | 0.141 | 0.129 | 0.137  | 0.161 | 0.121 | 0.102  | 0.294  |       |
|                   | P | 0.643 | 0.545  | 0.553 | - | 0.677 | 0.713  | 0.738 | - | 0.441   | 0.626  | 0.065 | - | 0.820 | 0.694  | 0.204 | - | 0.613 | 0.473  | 0.635 | - | 0.757 | 0.665  | 0.096 | 0.364 | 0.515  | 0.225   | -     | 0.529  | 0.254  | 0.552 | 0.428 | 0.564  | 0.497 | 0.531 | 0.686  | 0.380  |       |
| IFN-γ             | r | 0.095 | -0.158 | 0.225 | - | 0.122 | -0.196 | 0.123 | - | <0.0001 | -0.048 | 0.534 | - | 0.028 | 0.013  | 0.175 | - | 0.054 | -0.118 | 0.057 | - | 0.050 | -0.086 | 0.476 | 0.086 | -0.096 | 0.228   | -     | 0.074  | -0.220 | 0.113 | 0.089 | 0.095  | 0.190 | 0.066 | -0.094 | 0.059  |       |
|                   | P | 0.561 | 0.506  | 0.340 | - | 0.452 | 0.409  | 0.604 | - | 0.999   | 0.841  | 0.015 | - | 0.863 | 0.955  | 0.461 | - | 0.739 | 0.619  | 0.811 | - | 0.761 | 0.720  | 0.034 | 0.597 | 0.687  | 0.334   | -     | 0.651  | 0.351  | 0.636 | 0.587 | 0.691  | 0.421 | 0.733 | 0.711  | 0.863  |       |
| TNF-α             | r | 0.069 | -0.087 | 0.139 | - | 0.111 | -0.111 | 0.059 | - | 0.131   | -0.086 | 0.370 | - | 0.045 | 0.051  | 0.026 | - | 0.126 | -0.135 | 0.181 | - | 0.002 | -0.021 | 0.134 | 0.062 | -0.142 | 0.292   | -     | 0.030  | -0.076 | 0.132 | 0.120 | 0.172  | 0.076 | 0.075 | -0.112 | 0.130  |       |
|                   | P | 0.670 | 0.716  | 0.559 | - | 0.495 | 0.643  | 0.804 | - | 0.422   | 0.720  | 0.108 | - | 0.783 | 0.830  | 0.912 | - | 0.440 | 0.571  | 0.445 | - | 0.989 | 0.929  | 0.573 | 0.704 | 0.549  | 0.212   | -     | 0.853  | 0.750  | 0.580 | 0.461 | 0.468  | 0.750 | 0.699 | 0.657  | 0.703  |       |
| IL-6              | r | 0.027 | -0.150 | 0.470 | - | 0.106 | -0.217 | 0.113 | - | 0.035   | -0.056 | 0.005 | - | 0.008 | -0.003 | 0.141 | - | 0.038 | -0.120 | 0.013 | - | 0.067 | -0.105 | 0.222 | 0.050 | -0.085 | 0.143   | -     | 0.075  | -0.249 | 0.084 | 0.023 | 0.085  | 0.275 | 0.088 | -0.106 | 0.204  |       |
|                   | P | 0.868 | 0.528  | 0.037 | - | 0.515 | 0.357  | 0.636 | - | 0.830   | 0.813  | 0.982 | - | 0.962 | 0.989  | 0.553 | - | 0.815 | 0.613  | 0.956 | - | 0.683 | 0.658  | 0.347 | 0.761 | 0.722  | 0.548   | -     | 0.647  | 0.291  | 0.725 | 0.887 | 0.722  | 0.241 | 0.652 | 0.674  | 0.547  |       |
| IL-10             | r | 0.104 | -0.157 | 0.041 | - | 0.124 | -0.192 | 0.094 | - | 0.029   | -0.043 | 0.122 | - | 0.029 | 0.019  | 0.095 | - | 0.055 | -0.117 | 0.130 | - | 0.059 | -0.083 | 0.029 | 0.081 | -0.104 | 0.153   | -     | 0.061  | -0.225 | 0.132 | 0.078 | 0.089  | 0.103 | 0.067 | -0.092 | 0.177  |       |
|                   | P | 0.523 | 0.508  | 0.865 | - | 0.445 | 0.417  | 0.693 | - | 0.858   | 0.859  | 0.610 | - | 0.860 | 0.936  | 0.691 | - | 0.736 | 0.625  | 0.584 | - | 0.716 | 0.727  | 0.903 | 0.621 | 0.664  | 0.521   | -     | 0.708  | 0.341  | 0.578 | 0.631 | 0.710  | 0.665 | 0.730 | 0.717  | 0.602  |       |
| IL-12p70          | r | 0.104 | -0.160 | 0.152 | - | 0.124 | -0.193 | 0.203 | - | 0.021   | -0.045 | 0.319 | - | 0.029 | 0.017  | 0.291 | - | 0.051 | -0.115 | 0.012 | - | 0.058 | -0.083 | 0.142 | 0.085 | -0.101 | 0.221   | -     | 0.068  | -0.223 | 0.042 | 0.078 | 0.089  | 0.113 | 0.065 | -0.091 | 0.127  |       |
|                   | P | 0.522 | 0.500  | 0.521 | - | 0.445 | 0.414  | 0.391 | - | 0.900   | 0.851  | 0.171 | - | 0.860 | 0.942  | 0.213 | - | 0.756 | 0.628  | 0.960 | - | 0.724 | 0.727  | 0.549 | 0.601 | 0.670  | 0.348   | -     | 0.677  | 0.344  | 0.859 | 0.634 | 0.709  | 0.634 | 0.737 | 0.719  | 0.709  |       |

|        |   |       |        |       |       |        |       |        |       |       |       |       |        |       |       |        |       |        |       |       |        |       |       |
|--------|---|-------|--------|-------|-------|--------|-------|--------|-------|-------|-------|-------|--------|-------|-------|--------|-------|--------|-------|-------|--------|-------|-------|
| IL-17A | r | -     | -      | -     | -     | 0.2    | -     | 0.0    | -     | -     | -     | -     | -      | -     | -     | -      | -     | -      | 0.0   | 0.1   | -      | -     | 0.1   |
|        | P | 0.15  | -0.164 | 0.08  | 0.13  | -0.199 | 0.02  | -0.047 | 0.072 | 0.036 | 0.011 | 0.058 | -0.115 | 0.086 | 0.032 | -0.066 | 0.083 | -0.092 | 0.201 | 0.055 | -0.231 | 0.182 | 0.081 |
| IL-18  | r | 0.144 | -0.143 | 0.655 | 0.042 | -0.089 | 0.129 | -0.090 | 0.200 | 0.190 | 0.094 | 0.455 | -0.149 | 0.181 | 0.008 | 0.040  | 0.180 | -0.098 | 0.410 | 0.001 | -0.025 | 0.037 | 0.172 |
|        | P | 0.377 | 0.548  | 0.002 | 0.795 | 0.708  | 0.428 | 0.706  | 0.397 | 0.239 | 0.693 | 0.044 | 0.710  | 0.530 | 0.445 | 0.960  | 0.868 | 0.475  | 0.680 | 0.079 | 0.915  | 0.876 | 0.289 |
| IL-23  | r | 0.074 | -0.158 | 0.202 | 0.096 | -0.194 | 0.069 | -0.046 | 0.539 | 0.004 | 0.016 | 0.192 | -0.118 | 0.047 | 0.025 | -0.084 | 0.465 | -0.101 | 0.245 | 0.082 | -0.223 | 0.105 | 0.107 |
|        | P | 0.650 | 0.506  | 0.393 | 0.554 | 0.412  | 0.674 | 0.847  | 0.014 | 0.981 | 0.948 | 0.418 | 0.747  | 0.619 | 0.843 | 0.878  | 0.725 | 0.496  | 0.673 | 0.297 | 0.616  | 0.346 | 0.509 |
| IL-33  | r | 0.107 | -0.162 | 0.026 | 0.128 | -0.193 | 0.028 | -0.046 | 0.027 | 0.032 | 0.020 | 0.215 | -0.118 | 0.139 | 0.056 | -0.081 | 0.048 | -0.103 | 0.111 | 0.068 | -0.222 | 0.012 | 0.076 |
|        | P | 0.509 | 0.495  | 0.914 | 0.430 | 0.415  | 0.584 | 0.847  | 0.910 | 0.844 | 0.932 | 0.364 | 0.739  | 0.619 | 0.560 | 0.733  | 0.842 | 0.605  | 0.665 | 0.641 | 0.348  | 0.960 | 0.641 |

Pembro: Pembrolizumab, DTX: Docetaxel; 2°T: Segunda toma de muestra; RPL: Radio Plaqueta/Linfocito; RNL: Radio Neutrófilo/Linfocito; ACE: Antígeno Carcinoembrionario.  $P \leq 0.05$ .

**Análisis de Supervivencia Libre de Progresión y Supervivencia Global en el total de pacientes y por grupo de tratamiento**

De forma general, los pacientes tuvieron una media y mediana de SLP de 7.76 y 5.09 meses, respectivamente (figura 13). Mientras que el grupo de Pembrolizumab más Docetaxel tuvo significativamente mayor media y mediana de SLP que el de Docetaxel (11.81 Vs. 4.52 meses y 10.48 Vs. 3.64 meses, respectivamente) (figura 14). Por su parte, los valores de SG en el total de pacientes tuvieron una media de 50.48 meses y una mediana de 33.47 meses, sin poder determinarse un IC del 95% para ésta última debido a la cantidad de pacientes que tuvieron un valor NR (not reached o no alcanzado) dado que al menos la mitad de los pacientes analizados dentro de esa variable no habían tenido el evento al momento de ejecutarse el análisis (figura 15). La media de SG del grupo de Docetaxel fue mayor al de Pembrolizumab más Docetaxel (53 Vs. 31.71 meses), aunque la mediana del primero fue NR, mientras que el segundo alcanzó una mediana de 32.59 meses (figura 16).

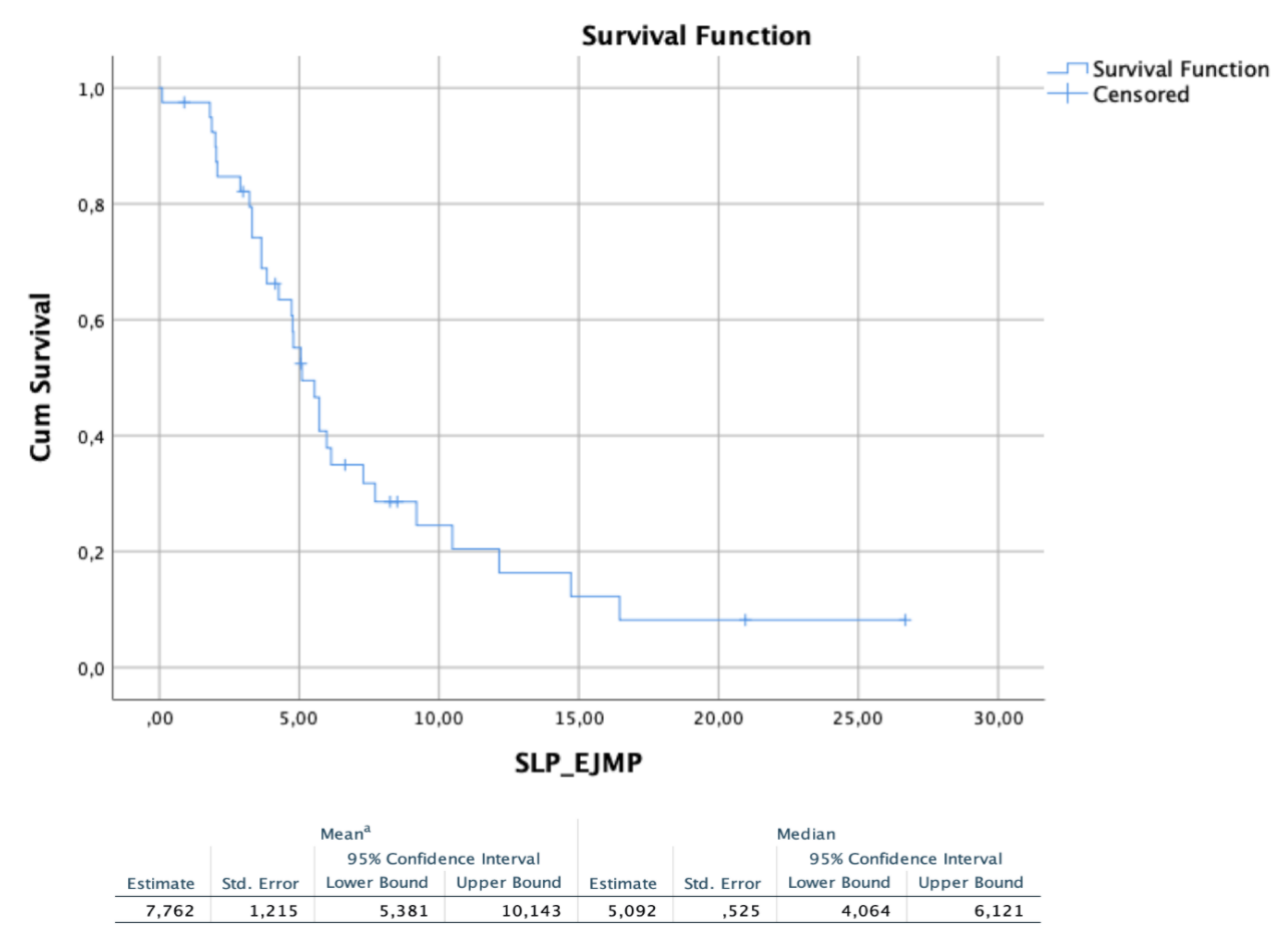
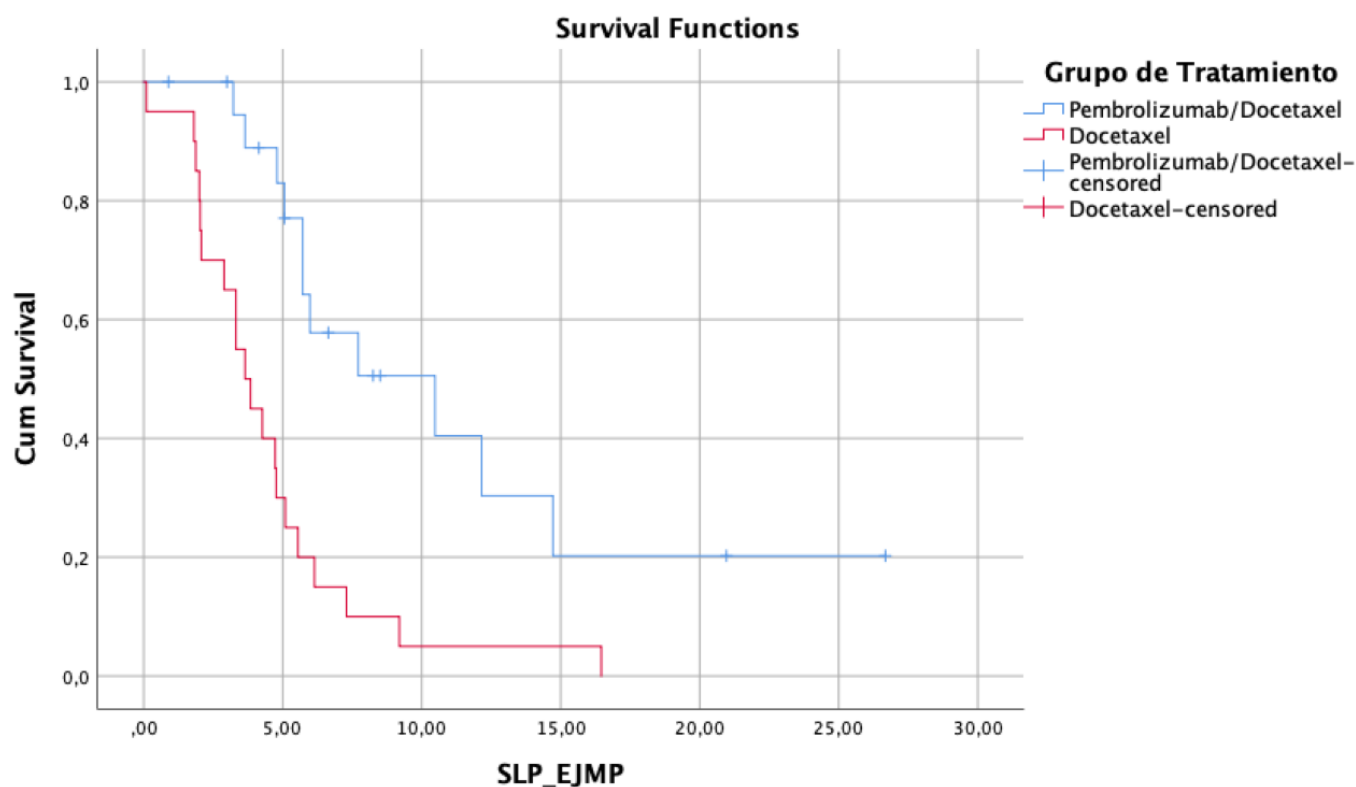


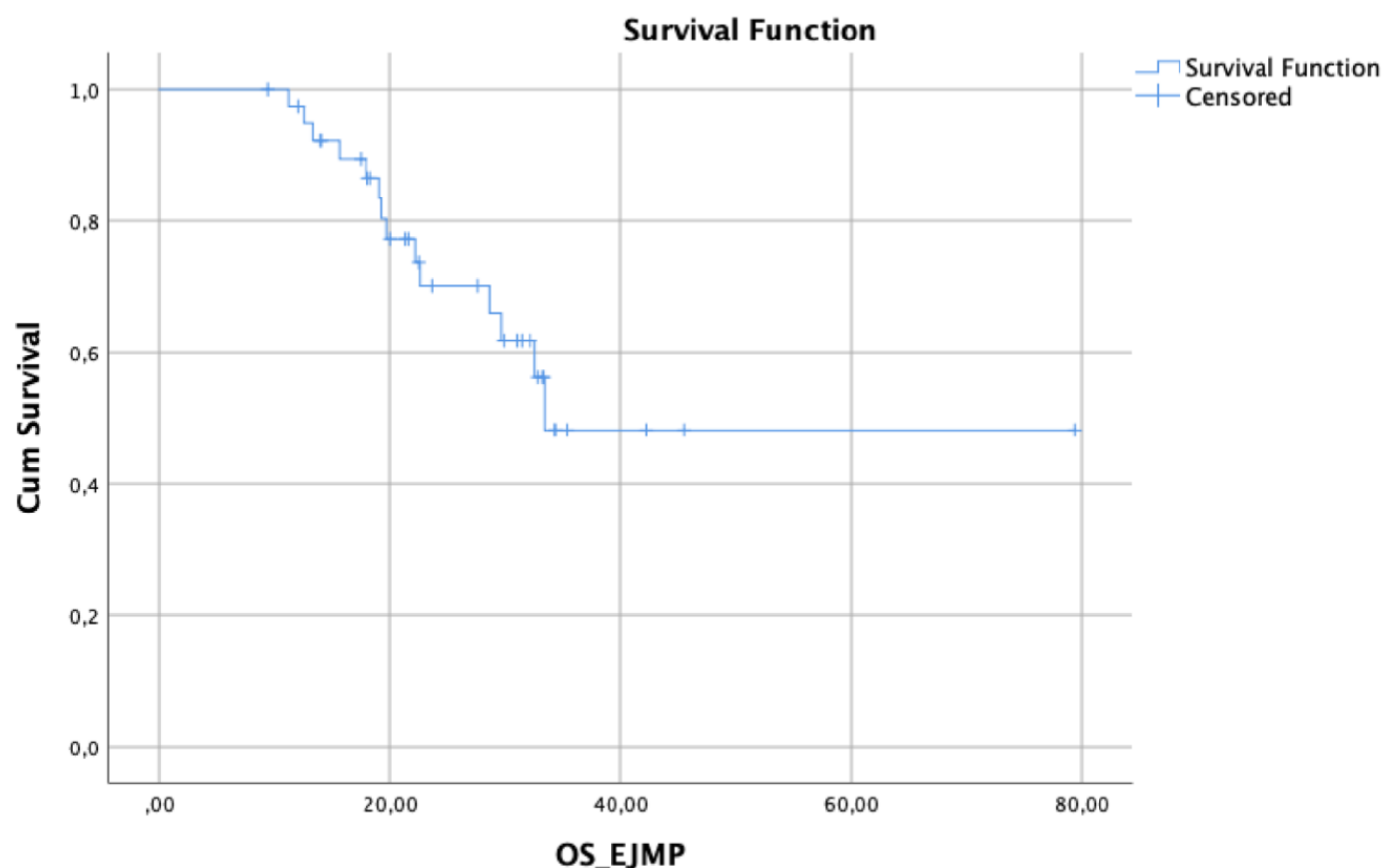
Figura 13. Curva de supervivencia para el total de pacientes obtenida por el estimador Kaplan-Meier con los valores de Supervivencia Libre de Progresión (SLP). En la parte inferior se muestran los valores de media (mean; <sup>a</sup> = la estimación se limita al mayor tiempo de supervivencia si está censurada) y mediana (median). Se obtuvo una media de 7.76 meses (5.38-10.14 IC 95%) y mediana de 5.09 meses (4.06-6.12 IC 95%).



| Grupo de Tratamiento    | Estimate | Std. Error | Mean <sup>a</sup>       |             | Estimate | Std. Error | Median                  |             |
|-------------------------|----------|------------|-------------------------|-------------|----------|------------|-------------------------|-------------|
|                         |          |            | 95% Confidence Interval |             |          |            | 95% Confidence Interval |             |
|                         |          |            | Lower Bound             | Upper Bound |          |            | Lower Bound             | Upper Bound |
| Pembrolizumab/Docetaxel | 11,813   | 2,280      | 7,344                   | 16,283      | 10,480   | 3,528      | 3,566                   | 17,395      |
| Docetaxel               | 4,521    | ,787       | 2,978                   | 6,064       | 3,647    | ,588       | 2,495                   | 4,799       |
| Overall                 | 7,762    | 1,215      | 5,381                   | 10,143      | 5,092    | ,525       | 4,064                   | 6,121       |

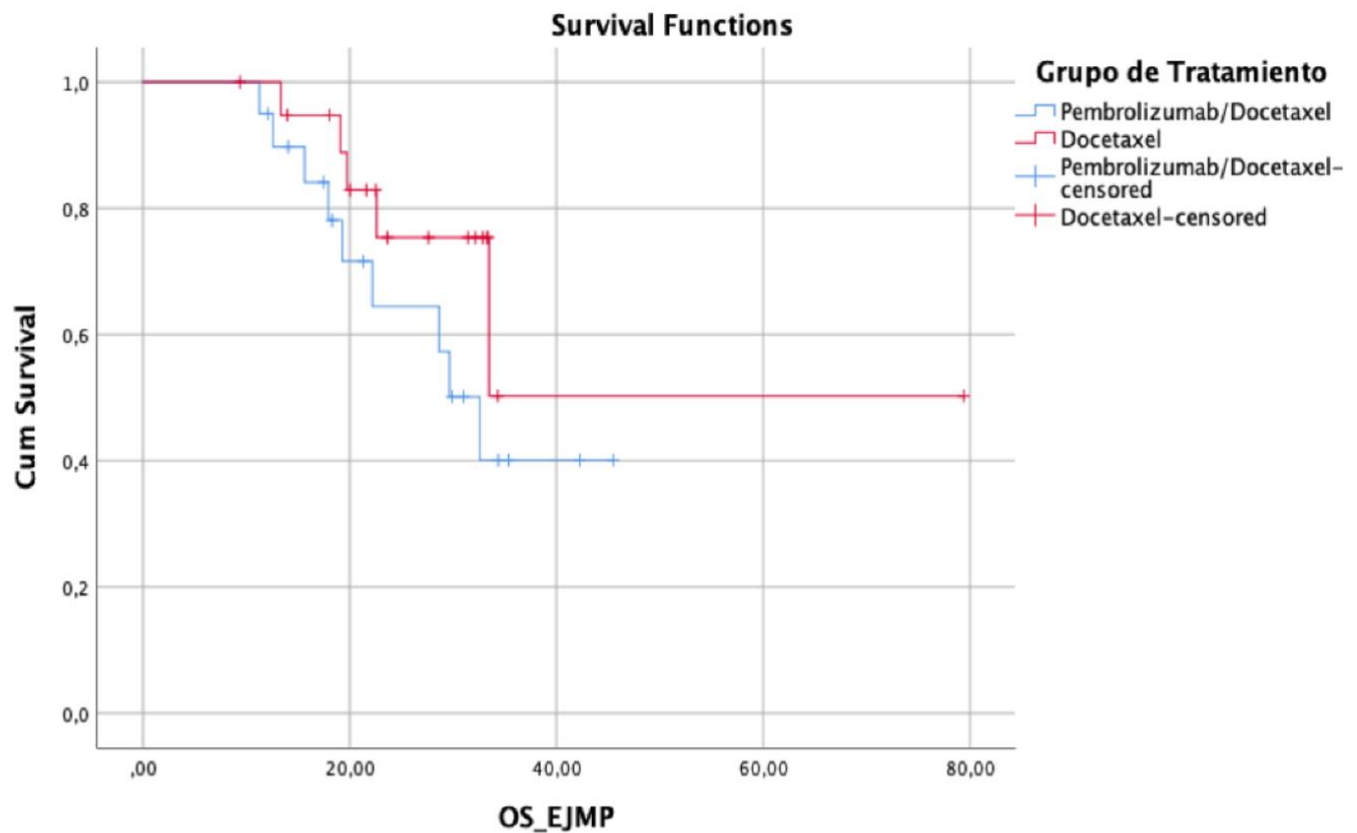
| Overall Comparisons            |            |    |      |
|--------------------------------|------------|----|------|
|                                | Chi-Square | df | Sig. |
| Log Rank (Mantel-Cox)          | 12,628     | 1  | ,000 |
| Breslow (Generalized Wilcoxon) | 13,329     | 1  | ,000 |

Figura 14. Curva de supervivencia para los pacientes en el grupo de Pembrolizumab más Docetaxel (curva azul) y en el grupo de Docetaxel como monoterapia (curva roja) obtenida por el estimador Kaplan-Meier con los valores de Supervivencia Libre de Progresión (SLP). En la parte inferior se muestran los valores de media (mean; <sup>a</sup> = la estimación se limita al mayor tiempo de supervivencia si está censurada) y mediana (median). El grupo de Pembrolizumab más Docetaxel tuvo una media de 11.81 meses (7.34-16.28 IC 95%) y mediana de 10.48 meses (3.56-17.39 IC 95%), mientras que el grupo de Docetaxel como monoterapia tuvo una media de 4.52 meses (2.97-6.06 IC 95%) y mediana de 3.64 meses (2.49-4.79 IC 95%). Los valores obtenidos fueron significativamente diferentes entre los grupos de acuerdo a la prueba de Log Rank ( $P \leq 0.0001$ ).



| Mean <sup>a</sup> |             |                         |        | Median      |             |                         |   |
|-------------------|-------------|-------------------------|--------|-------------|-------------|-------------------------|---|
| Estimate          | Std. Error  | 95% Confidence Interval |        | Estimate    | Std. Error  | 95% Confidence Interval |   |
| Lower Bound       | Upper Bound |                         |        | Lower Bound | Upper Bound |                         |   |
| 50,487            | 5,929       | 38,866                  | 62,107 | 33,478      | .           | .                       | . |

Figura 15. Curva de supervivencia para el total de pacientes obtenida por el estimador Kaplan-Meier con los valores de Supervivencia Global (SG). En la parte inferior se muestran los valores de media (mean; <sup>a</sup> = la estimación se limita al mayor tiempo de supervivencia si está censurada) y mediana (median). Se obtuvo una media de 50.48 meses (38.86-62.1 IC 95%) y mediana de 33.47 meses, aunque sin poder determinarse un IC del 95%.



| Grupo de Tratamiento    | Estimate | Std. Error | Mean <sup>a</sup>       |             | Estimate | Std. Error | Median                  |             |
|-------------------------|----------|------------|-------------------------|-------------|----------|------------|-------------------------|-------------|
|                         |          |            | 95% Confidence Interval |             |          |            | 95% Confidence Interval |             |
|                         |          |            | Lower Bound             | Upper Bound |          |            | Lower Bound             | Upper Bound |
| Pembrolizumab/Docetaxel | 31,714   | 3,203      | 25,437                  | 37,991      | 32,591   | 3,133      | 26,451                  | 38,732      |
| Docetaxel               | 53,007   | 10,607     | 32,217                  | 73,797      | .        | .          | .                       | .           |
| Overall                 | 50,487   | 5,929      | 38,866                  | 62,107      | 33,478   | .          | .                       | .           |

| Overall Comparisons            |            |    |      |
|--------------------------------|------------|----|------|
|                                | Chi-Square | df | Sig. |
| Log Rank (Mantel-Cox)          | 1,573      | 1  | ,210 |
| Breslow (Generalized Wilcoxon) | 1,858      | 1  | ,173 |

Figura 16. Curva de supervivencia para los pacientes en el grupo de Pembrolizumab más Docetaxel (curva azul) y en el grupo de Docetaxel como monoterapia (curva roja) obtenida por el estimador Kaplan-Meier con los valores de Supervivencia Global (SG). En la parte inferior se muestran los valores de media (mean; <sup>a</sup> = la estimación se limita al mayor tiempo de supervivencia si está censurada) y mediana (median). El grupo de Pembrolizumab más Docetaxel tuvo una media de 31.71 meses (25.43-37.99 IC 95%) y mediana de 32.59 meses (26.45-38.73 IC 95%), mientras que el grupo de Docetaxel como monoterapia tuvo una media de 53 meses (32.21-73.79 IC 95%) y un valor NR para la mediana. No existió alguna diferencia significativa entre los valores obtenidos.

**Análisis de correlación de la Supervivencia Libre de Progresión con las características clínico-patológicas y los valores de primera y segunda toma de muestra sanguínea de biometría hemática y de concentración de citocinas por grupo de tratamiento**

Entre el total de pacientes y los grupos de tratamiento, existieron diferencias significativas en los valores obtenidos por los pacientes de SLP en la mayoría de las categorías de las características clínico-patológicas (tabla 17), resultando como excepción el historial de tabaquismo positivo, ambos valores del índice tabáquico, el índice de exposición a humo de leña  $\geq 21$ , la histología no especificada de la enfermedad y el estado no probado de PD-L1. Por su parte, el valor de ECOG  $\geq 2$ , las mutaciones en los exones 19, 20 y 21, así como el estado positivo de PD-L1 no pudieron obtener un valor de significancia estadística entre grupos al presentar mínimo un NR en el valor de mediana en alguno de los grupos. Entre los propios grupos de tratamiento, sólo existieron diferencias significativas entre los géneros y la exposición negativa o positiva a humo de leña en el grupo de Docetaxel como monoterapia.

Sobre los valores de biometría hemática de primera toma de muestra sanguínea (tabla 18), se encontraron diferencias significativas entre los grupos en trombocitopenia, neutropenia, monocitopenia,  $RPL \leq 259.86$ ,  $RNL \leq 4$  y ACE elevado ( $\geq 2.1$ ), así como en todos los valores normales de las variables analizadas con esta categoría, a excepción del valor normal de neutrófilos y ACE. Dentro de cada grupo, el total de pacientes presentó diferencia en SLP en los valores de basófilos, al igual que el grupo de Pembrolizumab más Docetaxel, donde también existió diferencia en monocitos y RPL, mientras que en el grupo de Docetaxel como monoterapia esto ocurrió en ACE. Dentro de este último grupo, los valores de eosinófilos no alcanzaron la mayoría de datos para poder obtener un valor de significancia estadística (NR), mientras que las variables de valor normal de neutrófilos, neutrofilia, linfocitosis, monocitosis, eosinofilia y valor alto de albúmina ( $\geq 5.5$ ) presentaron mínimo un valor NR en algún valor de mediana de alguno de los grupos, por lo cual no se pudo obtener un valor de significancia estadística entre grupos para estas variables.

Para los valores de biometría hemática de segunda toma de muestra sanguínea (tabla 19) se encontraron 10 variables con diferencias significativas en SLP entre grupos, a comparación de las 12 en primera toma, en los valores normales de todas las variables con esta categoría, a excepción de monocitos y ACE, así como en  $RPL \leq 286.41$  y  $\geq 286.42$ ,  $RNL \leq 4.46$  y albúmina baja ( $\leq 3.4$ ). En el total de pacientes, las diferencias significativas en SLP existieron en neutrófilos, monocitos y albúmina, así como en neutrófilos y basófilos para el grupo de Pembrolizumab más Docetaxel, mientras que en el grupo de Docetaxel como monoterapia esto sólo ocurrió para el caso de los valores de albúmina. Las variables de trombocitopenia, linfocitosis, monocitopenia, valor normal de monocitos, monocitosis, eosinofilia, basofilia, valor alto de albúmina ( $\geq 5.5$ ) y valor normal ( $\leq 2$ ) y elevado ( $\geq 2.1$ ) de ACE tuvieron al menos un NR en alguno de los valores de mediana en algún grupo, por lo que no pudo obtenerse un valor de significancia estadística para estas variables entre grupos.

La comparación entre el valor menor o igual que y mayor o igual que ( $\leq$  Vs.  $\geq$ ) de mediana de concentración por citocina con el valor de mediana de SLP obtenido por grupo de tratamiento, mostró que sólo existieron diferencias significativas en el grupo de Docetaxel como monoterapia en IP-10 para la primera toma de muestra sanguínea (tabla 20) y en la misma, además de MCP-1 y MIG en la segunda toma de muestra sanguínea (tabla 21).

El mismo tipo de comparación, pero entre el valor menor o igual que ( $\leq$ ) de concentración de citocina entre grupos de tratamiento ( $\leq$  de Pembrolizumab más Docetaxel Vs.  $\leq$  de Docetaxel como monoterapia) demostró que en casi todos los casos existieron diferencias significativas sobre el valor de mediana de SLP obtenido por grupo, siendo las excepciones IL-8, IP-10, MIP-1 $\alpha$ , MIG e MIP-1 $\beta$  para la primera toma de muestra sanguínea, así como IL-1 $\beta$ , IL-17A e IL-33 para la segunda. Del mismo modo, la comparación entre el valor mayor o igual que ( $\geq$ ) de concentración de citocina entre grupos de tratamiento ( $\geq$  de Pembrolizumab más Docetaxel Vs.  $\geq$  de Docetaxel como monoterapia) también mostró diferencias significativas en la mayoría de citocinas, a excepción de 3 en primera toma (ENA-78, IL-18 e IL-33) y 4 en segunda (RANTES, MIP-1 $\alpha$ , IL-6 e IL-18).

Tabla 17. Supervivencia Libre de Progresión sobre las características clínico-patológicas de los pacientes por grupos de tratamiento

| Variable                                   | Total N= 40     |              |       | Pembrolizumab + DTX n= 20 |              |       | DTX n= 40       |             |       | P      |
|--------------------------------------------|-----------------|--------------|-------|---------------------------|--------------|-------|-----------------|-------------|-------|--------|
|                                            | Mediana (meses) | IC 95%       | P     | Mediana (meses)           | IC 95%       | P     | Mediana (meses) | IC 95%      | P     |        |
| <b>Género</b>                              |                 |              |       |                           |              |       |                 |             |       |        |
| Femenino                                   | 5.71            | 4.3 - 7.12   | 0.642 | 7.72                      | 1.69 - 13.74 | 0.932 | 4.27            | 2.64 - 5.89 | 0.032 | 0.018  |
| Masculino                                  | 5.06            | 2.8 - 7.3    |       | 14.71                     | NR           |       | 2.07            | 1 - 3.13    |       | <0.001 |
| <b>Grupos por edad (años)</b>              |                 |              |       |                           |              |       |                 |             |       |        |
| ≤ 60                                       | 5.71            | 4.4 - 7.03   | 0.360 | 7.72                      | 2.94 - 12.49 | 0.894 | 3.84            | 1.65 - 6.03 | 0.599 | 0.012  |
| ≥ 60                                       | 5.06            | 2.6 - 7.5    |       | 14.71                     | NR           |       | 3.31            | 2.14 - 4.48 |       | 0.017  |
| <b>Historial de tabaquismo</b>             |                 |              |       |                           |              |       |                 |             |       |        |
| Negativo                                   | 5.71            | 3.79 - 7.63  | 0.726 | 10.48                     | 4.34 - 16.52 | 0.398 | 3.31            | 1.54 - 5.09 | 0.054 | <0.001 |
| Positivo                                   | 5.092           | 4.04 - 6.14  |       | 5.97                      | 3.07 - 8.88  |       | 4.76            | 3.2 - 6.32  |       | 0.201  |
| <b>Índice tabáquico</b>                    |                 |              |       |                           |              |       |                 |             |       |        |
| ≤ 20                                       | 5.97            | 4.52 - 7.43  | 0.277 | 5.97                      | NR           | 0.480 | 5.09            | 2.09 - 8.08 | 0.194 | 0.537  |
| ≥ 21                                       | 4.76            | 3.17 - 6.35  |       | 4.79                      | 2.54 - 7.05  |       | 4.73            | 0.78 - 8.68 |       | 0.134  |
| <b>Exposición a humo de leña</b>           |                 |              |       |                           |              |       |                 |             |       |        |
| Negativo                                   | 5.97            | 4.75 - 7.2   | 0.300 | 12.15                     | 4.54 - 19.76 | 0.465 | 4.76            | 3.29 - 6.23 | 0.006 | 0.011  |
| Positivo                                   | 3.64            | 1.27 - 6.02  |       | 5.71                      | 0.4 - 11.02  |       | 2.07            | 1.98 - 2.15 |       | 0.003  |
| <b>Índice de exposición a humo de leña</b> |                 |              |       |                           |              |       |                 |             |       |        |
| ≤ 20                                       | 2.07            | 0.138 - 4    | 0.900 | 5.71                      | NR           | 0.433 | 2.03            | 1.97 - 2.1  | 0.488 | 0.049  |
| ≥ 21                                       | 4.27            | 2.22 - 6.31  |       | 5.06                      | NR           |       | 3.31            | 0 - 8.47    |       | 0.063  |
| <b>ECOG al momento del Dx</b>              |                 |              |       |                           |              |       |                 |             |       |        |
| ≤ 1                                        | 5.09            | 3.97 - 6.21  | 0.246 | 7.72                      | 3.06 - 12.37 | 0.836 | 3.64            | 2.49 - 4.79 | NR    | 0.001  |
| ≥ 2                                        | 12.15           | NR           |       | 12.15                     | NR           |       | NR              | NR          |       | --     |
| <b>Histología</b>                          |                 |              |       |                           |              |       |                 |             |       |        |
| Otros                                      | 3.31            | 1.58 - 5.05  | 0.066 | 3.64                      | NR           | 0.087 | 1.87            | NR          | 0.117 | 0.09   |
| Adenocarcinoma                             | 5.71            | 4.83 - 6.6   |       | 10.48                     | 3.65 - 17.3  |       | 3.84            | 2.54 - 5.14 |       | 0.001  |
| Lepídico                                   | 3.84            | NR           |       | NR                        | NR           |       | 3.84            | NR          |       | --     |
| Acinar / Papilar                           | 5.55            | 2.57 - 8.52  | 0.977 | 10.48                     | 1.64 - 19.31 | 0.983 | 4.73            | 1.1 - 8.35  | 0.392 | 0.023  |
| Micropapilar / Sólido                      | 5.09            | 4.25 - 5.93  |       | 7.72                      | 2.57 - 12.86 |       | 3.64            | 1.99 - 5.3  |       | 0.001  |
| No especificado                            | 5.71            | 4.83 - 6.6   |       | 5.97                      | NR           |       | 2.07            | 1.64 - 2.49 |       | 0.197  |
| <b>Tipo de mutación</b>                    |                 |              |       |                           |              |       |                 |             |       |        |
| ALK positivo                               | 12.15           | NR           | 0.179 | 12.15                     | NR           | 0.247 | NR              | NR          |       | --     |
| EGFR positivo                              | 1.81            | 2.16 - 9.27  | 0.997 | 10.48                     | 3.05 - 17.91 | 0.571 | 2.03            | 1.95 - 2.11 | 0.087 | 0.005  |
| Ex19del                                    | NR              | NR           |       | NR                        | NR           |       | 2.03            | 1.95 - 2.11 |       | --     |
| Ex21 (L858R)                               | NR              | NR           | 0.068 | NR                        | NR           | 0.250 | NR              | NR          | NR    | --     |
| EX20 (T790M)                               | NR              | NR           |       | NR                        | NR           |       | NR              | NR          |       | --     |
| <b>Estado de PD-L1</b>                     |                 |              |       |                           |              |       |                 |             |       |        |
| No probado                                 | 5.09            | 4.08 - 6.1   | 0.687 | 5.71                      | 3.51 - 7.92  | 0.493 | 3.31            | 1.68 - 4.94 | 0.995 | 0.084  |
| Negativo                                   | 6.14            | 1.98 - 10.3  |       | 12.15                     | NR           |       | 2.89            | 0 - 6.16    |       | 0.023  |
| Positivo                                   | 5.97            | 0.98 - 10.97 |       | NR                        | NR           |       | 3.84            | 1.42 - 6.25 |       | --     |

DTX: Docetaxel, IC: intervalo de confianza, NR: Not Reached (al menos la mitad de los pacientes no presentaron un valor de SLP en la variable), ECOG: escala de calidad de vida de acuerdo al Grupo Oncológico Cooperativo del Este, ALK: Cinasa de Linfoma Anaplásico, EGFR: Receptor del Factor de Crecimiento Epidérmico, Ex19del: Delección del Exón 19, Ex21 (L858R): Sustitución de una Leucina por una Arginina en la posición 858 del Exón 21, Ex20 (T790M): Sustitución de una Treonina por una Metionina en la posición 790 del Exón 20, PD-L1: Ligando 1 de Muerte Celular Programada.  $P \leq 0.05$ .

Tabla 18. Supervivencia Libre de Progresión con los valores de biometría hemática entre grupos de tratamiento en 1T

| Variable                | Total N= 40     |             |       | Pembrolizumab + DTX n= 20 |              |       | DTX n= 40       |              |         | P       |
|-------------------------|-----------------|-------------|-------|---------------------------|--------------|-------|-----------------|--------------|---------|---------|
|                         | Mediana (meses) | IC 95%      | P     | Mediana (meses)           | IC 95%       | P     | Mediana (meses) | IC 95%       | P       |         |
| Plaquetas (miles/mm3)   |                 |             |       |                           |              |       |                 |              |         |         |
| Trombocitopenia         | 4.27            | 0 - 9.04    | 0.780 | 12.15                     | NR           | 0.566 | 2               | 1.79 - 2.21  | 0.244   | 0.025   |
| Normal                  | 5.55            | 4.52 - 6.57 |       | 7.72                      | 1.51 - 13.92 |       | 3.64            | 2.68 - 4.61  |         | 0.005   |
| Trombocitosis           | 4.73            | 3.03 - 6.42 |       | 5.06                      | 2.79 - 7.32  |       | 4.73            | 1.78 - 7.67  |         | 0.522   |
| Neutrófilos (miles/mm3) |                 |             |       |                           |              |       |                 |              |         |         |
| Neutropenia             | 5.71            | 3.83 - 7.59 | 0.934 | 7.72                      | 2 - 13.43    | 0.474 | 4.27            | 0 - 8.99     | 0.959   | 0.006   |
| Normal                  | 4.79            | 4.27 - 5.32 |       | NR                        | NR           |       | 3.64            | 2.74 - 4.54  |         | --      |
| Neutrofilia             | NR              | NR          |       | NR                        | NR           |       | NR              | NR           |         | 0.959   |
| Linfocitos (miles/mm3)  |                 |             |       |                           |              |       |                 |              |         |         |
| Linfopenia              | 5.71            | 2.91 - 8.51 | 0.135 | 5.71                      | 3.5 - 7.92   | 0.199 | 2.03            | 0.216 - 3.85 | 0.444   | 0.096   |
| Normal                  | 5.09            | 3.99 - 6.18 |       | 10.48                     | 2.53 - 18.42 |       | 3.84            | 2 - 5.68     |         | 0.003   |
| Linfocitosis            | NR              | NR          |       | NR                        | NR           |       | NR              | NR           |         | 0.444   |
| Monocitos (miles/mm3)   |                 |             |       |                           |              |       |                 |              |         |         |
| Monocitopenia           | 5.06            | 3.3 - 6.81  | 0.553 | 12.15                     | 2.11 - 22.2  | 0.024 | 3.64            | 0.19 - 7.1   | 0.127   | 0.001   |
| Normal                  | 5.55            | 4.17 - 6.93 |       | 7.72                      | 2.66 - 12.77 |       | 4.73            | 2.95 - 6.5   |         | 0.013   |
| Monocitosis             | 3.64            | NR          |       | 3.64                      | NR           |       | NR              | NR           |         | 0.127   |
| Eosinófilos (miles/mm3) |                 |             |       |                           |              |       |                 |              |         |         |
| Normal                  | 5.09            | 4.2 - 5.97  | 0.393 | 7.72                      | 1.06 - 14.38 | 0.991 | 3.64            | 2.49 - 4.79  | NR      | 0.001   |
| Eosinofilia             | NR              | NR          |       | NR                        | NR           |       | NR              | NR           |         | --      |
| Basófilos (miles/mm3)   |                 |             |       |                           |              |       |                 |              |         |         |
| Normal                  | 5.55            | 4.66 - 6.44 | 0.007 | 10.48                     | 3.66 - 17.29 | 0.007 | 3.84            | 2.48 - 5.19  | <0.0001 | <0.0001 |
| Basofilia               | 0.099           | NR          |       | 3.64                      | NR           |       | 0.099           | NR           |         | <0.0001 |
| RPL                     |                 |             |       |                           |              |       |                 |              |         |         |
| ≤ 259.86                | 5.55            | 1.65 - 9.44 | 0.071 | 14.71                     | 5.66 - 23.77 | 0.018 | 4.73            | 3.38 - 6.07  | 0.984   | <0.0001 |
| ≥ 259.87                | 3.84            | 1.37 - 6.31 |       | 5.71                      | 4.83 - 6.59  |       | 3.31            | 2.01 - 4.62  |         | 0.097   |
| RNL                     |                 |             |       |                           |              |       |                 |              |         |         |
| ≤ 4                     | 5.55            | 4.85 - 6.25 | 0.470 | 7.72                      | 1.34 - 14    | 0.703 | 4.73            | 3.38 - 6.07  | 0.928   | 0.001   |
| ≥ 4.1                   | 3.64            | 0.25 - 7.03 |       | 12.15                     | NR           |       | 3.31            | 1.98 - 4.65  |         | 0.023   |
| Albúmina (g/dL)         |                 |             |       |                           |              |       |                 |              |         |         |
| Baja ≤ 3.4              | 0.099           | NR          | 0.09  | 5.06                      | NR           | NR    | 0.099           | NR           | <0.0001 | 0.317   |
| Normal (3.5 - 5.4)      | 5.55            | 4.31 - 6.79 |       | 10.48                     | 3.68 - 17.27 |       | 3.84            | 2.48 - 5.19  |         | <0.0001 |
| Alta ≥ 5.5              | NR              | NR          |       | NR                        | NR           |       | NR              | NR           |         | --      |
| ACE (ng/mL)             |                 |             |       |                           |              |       |                 |              |         |         |
| Normal (≤ 2)            | 5.09            | 3.41 - 6.77 | 0.632 | 5.06                      | NR           | 0.718 | 5.09            | 3.39 - 6.78  | 0.029   | 0.828   |
| Elevado (≥ 2.1)         | 4.79            | 3.45 - 6.14 |       | 7.72                      | 1.13 - 14.31 |       | 3.31            | 2.54 - 4.09  |         | <0.0001 |

DTX: Docetaxel, IC: intervalo de confianza, NR: Not Reached (al menos la mitad de los pacientes no presentaron un valor de SLP en la variable), RPL: Razón Plaquetas-Linfocitos, RNL: Razón Neutrófilos-Linfocitos, ACE: Antígeno Carcinoembrionario. P ≤ 0.005

Tabla 19. Supervivencia Libre de Progresión con los valores de biometría hemática entre grupos de tratamiento en 2T

| Variable                | Total N= 40     |              |        | Pembrolizumab + DTX n= 20 |              |        | DTX n= 40       |             |       | P       |
|-------------------------|-----------------|--------------|--------|---------------------------|--------------|--------|-----------------|-------------|-------|---------|
|                         | Mediana (meses) | IC 95%       | P      | Mediana (meses)           | IC 95%       | P      | Mediana (meses) | IC 95%      | P     |         |
| Plaquetas (miles/mm3)   |                 |              |        |                           |              |        |                 |             |       |         |
| Trombocitopenia         | 14.71           | NR           |        | 14.71                     | NR           |        | NR              | NR          |       | --      |
| Normal                  | 5.71            | 4.62 - 6.81  |        | 10.48                     | 4.04 - 16.92 |        | 3.64            | 1.42 - 5.86 |       | 0.001   |
| Trombocitosis           | 3.84            | 2.34 - 6.12  | 0.333  | 5.06                      | 2.02 - 8.09  | 0.092  | 2.84            | 2.31 - 5.36 | 0.538 | 0.280   |
| Neutrófilos (miles/mm3) |                 |              |        |                           |              |        |                 |             |       |         |
| Neutropenia             | 5.71            | 3.14 - 8.29  |        | 7.72                      | 4.51 - 10.92 |        | 5.092           | NR          |       | 0.083   |
| Normal                  | 5.55            | 4.35 - 6.75  |        | 10.48                     | 3.8 - 17.16  |        | 3.84            | 2.56 - 5.12 |       | 0.001   |
| Neutrofilia             | 3.22            | 2.8 - 3.63   | 0.011  | 3.22                      | NR           | <0.001 | 2.89            | NR          | 0.540 | 0.450   |
| Linfocitos (miles/mm3)  |                 |              |        |                           |              |        |                 |             |       |         |
| Linfopenia              | 5.71            | 3.79 - 7.63  |        | 5.97                      | 5.41 - 6.54  |        | 3.31            | 0 - 6.96    |       | 0.058   |
| Normal                  | 5.06            | 4.57 - 5.54  |        | 10.48                     | 3.86 - 17.1  |        | 3.84            | 2.32 - 5.36 |       | 0.001   |
| Linfocitosis            | NR              | NR           | 0.700  | NR                        | NR           | 0.582  | NR              | NR          | 0.611 | --      |
| Monocitos (miles/mm3)   |                 |              |        |                           |              |        |                 |             |       |         |
| Monocitopenia           | 16.46           | NR           |        | NR                        | NR           |        | 16.46           | NR          |       | --      |
| Normal                  | 5.06            | 4.54 - 5.57  |        | NR                        | NR           |        | 3.64            | 2.63 - 4.66 |       | --      |
| Monocitosis             | NR              | NR           | 0.038  | NR                        | NR           | 0.208  | NR              | NR          | 0.167 | --      |
| Eosinófilos (miles/mm3) |                 |              |        |                           |              |        |                 |             |       |         |
| Normal                  | 5.092           | 4.2 - 5.97   |        | 7.72                      | 1.06 - 14.38 |        | 3.64            | 2.49 - 4.79 |       | 0.001   |
| Eosinofilia             | NR              | NR           | 0.393  | NR                        | NR           | 0.991  | NR              | NR          | NR    | --      |
| Basófilos (miles/mm3)   |                 |              |        |                           |              |        |                 |             |       |         |
| Normal                  | 5.55            | 4.53 - 6.57  |        | 10.48                     | 3.66 - 17.29 |        | 3.64            | 2.49 - 4.79 |       | <0.0001 |
| Basofilia               | 3.64            | NR           | 0.282  | 3.64                      | NR           | 0.007  | NR              | NR          | NR    | --      |
| RPL                     |                 |              |        |                           |              |        |                 |             |       |         |
| ≤ 286.41                | 5.09            | 4.07 - 6.1   |        | 10.48                     | 3.6 - 17.35  |        | 4.73            | 2.13 - 7.32 |       | 0.003   |
| ≥ 286.42                | 5.71            | 2.96 - 8.46  | 0.480  | 5.97                      | 5.31 - 6.64  | 0.553  | 3.31            | 2.01 - 4.62 | 0.988 | 0.024   |
| RNL                     |                 |              |        |                           |              |        |                 |             |       |         |
| ≤ 4.46                  | 5.55            | 4.63 - 6.47  |        | 10.48                     | 4.19 - 16.76 |        | 4.73            | 2.13 - 7.32 |       | <0.0001 |
| ≥ 4.47                  | 4.27            | 1.18 - 7.35  | 0.118  | 5.97                      | 3.44 - 8.51  | 0.151  | 3.31            | 2.01 - 4.62 | 0.988 | 0.061   |
| Albúmina (g/dL)         |                 |              |        |                           |              |        |                 |             |       |         |
| Baja ≤ 3.4              | 3.31            | 2.79 - 3.84  |        | 5.06                      | 2.02 - 8.09  |        | 2.07            | 0.74 - 3.93 |       | 0.031   |
| Normal (3.5-5.4)        | 6.14            | 3.93 - 8.35  |        | 10.48                     | 4.47 - 16.49 |        | 4.76            | 4.2 - 5.32  |       | 0.018   |
| Alta ≥ 5.5              | NR              | NR           | <0.001 | NR                        | NR           | 0.272  | NR              | NR          | 0.004 | --      |
| ACE (ng/mL)             |                 |              |        |                           |              |        |                 |             |       |         |
| Normal (≤ 2)            | 6.14            | NR           |        | NR                        | NR           |        | 5.09            | NR          |       | --      |
| Elevado (≥ 2.1)         | 7.29            | 4.09 - 10.49 | 0.591  | NR                        | NR           | 0.27   | 3.84            | 3.26 - 4.42 | 0.921 | --      |

DTX: Docetaxel, IC: intervalo de confianza, NR: Not Reached (al menos la mitad de los pacientes no presentaron un valor de SLP en la variable), RPL: Razón Plaquetas-Linfocitos, RNL: Razón Neutrófilos-Linfocitos, ACE: Antígeno Carcinoembrionario. P ≤ 0.005

Tabla 20. Supervivencia Libre de Progresión con los valores de concentración de citocinas de 1T entre grupos de tratamiento

| Variable            | ≤ Mediana de<br>concentración<br>(ng/mL) ≥ | Mediana de SLP<br>(meses) | IC 95%         | P       |         |         |
|---------------------|--------------------------------------------|---------------------------|----------------|---------|---------|---------|
|                     |                                            |                           |                | ≤ vs. ≥ | ≤ vs. ≤ | ≥ vs. ≥ |
| IL-8 (CXCL8)        |                                            |                           |                |         |         |         |
| Pembrolizumab + DTX | ≤ 64.97                                    | 5.97                      | (4.99 - 6.96)  | 0.867   | 0.082   | <0.0001 |
|                     | ≥ 64.98                                    | 10.48                     | (3.99 - 16.96) |         |         |         |
| DTX                 | ≤ 47.33                                    | 3.84                      | (2.87 - 4.81)  | 0.236   |         |         |
|                     | ≥ 47.34                                    | 2.89                      | (0.95 - 4.82)  |         |         |         |
| IP-10 (CXCL10)      |                                            |                           |                |         |         |         |
| Pembrolizumab + DTX | ≤ 544.15                                   | NR                        | NR             | 0.185   | 0.079   | 0.01    |
|                     | ≥ 544.16                                   | NR                        | NR             |         |         |         |
| DTX                 | ≤ 468.64                                   | NR                        | NR             | 0.038   |         |         |
|                     | ≥ 468.65                                   | NR                        | NR             |         |         |         |
| Eotaxin (CCL11)     |                                            |                           |                |         |         |         |
| Pembrolizumab + DTX | ≤ 175.52                                   | 7.72                      | (1.5 - 13.94)  | 0.998   | 0.013   | 0.017   |
|                     | ≥ 175.52                                   | 5.97                      | (0.32 - 11.63) |         |         |         |
| DTX                 | ≤ 158.59                                   | 3.31                      | (1.18 - 5.45)  | 0.826   |         |         |
|                     | ≥ 158.60                                   | 3.64                      | (2.83 - 4.46)  |         |         |         |
| TARC (CCL17)        |                                            |                           |                |         |         |         |
| Pembrolizumab + DTX | ≤ 167.45                                   | 10.48                     | (1.68 - 19.28) | 0.878   | 0.006   | 0.018   |
|                     | ≥ 167.46                                   | 7.72                      | (2.79 - 12.65) |         |         |         |
| DTX                 | ≤ 172.44                                   | 3.64                      | (2.83 - 4.46)  | 0.644   |         |         |
|                     | ≥ 172.45                                   | 3.31                      | (0.467 - 6.16) |         |         |         |
| MCP-1 (CCL2)        |                                            |                           |                |         |         |         |
| Pembrolizumab + DTX | ≤ 454.98                                   | 10.48                     | (3.29 - 17.66) | 0.632   | 0.001   | 0.044   |
|                     | ≥ 454.99                                   | 7.72                      | (3.5 - 11.93)  |         |         |         |
| DTX                 | ≤ 511.01                                   | 3.31                      | (2.14 - 4.48)  | 0.195   |         |         |
|                     | ≥ 511.02                                   | 3.84                      | (1.6 - 6.08)   |         |         |         |
| RANTES (CCL5)       |                                            |                           |                |         |         |         |
| Pembrolizumab + DTX | ≤ 16852                                    | 7.72                      | (4.22 - 11.21) | 0.835   | 0.026   | 0.009   |
|                     | ≥ 16853                                    | 10.48                     | (5.44 - 15.51) |         |         |         |
| DTX                 | ≤ 19796.5                                  | 2.89                      | (0.448 - 5.33) | 0.890   |         |         |
|                     | ≥ 19796.6                                  | 3.84                      | (2.36 - 5.32)  |         |         |         |
| MIP-1α (CCL3)       |                                            |                           |                |         |         |         |
| Pembrolizumab + DTX | ≤ 29.62                                    | 5.71                      | (4.97 - 6.46)  | 0.048   | 0.056   | 0.001   |
|                     | ≥ 29.63                                    | 12.15                     | (7.09 - 17.21) |         |         |         |
| DTX                 | ≤ 20.69                                    | 3.31                      | (1.98 - 4.65)  | 0.471   |         |         |
|                     | ≥ 20.7                                     | 4.73                      | (3.38 - 6.07)  |         |         |         |
| MIG (CXCL9)         |                                            |                           |                |         |         |         |
| Pembrolizumab + DTX | ≤ 29.59                                    | 5.97                      | (0 - 14.17)    | 0.670   | 0.109   | ≤0.0001 |
|                     | ≥ 29.6                                     | 10.48                     | (5.63 - 15.32) |         |         |         |

|                     |          |       |                 |       |       |       |
|---------------------|----------|-------|-----------------|-------|-------|-------|
| DTX                 | ≤ 9.4    | 3.31  | (0.875 - 5.76)  | 0.257 |       |       |
|                     | ≥ 9.5    | 3.84  | (2.36 - 5.32)   |       |       |       |
| ENA-78 (CXCL5)      |          |       |                 |       |       |       |
| Pembrolizumab + DTX | ≤ 370.96 | 12.15 | (3.78 - 20.52)  | 0.189 | 0.001 | 0.115 |
|                     | ≥ 370.97 | 5.71  | (4.98 - 6.44)   |       |       |       |
| DTX                 | ≤ 556.95 | 3.64  | (2.17 - 5.12)   | 0.580 |       |       |
|                     | ≥ 556.96 | 3.31  | (1.04 - 5.59)   |       |       |       |
| MIP-3α (CCL20)      |          |       |                 |       |       |       |
| Pembrolizumab + DTX | ≤ 2.75   | 5.71  | (3.52 - 7.9)    | 0.175 | 0.028 | 0.014 |
|                     | ≥ 2.76   | 10.48 | (5.14 - 15.81)  |       |       |       |
| DTX                 | ≤ 1.7    | 3.64  | (2.68 - 4.61)   | 0.729 |       |       |
|                     | ≥ 1.8    | 2.07  | (0 - 5.3)       |       |       |       |
| GRO-α (CXCL1)       |          |       |                 |       |       |       |
| Pembrolizumab + DTX | ≤ 66.52  | 5.97  | (3.2 - 8.75)    | 0.291 | 0.007 | 0.021 |
|                     | ≥ 66.53  | 10.48 | (0.526 - 20.43) |       |       |       |
| DTX                 | ≤ 41.13  | 3.31  | (1.58 - 5.05)   | 0.283 |       |       |
|                     | ≥ 41.14  | 4.73  | (2.13 - 7.32)   |       |       |       |
| I-TAC (CXCL11)      |          |       |                 |       |       |       |
| Pembrolizumab + DTX | ≤ 35.71  | 12.15 | (5.79 - 18.51)  | 0.787 | 0.004 | 0.017 |
|                     | ≥ 35.72  | 10.48 | (4.14 - 16.81)  |       |       |       |
| DTX                 | ≤ 33.93  | 2.89  | (0.448 - 5.33)  | 0.568 |       |       |
|                     | ≥ 33.94  | 4.27  | (2.08 - 6.46)   |       |       |       |
| MIP-1β (CCL4)       |          |       |                 |       |       |       |
| Pembrolizumab + DTX | ≤ 31.68  | 5.97  | (1.34 - 10.61)  | 0.254 | 0.200 | 0.001 |
|                     | ≥ 31.69  | 14.71 | (4.19 - 25.24)  |       |       |       |
| DTX                 | ≤ 26.36  | 3.84  | (2.11 - 5.75)   | 0.288 |       |       |
|                     | ≥ 26.37  | 3.31  | (2.67 - 3.96)   |       |       |       |
| IL-1β               |          |       |                 |       |       |       |
| Pembrolizumab + DTX | ≤ 20.13  | 5.97  | (5.21 - 6.74)   | 0.953 | 0.006 | 0.063 |
|                     | ≥ 20.14  | 10.48 | NR              |       |       |       |
| DTX                 | ≤ 20.16  | 4.27  | (1.32 - 7.21)   | 0.659 |       |       |
|                     | ≥ 20.17  | 3.31  | (2.69 - 3.94)   |       |       |       |
| IFN-α               |          |       |                 |       |       |       |
| Pembrolizumab + DTX | ≤ 25.84  | 10.48 | (0 - 22.03)     | 0.867 | 0.002 | 0.04  |
|                     | ≥ 25.85  | 7.72  | (1.66 - 13.78)  |       |       |       |
| DTX                 | ≤ 11.69  | 3.84  | (0.331 - 7.35)  | 0.461 |       |       |
|                     | ≥ 11.7   | 3.31  | (2.53 - 4.09)   |       |       |       |
| IFN-γ               |          |       |                 |       |       |       |
| Pembrolizumab + DTX | ≤ 80.07  | 5.97  | (5.21 - 6.74)   | 0.263 | 0.003 | 0.015 |
|                     | ≥ 80.08  | NR    | NR              |       |       |       |
| DTX                 | ≤ 110.22 | 2.03  | (0 - 4.88)      | 0.138 |       |       |
|                     | ≥ 110.23 | 3.64  | (1.45 - 5.83)   |       |       |       |

| TNF-α               |          |       |                |       |       |       |
|---------------------|----------|-------|----------------|-------|-------|-------|
| Pembrolizumab + DTX | ≤ 39.35  | 10.48 | (4.14 - 16.81) | 0.563 | 0.009 | 0.007 |
|                     | ≥ 39.36  | 7.72  | NR             |       |       |       |
| DTX                 | ≤ 27.87  | 3.84  | (2.22 - 5.46)  | 0.944 |       |       |
|                     | ≥ 27.88  | 3.31  | (2.27 - 4.36)  |       |       |       |
| IL-6                |          |       |                |       |       |       |
| Pembrolizumab + DTX | ≤ 39.73  | 12.15 | (0 - 28)       | 0.267 | 0.006 | 0.039 |
|                     | ≥ 39.74  | 7.72  | (3.01 - 12.42) |       |       |       |
| DTX                 | ≤ 49.28  | 4.27  | (0.04 - 8.49)  | 0.805 |       |       |
|                     | ≥ 49.29  | 3.31  | (2.53 - 4.09)  |       |       |       |
| IL-10               |          |       |                |       |       |       |
| Pembrolizumab + DTX | ≤ 10.52  | 12.15 | (3.59 - 20.71) | 0.646 | 0.011 | 0.025 |
|                     | ≥ 10.53  | 7.72  | (5.02 - 10.41) |       |       |       |
| DTX                 | ≤ 9.24   | 4.27  | (3.06 - 5.47)  | 0.746 |       |       |
|                     | ≥ 9.25   | 3.31  | (2.72 - 3.91)  |       |       |       |
| IL-12p70            |          |       |                |       |       |       |
| Pembrolizumab + DTX | ≤ 8.75   | 5.97  | (0 - 14.9)     | 0.703 | 0.015 | 0.018 |
|                     | ≥ 8.76   | 7.72  | (5.04 - 10.39) |       |       |       |
| DTX                 | ≤ 11.36  | 4.27  | (3.06 - 5.47)  | 0.633 |       |       |
|                     | ≥ 11.37  | 3.31  | (2.72 - 3.91)  |       |       |       |
| IL-17A              |          |       |                |       |       |       |
| Pembrolizumab + DTX | ≤ 58.89  | 5.97  | (5.21 - 6.74)  | 0.955 | 0.018 | 0.018 |
|                     | ≥ 58.9   | 10.48 | NR             |       |       |       |
| DTX                 | ≤ 58.9   | 4.27  | (2.84 - 5.69)  | 0.699 |       |       |
|                     | ≥ 59     | 2.89  | (4.06 - 6.12)  |       |       |       |
| IL-18               |          |       |                |       |       |       |
| Pembrolizumab + DTX | ≤ 306.33 | 12.15 | (3.59 - 20.71) | 0.618 | 0.002 | 0.109 |
|                     | ≥ 306.34 | 7.72  | (5.02 - 10.41) |       |       |       |
| DTX                 | ≤ 595.44 | 2.89  | (0.448 - 5.33) | 0.240 |       |       |
|                     | ≥ 595.45 | 4.27  | (2.08 - 6.46)  |       |       |       |
| IL-23               |          |       |                |       |       |       |
| Pembrolizumab + DTX | ≤ 172.53 | 5.97  | (5.31 - 6.64)  | 0.632 | 0.017 | 0.011 |
|                     | ≥ 172.54 | 10.48 | (5.66 - 15.29) |       |       |       |
| DTX                 | ≤ 255.44 | 3.84  | (0.05 - 7.63)  | 0.751 |       |       |
|                     | ≥ 255.45 | 3.31  | (2.62 - 4.01)  |       |       |       |
| IL-33               |          |       |                |       |       |       |
| Pembrolizumab + DTX | ≤ 28.62  | 10.48 | (1.92 - 19.04) | 0.354 | 0.001 | 0.164 |
|                     | ≥ 28.63  | 7.72  | (4.33 - 11.11) |       |       |       |
| DTX                 | ≤ 15.9   | 4.27  | (2.76 - 5.77)  | 0.607 |       |       |
|                     | ≥ 16     | 3.31  | (2.74 - 3.89)  |       |       |       |

DTX: Docetaxel,  $\Delta$ T: diferencia de concentración entre la primera y la segunda toma de muestra sanguínea, NR: Not Reached (al menos la mitad de los pacientes no presentaron un valor de SLP en la variable).

Tabla 21. Supervivencia Libre de Progresión con los valores de concentración de citocinas de 2T entre grupos de tratamiento

| Variable            | ≤ Mediana de<br>concentración<br>(ng/mL) ≥ | Mediana de SLP<br>(meses) | IC 95%          | P       |         |         |
|---------------------|--------------------------------------------|---------------------------|-----------------|---------|---------|---------|
|                     |                                            |                           |                 | ≤ vs. ≥ | ≤ vs. ≤ | ≥ vs. ≥ |
| IL-8 (CXCL8)        |                                            |                           |                 |         |         |         |
| Pembrolizumab + DTX | ≤ 57.31                                    | 5.71                      | (4.84 - 6.59)   | 0.319   | 0.024   | 0.011   |
|                     | ≥ 57.32                                    | 12.15                     | (3.38 - 20.92)  |         |         |         |
| DTX                 | ≤ 59.89                                    | 3.84                      | (2.36 - 5.32)   | 0.921   |         |         |
|                     | ≥ 59.90                                    | 3.31                      | (2.14 - 4.48)   |         |         |         |
| IP-10 (CXCL10)      |                                            |                           |                 |         |         |         |
| Pembrolizumab + DTX | ≤ 861.23                                   | 5.71                      | (4.87 - 6.55)   | 0.324   | 0.001   | 0.037   |
|                     | ≥ 861.24                                   | 12.15                     | (3.31 - 20.99)  |         |         |         |
| DTX                 | ≤ 534.37                                   | 2.07                      | (0.746 - 3.39)  | 0.009   |         |         |
|                     | ≥ 534.38                                   | 4.76                      | (3.49 - 6.03)   |         |         |         |
| Eotaxin (CCL11)     |                                            |                           |                 |         |         |         |
| Pembrolizumab + DTX | ≤ 192.45                                   | 5.71                      | (0 - 12.05)     | 0.333   | 0.005   | 0.031   |
|                     | ≥ 192.46                                   | 14.71                     | (5.83 - 23.6)   |         |         |         |
| DTX                 | ≤ 175.11                                   | 3.31                      | (2.67 - 3.96)   | 0.112   |         |         |
|                     | ≥ 175.12                                   | 3.84                      | (2.11 - 5.57)   |         |         |         |
| TARC (CCL17)        |                                            |                           |                 |         |         |         |
| Pembrolizumab + DTX | ≤ 141.68                                   | 5.97                      | (5.05 - 6.9)    | 0.210   | 0.050   | 0.001   |
|                     | ≥ 141.69                                   | 14.71                     | (4.03 - 25.4)   |         |         |         |
| DTX                 | ≤ 201.71                                   | 3.31                      | (0.875 - 5.76)  | 0.717   |         |         |
|                     | ≥ 201.72                                   | 3.84                      | (2.36 - 5.32)   |         |         |         |
| MCP-1 (CCL2)        |                                            |                           |                 |         |         |         |
| Pembrolizumab + DTX | ≤ 457.55                                   | 5.71                      | (4.87 - 6.55)   | 0.053   | 0.001   | 0.008   |
|                     | ≥ 457.56                                   | NR                        | NR              |         |         |         |
| DTX                 | ≤ 482.06                                   | 3.31                      | (2.67 - 3.96)   | 0.046   |         |         |
|                     | ≥ 482.07                                   | 4.76                      | (2.82 - 6.69)   |         |         |         |
| RANTES (CCL5)       |                                            |                           |                 |         |         |         |
| Pembrolizumab + DTX | ≤ 17123.5                                  | 10.48                     | (0.887 - 20.07) | 0.900   | <0.0001 | 0.098   |
|                     | ≥ 17123.6                                  | 7.72                      | (2.63 - 12.8)   |         |         |         |
| DTX                 | ≤ 20915.5                                  | 3.31                      | (2.53 - 4.09)   | 0.097   |         |         |
|                     | ≥ 20915.6                                  | 4.73                      | (0 - 10.22)     |         |         |         |
| MIP-1α (CCL3)       |                                            |                           |                 |         |         |         |
| Pembrolizumab + DTX | ≤ 20.36                                    | 10.48                     | (1.04 - 19.92)  | 0.641   | 0.004   | 0.136   |
|                     | ≥ 20.37                                    | 7.72                      | (4.18 - 11.25)  |         |         |         |
| DTX                 | ≤ 29.62                                    | 3.31                      | (2.67 - 3.96)   | 0.284   |         |         |
|                     | ≥ 29.63                                    | 3.84                      | (2.87 - 4.81)   |         |         |         |
| MIG (CXCL9)         |                                            |                           |                 |         |         |         |
| Pembrolizumab + DTX | ≤ 70.67                                    | 5.71                      | (4.9 - 6.52)    | 0.514   | 0.006   | 0.037   |
|                     | ≥ 70.68                                    | 10.48                     | (5.5 - 15.45)   |         |         |         |

|                     |          |       |                 |       |       |       |
|---------------------|----------|-------|-----------------|-------|-------|-------|
| DTX                 | ≤ 13.58  | 2.07  | (0.746 - 3.93)  | 0.028 |       |       |
|                     | ≥ 13.59  | 4.73  | (3.96 - 5.49)   |       |       |       |
| ENA-78 (CXCL5)      |          |       |                 |       |       |       |
| Pembrolizumab + DTX | ≤ 325.24 | 5.97  | (5.16 - 6.79)   | 0.428 | 0.010 | 0.011 |
|                     | ≥ 325.25 | 10.48 | (6.35 - 14.6)   |       |       |       |
| DTX                 | ≤ 304.37 | 2.89  | (0.448 - 5.33)  | 0.532 |       |       |
|                     | ≥ 304.38 | 3.84  | (1.65 - 6.03)   |       |       |       |
| MIP-3α (CCL20)      |          |       |                 |       |       |       |
| Pembrolizumab + DTX | ≤ 3.8    | 10.48 | (5.75 - 15.21)  | 0.711 | 0.013 | 0.012 |
|                     | ≥ 3.9    | 7.72  | (0 - 15.79)     |       |       |       |
| DTX                 | ≤ 1.7    | 3.31  | (1.93 - 4.7)    | 0.897 |       |       |
|                     | ≥ 1.8    | 4.27  | (2.57 - 5.96)   |       |       |       |
| GRO-α (CXCL1)       |          |       |                 |       |       |       |
| Pembrolizumab + DTX | ≤ 60.79  | 7.72  | (1.92 - 13.51)  | 0.738 | 0.004 | 0.049 |
|                     | ≥ 60.8   | 12.15 | (0 - 24.46)     |       |       |       |
| DTX                 | ≤ 35.68  | 3.31  | (1.61 - 5.02)   | 0.652 |       |       |
|                     | ≥ 35.69  | 4.27  | (3.02 - 5.51)   |       |       |       |
| I-TAC (CXCL11)      |          |       |                 |       |       |       |
| Pembrolizumab + DTX | ≤ 59.49  | 5.97  | (5.16 - 6.79)   | 0.428 | 0.004 | 0.02  |
|                     | ≥ 59.5   | 10.48 | (6.35 - 14.6)   |       |       |       |
| DTX                 | ≤ 45.3   | 2.07  | (0 - 4.87)      | 0.186 |       |       |
|                     | ≥ 45.4   | 3.64  | (2.17 - 5.12)   |       |       |       |
| MIP-1β (CCL4)       |          |       |                 |       |       |       |
| Pembrolizumab + DTX | ≤ 25.62  | 5.71  | (4.56 - 6.87)   | 0.059 | 0.017 | 0.003 |
|                     | ≥ 25.63  | 14.71 | (0.776 - 28.66) |       |       |       |
| DTX                 | ≤ 18.23  | 3.31  | (2.14 - 4.48)   | 0.668 |       |       |
|                     | ≥ 18.24  | 4.27  | (2.08 - 6.46)   |       |       |       |
| IL-1β               |          |       |                 |       |       |       |
| Pembrolizumab + DTX | ≤ 6.14   | 10.48 | (0.887 - 20.07) | 0.654 | 0.091 | 0.004 |
|                     | ≥ 6.15   | 2.16  | (3.47 - 11.97)  |       |       |       |
| DTX                 | ≤ 10.22  | 0.524 | (2.81 - 4.87)   | 0.326 |       |       |
|                     | ≥ 10.23  | 1.86  | (0 - 6.96)      |       |       |       |
| IFN-α               |          |       |                 |       |       |       |
| Pembrolizumab + DTX | ≤ 5.44   | 10.48 | (3.04 - 17.91)  | 0.860 | 0.017 | 0.039 |
|                     | ≥ 5.45   | 7.72  | (5.33 - 10.1)   |       |       |       |
| DTX                 | ≤ 2.1    | 3.64  | (2.17 - 5.12)   | 0.766 |       |       |
|                     | ≥ 2.2    | 3.31  | (0.535 - 6.1)   |       |       |       |
| IFN-γ               |          |       |                 |       |       |       |
| Pembrolizumab + DTX | ≤ 54.08  | 10.48 | (0 - 24.4)      | 0.964 | 0.004 | 0.017 |
|                     | ≥ 54.09  | 7.72  | (4.18 - 11.25)  |       |       |       |
| DTX                 | ≤ 59.74  | 3.31  | (0.824 - 5.81)  | 0.505 |       |       |
|                     | ≥ 59.75  | 4.27  | (2.082 - 6.46)  |       |       |       |

| TNF-α               |          |       |                 |       |       |         |
|---------------------|----------|-------|-----------------|-------|-------|---------|
| Pembrolizumab + DTX | ≤ 23.52  | 10.48 | (0.380 - 20.58) | 0.235 | 0.010 | 0.023   |
|                     | ≥ 23.53  | 5.97  | (3.59 - 8.36)   |       |       |         |
| DTX                 | ≤ 17.33  | 3.64  | (2.83 - 4.46)   | 0.718 |       |         |
|                     | ≥ 17.34  | 3.31  | (0 - 6.72)      |       |       |         |
| IL-6                |          |       |                 |       |       |         |
| Pembrolizumab + DTX | ≤ 32.01  | 12.15 | (5.22 - 19.08)  | 0.186 | 0.001 | 0.216   |
|                     | ≥ 31.02  | 5.97  | (3.58 - 8.37)   |       |       |         |
| DTX                 | ≤ 30.06  | 3.64  | (1.27 - 6.02)   | 0.431 |       |         |
|                     | ≥ 30.07  | 3.84  | (2.3 - 5.38)    |       |       |         |
| IL-10               |          |       |                 |       |       |         |
| Pembrolizumab + DTX | ≤ 8.61   | 12.15 | (5.2 - 19.11)   | 0.747 | 0.004 | 0.093   |
|                     | ≥ 8.62   | 7.72  | (4.3 - 11.13)   |       |       |         |
| DTX                 | ≤ 8.92   | 3.64  | (1.5 - 5.78)    | 0.606 |       |         |
|                     | ≥ 8.93   | 3.31  | (1.45 - 5.18)   |       |       |         |
| IL-12p70            |          |       |                 |       |       |         |
| Pembrolizumab + DTX | ≤ 7.82   | 5.71  | (0.54 - 10.88)  | 0.848 | 0.040 | 0.001   |
|                     | ≥ 7.83   | 7.72  | (2.12 - 13.32)  |       |       |         |
| DTX                 | ≤ 8.75   | 4.27  | (2.25 - 6.29)   | 0.341 |       |         |
|                     | ≥ 8.76   | 3.31  | (1.44 - 5.19)   |       |       |         |
| IL-17A              |          |       |                 |       |       |         |
| Pembrolizumab + DTX | ≤ 37.9   | 5.71  | (4.83 - 6.59)   | 0.178 | 0.164 | 0.006   |
|                     | ≥ 38     | 12.15 | (8.59 - 15.72)  |       |       |         |
| DTX                 | ≤ 31.13  | 3.84  | (1.7 - 5.98)    | 0.913 |       |         |
|                     | ≥ 31.14  | 3.31  | (1.68 - 4.94)   |       |       |         |
| IL-18               |          |       |                 |       |       |         |
| Pembrolizumab + DTX | ≤ 506.88 | 12.15 | (1.75 - 22.55)  | 0.185 | 0.001 | 0.19    |
|                     | ≥ 506.89 | 7.72  | (5.33 - 10.1)   |       |       |         |
| DTX                 | ≤ 604.41 | 3.64  | (0.898 - 6.39)  | 0.408 |       |         |
|                     | ≥ 604.42 | 3.31  | (1.89 - 4.74)   |       |       |         |
| IL-23               |          |       |                 |       |       |         |
| Pembrolizumab + DTX | ≤ 77.88  | 12.15 | (3.66 - 20.65)  | 0.866 | 0.005 | 0.014   |
|                     | ≥ 77.89  | 7.72  | (3.5 - 11.93)   |       |       |         |
| DTX                 | ≤ 50.73  | 2.07  | (0.746 - 3.39)  | 0.494 |       |         |
|                     | ≥ 50.74  | 3.84  | (2.87 - 4.81)   |       |       |         |
| IL-33               |          |       |                 |       |       |         |
| Pembrolizumab + DTX | ≤ 7.08   | 5.97  | (5.33 - 6.62)   | 0.560 | 0.147 | <0.0001 |
|                     | ≥ 7.09   | 12.15 | (5.6 - 18.7)    |       |       |         |
| DTX                 | ≤ 5.52   | 4.76  | (2.38 - 7.13)   | 0.062 |       |         |
|                     | ≥ 5.53   | 3.31  | (1.44 - 5.19)   |       |       |         |

DTX: Docetaxel,  $\Delta T$ : diferencia de concentración entre la primera y la segunda toma de muestra sanguínea, NR: Not Reached (al menos la mitad de los pacientes no presentaron un valor de SLP en la variable).

**Análisis de correlación de la Supervivencia Global con las características clínico-patológicas y los valores de primera y segunda toma de muestra sanguínea de biometría hemática y de concentración de citocinas por grupo de tratamiento**

No se detectaron diferencias significativas en alguna de las 30 categorías clínico-patológicas entre el total de pacientes y los grupos de tratamiento (tabla 22), siendo sólo la exposición negativa a humo de leña y estado negativo de PD-L1 las categorías que obtuvieron un valor de significancia estadística, ya que el resto tuvieron al menos un NR en la mediana de la variable en alguno de los grupos. Por otra parte, tales diferencias significativas existieron en los valores SG obtenidos por los pacientes por grupo sobre siete categorías clínico-patológicas: género e índice tabáquico en total de pacientes, grupos por edad, historial de tabaquismo e histología de la enfermedad para Pembrolizumab más Docetaxel e índice tabáquico en el grupo de Docetaxel.

Los valores de SG asociados a los valores de biometría hemática de primera toma (tabla 23) no tuvieron alguna diferencia significativa entre el total de pacientes y los grupos de tratamiento, siendo únicamente las categorías de trombocitosis, valor normal de neutrófilos y monocitos y  $RPL \geq 259.87$  y  $RNL \geq 4.1$  aquellas que obtuvieron un valor P. En el total de pacientes sólo existieron diferencias significativas de SG en los valores de plaquetas y monocitos. Lo mismo ocurrió con los valores de basófilos y RNL para Pembrolizumab más Docetaxel, siendo el grupo de Docetaxel el único que no presentó ninguna diferencia significativa en esta condición del análisis. Para los valores de biometría hemática de segunda toma, los valores SG obtenidos por categoría sólo fueron significativamente diferentes entre el total de pacientes y los grupos de tratamiento para el valor normal de plaquetas (tabla 24). El valor de neutrófilos fue significativamente diferente dentro del total de pacientes, así como el valor de plaquetas para el total y los dos grupos de tratamiento. El mismo fenómeno ocurrió para basófilos en el total de pacientes y el grupo de Pembrolizumab más Docetaxel.

La comparación entre el valor menor o igual que y mayor o igual que ( $\leq$  Vs.  $\geq$ ) de mediana de concentración por citocina con el valor de mediana de SLP obtenido por grupo de tratamiento, mostró que en la primera toma no existieron diferencias significativas en este rubro (tabla 25), mientras que en la segunda toma únicamente IP-10 en el grupo de Docetaxel presentó una diferencia significativa entre dichos valores (tabla 26). Por su parte, la comparación entre el valor menor o igual que ( $\leq$ ) de concentración de citocina entre grupos de tratamiento ( $\leq$  de Pembrolizumab más Docetaxel Vs.  $\leq$  Docetaxel) demostró que sólo existieron diferencias significativas sobre el valor de mediana de SLP obtenido por grupo en IL-8 e IL-10 en la primera toma, mientras que la segunda no presentó diferencia alguna. Del mismo modo, la comparación entre el valor mayor o igual que ( $\geq$ ) de concentración de citocina entre grupos de tratamiento ( $\geq$  de Pembrolizumab más Docetaxel Vs.  $\geq$  Docetaxel) mostró diferencias significativas en MCP-1 e IP-10 en primera y segunda toma, respectivamente.

A excepción de  $GRO\alpha$ ,  $TNF-\alpha$  e IL-6 en primera toma, todas las citocinas presentaron un valor NR en el valor de mediana asociado al valor por debajo y por encima de la mediana de concentración de citocinas en al menos uno de los dos grupos, incluyendo en las cuatro citocinas que obtuvieron un valor significativamente diferente.

Tabla 22. Supervivencia Global con las características clínicas de los pacientes de los grupos de tratamiento

| Variable                                   | Total N=40      |               |       | Pembrolizumab + DTX N=20 |               |       | DTX N=40        |               |       | P     |
|--------------------------------------------|-----------------|---------------|-------|--------------------------|---------------|-------|-----------------|---------------|-------|-------|
|                                            | Mediana (meses) | IC 95%        | P     | Mediana (meses)          | IC 95%        | P     | Mediana (meses) | IC 95%        | P     |       |
| <b>Género</b>                              |                 |               |       |                          |               |       |                 |               |       |       |
| Femenino                                   | NR              | NR            | 0.014 | NR                       | NR            | 0.066 | NR              | NR            | 0.165 | --    |
| Masculino                                  | 22.2            | 14.99 - 29.42 |       | 22.2                     | 16.05 - 28.36 |       | NR              | NR            |       |       |
| <b>Grupos por edad (años)</b>              |                 |               |       |                          |               |       |                 |               |       |       |
| ≤ 60                                       | NR              | NR            | 0.393 | NR                       | NR            | 0.035 | 33.47           | 16.95 - 50    | 0.629 | --    |
| ≥ 60                                       | 32.59           | NR            |       | 22.2                     | 15.94 - 28.47 |       | NR              | NR            |       |       |
| <b>Historial de tabaquismo</b>             |                 |               |       |                          |               |       |                 |               |       |       |
| Negativo                                   | NR              | NR            | 0.063 | NR                       | NR            | 0.017 | 33.47           | NR            | 0.966 | --    |
| Positivo                                   | 29.66           | 20.14 - 39.18 |       | 28.64                    | 13.18 - 44.11 |       | NR              | NR            |       |       |
| <b>Índice tabáquico</b>                    |                 |               |       |                          |               |       |                 |               |       |       |
| ≤ 20                                       | NR              | NR            | 0.021 | 11.26                    | NR            | 0.594 | NR              | NR            | 0.049 | --    |
| ≥ 21                                       | 22.6            | 15.89 - 29.3  |       | 28.64                    | 16.24 - 41.05 |       | NR              | NR            |       |       |
| <b>Exposición a humo de leña</b>           |                 |               |       |                          |               |       |                 |               |       |       |
| Negativo                                   | 33.47           | NR            | 0.327 | 29.66                    | NR            | 0.722 | 33.47           | 17.77 - 49.17 | 0.469 | 0.256 |
| Positivo                                   | NR              | NR            |       | 32.59                    | 15.97 - 49.2  |       | NR              | NR            |       |       |
| <b>Índice de exposición a humo de leña</b> |                 |               |       |                          |               |       |                 |               |       |       |
| ≤ 20                                       | 32.59           | 12.96 - 52.21 | 0.607 | 32.59                    | NR            | 0.808 | NR              | NR            | 0.480 | --    |
| ≥ 21                                       | NR              | NR            |       | 22.2                     | NR            |       | NR              | NR            |       |       |
| <b>ECOG al momento del Dx</b>              |                 |               |       |                          |               |       |                 |               |       |       |
| ≤ 1                                        | 33.47           | NR            | 0.797 | 32.59                    | 27.03 - 38.14 | 0.857 | NR              | NR            | NR    | --    |
| ≥ 2                                        | 19.28           | NR            |       | 19.28                    | NR            |       | NR              | NR            |       |       |
| <b>Histología</b>                          |                 |               |       |                          |               |       |                 |               |       |       |
| Otros                                      | 19.28           | NR            | 0.561 | 15.63                    | NR            | 0.023 | NR              | NR            | 0.437 | --    |
| Adenocarcinoma                             | 33.47           | NR            |       | 32.59                    | NR            |       | NR              | NR            |       |       |
| Lepídico                                   | NR              | NR            | 0.809 | NR                       | NR            | 0.876 | NR              | NR            | 0.506 | --    |
| Acinar / Papilar                           | NR              | NR            |       | 32.59                    | 25.08 - 40.09 |       | NR              | NR            |       |       |
| Micropapilar / Sólido                      | NR              | NR            |       | NR                       | NR            |       | NR              | NR            |       |       |
| No especificado                            | NR              | NR            |       | NR                       | NR            |       | NR              | NR            |       |       |
| <b>Oncotarget variation</b>                |                 |               |       |                          |               |       |                 |               |       |       |
| ALK positivo                               | NR              | NR            | 0.064 | NR                       | NR            | 0.009 | NR              | NR            | 0.221 | --    |
| EGFR positivo                              | NR              | NR            |       | NR                       | NR            |       | NR              | NR            |       |       |
| Ex19del                                    | NR              | NR            | 0.771 | NR                       | NR            | NR    | 33.47           | NR            | NR    | --    |
| Ex21 (L858R)                               | NR              | NR            |       | NR                       | NR            |       | NR              | NR            |       |       |
| EX20 (T790M)                               | NR              | NR            |       | NR                       | NR            |       | NR              | NR            |       |       |
| <b>Estado de PD-L1</b>                     |                 |               |       |                          |               |       |                 |               |       |       |
| No probado                                 | NR              | NR            | 0.406 | 29.66                    | 26.72 - 32.61 | 0.936 | NR              | NR            | 0.073 | --    |
| Negativo                                   | 32.59           | 16.53 - 48.64 |       | 32.59                    | 0.572 - 64.61 |       | 22.6            | 15.26 - 29.93 |       |       |
| Positivo                                   | 33.47           | 7.83 - 59.11  |       | NR                       | NR            |       | 33.47           | NR            |       |       |
| <b>Expresión de PD-L1</b>                  |                 |               |       |                          |               |       |                 |               |       |       |
| Baja expresión (< 50%)                     | NR              | NR            | 0.796 | NR                       | NR            | NR    | NR              | NR            | NR    | --    |
| Alta expresión (≥ 50%)                     | 33.47           | 7.83 - 59.11  |       | NR                       | NR            |       | NR              | NR            |       |       |

DTX: Docetaxel, Dx: diagnóstico, IC: intervalo de confianza, NR: Not Reached (al menos la mitad de los pacientes no presentaron un valor de SG en la variable), ECOG: escala de calidad de vida de acuerdo al Grupo Oncológico Cooperativo del Este, ALK: Cinasa de Linfoma Anaplásico, EGFR: Receptor del Factor de Crecimiento Epidérmico, Ex19del: Deleción del Exón 19, Ex21 (L858R): Sustitución de una Leucina por una Arginina en la posición 858 del Exón 21, Ex20 (T790M): Sustitución de una Treonina por una Metionina en la posición 790 del Exón 20, PD-L1: Ligando 1 de Muerte Celular Programada.  $P \leq 0.05$ .

Tabla 23. Supervivencia Global con los valores de biometría hemática entre grupos de tratamiento 1T

| Variable                       | Total N=40      |               |       | Pembrolizumab + DTX N=20 |               |       | DTX N=40        |               |       | P     |
|--------------------------------|-----------------|---------------|-------|--------------------------|---------------|-------|-----------------|---------------|-------|-------|
|                                | Mediana (meses) | IC 95%        | P     | Mediana (meses)          | IC 95%        | P     | Mediana (meses) | IC 95%        | P     |       |
| <b>Plaquetas (miles/mm3)</b>   |                 |               |       |                          |               |       |                 |               |       |       |
| Trombocitopenia                | NR              | NR            |       | NR                       | NR            |       | NR              | NR            |       | --    |
| Normal                         | NR              | NR            |       | 32.59                    | 25.83 - 39.34 |       | NR              | NR            |       | --    |
| Trombocitosis                  | 22.2            | 8.49 - 35.92  | 0.083 | 15.63                    | NR            | 0.247 | 22.6            | 7.77 - 37.43  | 0.101 | 0.796 |
| <b>Neutrófilos (miles/mm3)</b> |                 |               |       |                          |               |       |                 |               |       |       |
| Neutropenia                    | NR              | NR            |       | NR                       | NR            |       | NR              | NR            |       | --    |
| Normal                         | 33.47           | 25.82 - 41.13 |       | 28.64                    | 15.38 - 41.91 |       | 33.47           | NR            |       | 0.146 |
| Neutrofilia                    | NR              | NR            | 0.299 | NR                       | NR            | 0.164 | NR              | NR            | 0.842 | --    |
| <b>Linfocitos (miles/mm3)</b>  |                 |               |       |                          |               |       |                 |               |       |       |
| Linfopenia                     | 33.47           | 26.53 - 40.41 |       | NR                       | NR            |       | 33.47           | NR            |       | --    |
| Normal                         | 32.59           | NR            |       | 29.66                    | 14.83 - 44.49 |       | NR              | NR            |       | --    |
| Linfocitosis                   | NR              | NR            | 0.448 | NR                       | NR            | 0.548 | NR              | NR            | 0.9   | --    |
| <b>Monocitos (miles/mm3)</b>   |                 |               |       |                          |               |       |                 |               |       |       |
| Monocitopenia                  | NR              | NR            |       | NR                       | NR            |       | NR              | NR            |       | --    |
| Normal                         | 33.47           | 31.61 - 35.34 |       | 32.59                    | 27.69 - 37.49 |       | 33.47           | 17.95 - 48.99 |       | 0.287 |
| Monocitosis                    | 15.63           | NR            | 0.024 | 15.63                    | NR            | 0.098 | NR              | NR            | 0.783 | --    |
| <b>Eosinófilos (miles/mm3)</b> |                 |               |       |                          |               |       |                 |               |       |       |
| Normal                         | 33.47           | NR            |       | 32.59                    | 26.51 - 38.67 |       | NR              | NR            |       | --    |
| Eosinofilia                    | 15.63           | NR            | 0.083 | 15.63                    | NR            | 0.205 | NR              | NR            | NR    | --    |
| <b>Basófilos (miles/mm3)</b>   |                 |               |       |                          |               |       |                 |               |       |       |
| Normal                         | 33.47           | NR            |       | 32.59                    | 26.54 - 38.64 |       | NR              | NR            |       | --    |
| Basofilia                      | 15.63           | NR            | 0.058 | 15.63                    | NR            | 0.037 | NR              | NR            | 0.814 | --    |
| <b>RPL</b>                     |                 |               |       |                          |               |       |                 |               |       |       |
| ≤ 259.86                       | NR              | NR            |       | 32.59                    | 25.72 - 39.45 |       | NR              | NR            |       | --    |
| ≥ 259.87                       | 33.47           | 26.48 - 40.47 | 0.94  | 28.64                    | 15.1 - 42.18  | 0.575 | 33.47           | NR            | 0.843 | 0.241 |
| <b>RNL</b>                     |                 |               |       |                          |               |       |                 |               |       |       |
| ≤ 4                            | NR              | NR            |       | NR                       | NR            |       | NR              | NR            |       | --    |
| ≥ 4.1                          | 33.47           | 24.55 - 42.4  | 0.146 | 19.28                    | 6.63 - 31.94  | 0.031 | 33.47           | 13 - 53.95    | 0.826 | 0.114 |
| <b>Albúmina (g/dL)</b>         |                 |               |       |                          |               |       |                 |               |       |       |
| Baja ≤ 3.4                     | 22.2            | NR            |       | 22.2                     | NR            |       | NR              | NR            |       | --    |
| Normal (3.5-5.4)               | 33.47           | NR            |       | 32.59                    | 26.64 - 38.53 |       | NR              | NR            |       | --    |
| Alta ≥ 5.5                     | NR              | NR            | 0.304 | NR                       | NR            | 0.356 | NR              | NR            | 0.814 | --    |
| <b>ACE (ng/mL)</b>             |                 |               |       |                          |               |       |                 |               |       |       |
| Normal (≤ 2)                   | NR              | NR            |       | 22.2                     | NR            |       | NR              | NR            |       | --    |
| Elevado (≥ 2.1)                | 33.47           | NR            | 0.651 | 32.59                    | NR            | 0.558 | NR              | NR            | 0.255 | --    |

DTX: Docetaxel, IC: intervalo de confianza, NR: Not Reached (al menos la mitad de los pacientes no presentaron un valor de SG en la variable), RPL: Razón Plaquetas-Linfocitos, RNL: Razón Neutrófilos-Linfocitos, ACE: Antígeno Carcinoembrionario. P ≤ 0.005

Tabla 24. Supervivencia Global con los valores de biometría hemática entre grupos de tratamiento 2T

| Variable                | Total N=40      |               |         | Pembrolizumab + DTX N=20 |               |       | DTX N=40        |        |       | P     |
|-------------------------|-----------------|---------------|---------|--------------------------|---------------|-------|-----------------|--------|-------|-------|
|                         | Mediana (meses) | IC 95%        | P       | Mediana (meses)          | IC 95%        | P     | Mediana (meses) | IC 95% | P     |       |
| Plaquetas (miles/mm3)   |                 |               |         |                          |               |       |                 |        |       |       |
| Trombocitopenia         | 32.59           | NR            |         | 32.59                    | NR            |       | NR              | NR     |       | --    |
| Normal                  | NR              | NR            |         | NR                       | NR            |       | 13.33           | NR     |       | 0.240 |
| Trombocitosis           | 22.2            | 12.57 - 31.84 | <0.0001 | 22.2                     | 13.13 - 31.28 | 0.025 | NR              | NR     | 0.003 | --    |
| Neutrófilos (miles/mm3) |                 |               |         |                          |               |       |                 |        |       |       |
| Neutropenia             | 32.59           | 10.65 - 54.52 |         | 32.59                    | NR            |       | NR              | NR     |       | --    |
| Normal                  | NR              | NR            |         | NR                       | NR            |       | NR              | NR     |       | --    |
| Neutrofilia             | 15.63           | 5.63 - 25.64  | 0.050   | 15.63                    | NR            | 0.242 | NR              | NR     | 0.185 | --    |
| Linfocitos (miles/mm3)  |                 |               |         |                          |               |       |                 |        |       |       |
| Linfopenia              | 33.47           | 32.14 - 34.81 | 0.431   | 32.59                    | 3.47 - 61.7   | 0.994 | 33.47           | NR     | 0.29  | 0.097 |
| Normal                  | 29.66           | NR            |         | 29.66                    | 18.68 - 40.65 |       | NR              | NR     |       | --    |
| Linfocitosis            | NR              | NR            |         | NR                       | NR            |       | NR              | NR     |       | --    |
| Monocitos (miles/mm3)   |                 |               |         |                          |               |       |                 |        |       |       |
| Monocitopenia           | 19.28           | 9.25 - 29.31  | 0.399   | 19.28                    | 8.56 - 30.01  | 0.533 | NR              | NR     | 0.814 | --    |
| Normal                  | 33.47           | NR            |         | 32.59                    | 27.09 - 38.08 |       | NR              | NR     |       | --    |
| Monocitosis             | NR              | NR            |         | NR                       | NR            |       | NR              | NR     |       | --    |
| Eosinófilos (miles/mm3) |                 |               |         |                          |               |       |                 |        |       |       |
| Normal                  | 33.47           | NR            | 0.083   | 32.59                    | 26.51 - 38.67 | 0.205 | NR              | NR     | NR    | --    |
| Eosinofilia             | 15.63           | NR            |         | 15.63                    | NR            |       | NR              | NR     |       | --    |
| Basófilos (miles/mm3)   |                 |               |         |                          |               |       |                 |        |       |       |
| Normal                  | 33.47           | NR            | 0.007   | 32.59                    | 26.54 - 38.64 | 0.037 | NR              | NR     | NR    | --    |
| Basofilia               | 15.63           | NR            |         | 15.63                    | NR            |       | NR              | NR     |       | --    |
| RPL                     |                 |               |         |                          |               |       |                 |        |       |       |
| ≤ 286.41                | 29.66           | 22.73 - 36.6  | 0.300   | NR                       | NR            | 0.642 | NR              | NR     | 0.656 | --    |
| ≥ 286.42                | 33.47           | 8.49 - 58.46  |         | NR                       | NR            |       | 33.47           | NR     |       | 0.430 |
| RNL                     |                 |               |         |                          |               |       |                 |        |       |       |
| ≤ 4.46                  | 32.59           | NR            | 0.987   | 32.59                    | 25.59 - 39.58 | 0.186 | NR              | NR     | 0.656 | --    |
| ≥ 4.47                  | 33.47           | 26.57 - 40.38 |         | 28.64                    | 3.78 - 53.51  |       | 33.47           | NR     |       | 0.101 |
| Albúmina (g/dL)         |                 |               |         |                          |               |       |                 |        |       |       |
| Baja ≤ 3.4              | 32.59           | 24.89 - 40.28 | 0.297   | 28.64                    | 18.08 - 39.2  | 0.248 | 33.47           | NR     | 0.554 | 0.485 |
| Normal (3.5-5.4)        | NR              | NR            |         | NR                       | NR            |       | NR              | NR     |       | --    |
| Alta ≥ 5.5              | NR              | NR            |         | NR                       | NR            |       | NR              | NR     |       | --    |
| ACE (ng/mL)             |                 |               |         |                          |               |       |                 |        |       |       |
| Normal (≤ 2)            | NR              | NR            | 0.263   | NR                       | NR            | 0.468 | NR              | NR     | NR    | --    |
| Elevado (≥ 2.1)         | NR              | NR            |         | NR                       | NR            |       | NR              | NR     |       | --    |

DTX: Docetaxel, IC: intervalo de confianza, NR: Not Reached (al menos la mitad de los pacientes no presentaron un valor de SG en la variable), RPL: Razón Plaquetas-Linfocitos, RNL: Razón Neutrófilos-Linfocitos, ACE: Antígeno Carcinoembrionario. P ≤ 0.005

Tabla 25. Supervivencia Global de progresión con los valores de citocinas de 1T entre grupos de tratamiento

| Variable            | ≤ Mediana de concentración (ng/mL) ≥ | Mediana SLP (meses) | IC 95%          | P      |        |        |
|---------------------|--------------------------------------|---------------------|-----------------|--------|--------|--------|
|                     |                                      |                     |                 | ≤ Vs ≥ | ≤ Vs ≤ | ≥ Vs ≥ |
| IL-8 (CXCL8)        |                                      |                     |                 |        |        |        |
| Pembrolizumab + DTX | ≤ 64.97                              | 22.2                | (14.56 - 29.85) | 0.180  | 0.043  | 0.727  |
|                     | ≥ 64.98                              | 32.59               | NR              |        |        |        |
| DTX                 | ≤ 47.33                              | NR                  | NR              | 0.232  |        |        |
|                     | ≥ 47.34                              | 33.47               | (17.26 - 49.69) |        |        |        |
| IP-10 (CXCL10)      |                                      |                     |                 |        |        |        |
| Pembrolizumab + DTX | ≤ 544.15                             | 32.59               | (26.43 - 38.74) | 0.926  | 0.454  | 0.771  |
|                     | ≤ 544.16                             | 19.28               | NR              |        |        |        |
| DTX                 | ≤ 468.64                             | 33.47               | NR              | 0.694  |        |        |
|                     | ≥ 468.65                             | NR                  | NR              |        |        |        |
| Eotaxin (CCL11)     |                                      |                     |                 |        |        |        |
| Pembrolizumab + DTX | ≤ 175.52                             | 28.64               | (12.38 - 44.91) | 0.965  | 0.564  | 0.257  |
|                     | ≥ 175.52                             | 32.59               | (17.23 - 47.94) |        |        |        |
| DTX                 | ≤ 158.59                             | 33.47               | (13.85 - 53.1)  | 0.772  |        |        |
|                     | ≥ 158.60                             | NR                  | NR              |        |        |        |
| TARC (CCL17)        |                                      |                     |                 |        |        |        |
| Pembrolizumab + DTX | ≤ 167.45                             | NR                  | NR              | 0.378  | 0.395  | 0.525  |
|                     | ≥ 167.46                             | 29.66               | (13.72 - 45.6)  |        |        |        |
| DTX                 | ≤ 172.44                             | NR                  | NR              | 0.182  |        |        |
|                     | ≥ 172.45                             | NR                  | NR              |        |        |        |
| MCP1 (CCL2)         |                                      |                     |                 |        |        |        |
| Pembrolizumab + DTX | ≤ 454.98                             | NR                  | NR              | 0.624  | 0.964  | 0.047  |
|                     | ≥ 454.99                             | 29.66               | (24.85 - 34.48) |        |        |        |
| DTX                 | ≤ 511.01                             | NR                  | NR              | 0.099  |        |        |
|                     | ≥ 511.02                             | 33.47               | NR              |        |        |        |
| RANTES (CCL5)       |                                      |                     |                 |        |        |        |
| Pembrolizumab + DTX | ≤ 16852                              | 22.2                | (14.43 - 29.98) | 0.145  | 0.146  | 0.697  |
|                     | ≥ 16853                              | 32.59               | NR              |        |        |        |
| DTX                 | ≤ 19796.5                            | NR                  | NR              | 0.958  |        |        |
|                     | ≥ 19796.6                            | NR                  | NR              |        |        |        |
| MIP-1α (CCL3)       |                                      |                     |                 |        |        |        |
| Pembrolizumab + DTX | ≤ 29.62                              | 22.2                | (15.99 - 28.42) | 0.090  | 0.118  | 0.513  |
|                     | ≥ 29.63                              | NR                  | NR              |        |        |        |
| DTX                 | ≤ 20.69                              | 33.47               | NR              | 0.389  |        |        |
|                     | ≥ 20.7                               | NR                  | NR              |        |        |        |
| MIG (CXCL9)         |                                      |                     |                 |        |        |        |
| Pembrolizumab + DTX | ≤ 29.59                              | 28.64               | (10.02 - 47.27) | 0.125  | 0.059  | 0.686  |

|                       |          |       |                 |       |       |       |
|-----------------------|----------|-------|-----------------|-------|-------|-------|
|                       | ≥ 29.6   | NR    | NR              |       |       |       |
| DTX                   | ≤ 9.4    | 33.47 | (13.26 - 53.69) | 0.449 |       |       |
|                       | ≥ 9.5    | NR    | NR              |       |       |       |
| <b>ENA-78 (CXCL5)</b> |          |       |                 |       |       |       |
| Pembrolizumab + DTX   | ≤ 370.96 | 32.59 | (3.94 - 61.24)  | 0.603 |       |       |
|                       | ≥ 370.97 | 29.66 | (27.05 - 32.28) |       | 0.580 | 0.203 |
| DTX                   | ≤ 556.95 | 33.47 | (17.45 - 49.5)  | 0.222 |       |       |
|                       | ≥ 556.96 | NR    | NR              |       |       |       |
| <b>MIP-3α (CCL20)</b> |          |       |                 |       |       |       |
| Pembrolizumab + DTX   | ≤ 2.75   | 28.64 | (15.93 - 41.36) | 0.485 |       |       |
|                       | ≥ 2.76   | NR    | NR              |       | 0.197 | 0.363 |
| DTX                   | ≤ 1.7    | 33.47 | (13.89 - 53.05) | 0.531 |       |       |
|                       | ≥ 1.8    | NR    | NR              |       |       |       |
| <b>GRO-α (CXCL1)</b>  |          |       |                 |       |       |       |
| Pembrolizumab + DTX   | ≤ 66.52  | 32.59 | (10.79 - 54.39) | 0.362 |       |       |
|                       | ≥ 66.53  | 29.66 | NR              |       | 0.062 | 0.654 |
| DTX                   | ≤ 41.13  | 33.47 | NR              | 0.206 |       |       |
|                       | ≥ 41.14  | 22.6  | NR              |       |       |       |
| <b>I-TAC (CXCL11)</b> |          |       |                 |       |       |       |
| Pembrolizumab + DTX   | ≤ 35.71  | 28.64 | (16.46 - 40.83) | 0.554 |       |       |
|                       | ≥ 35.72  | NR    | NR              |       | 0.249 | 0.431 |
| DTX                   | ≤ 33.93  | NR    | NR              | 0.989 |       |       |
|                       | ≥ 33.94  | NR    | NR              |       |       |       |
| <b>MIP-1β (CCL4)</b>  |          |       |                 |       |       |       |
| Pembrolizumab + DTX   | ≤ 31.68  | 22.2  | (15.38 - 29.03) | 0.493 |       |       |
|                       | ≥ 31.69  | 32.59 | (26.65 - 38.52) |       | 0.212 | 0.839 |
| DTX                   | ≤ 26.36  | NR    | NR              | 0.440 |       |       |
|                       | ≥ 26.37  | NR    | NR              |       |       |       |
| <b>IL-1β</b>          |          |       |                 |       |       |       |
| Pembrolizumab + DTX   | ≤ 20.13  | 32.59 | (25.51 - 39.66) | 0.517 |       |       |
|                       | ≥ 20.14  | 22.2  | (13.76 - 30.65) |       | 0.604 | 0.189 |
| DTX                   | ≤ 20.16  | 33.47 | (13.8 - 53.15)  | 0.880 |       |       |
|                       | ≥ 20.17  | NR    | NR              |       |       |       |
| <b>IFN-α</b>          |          |       |                 |       |       |       |
| Pembrolizumab + DTX   | ≤ 25.84  | 32.59 | NR              | 0.503 |       |       |
|                       | ≥ 25.85  | 28.64 | (12.8 - 44.48)  |       | 0.419 | 0.386 |
| DTX                   | ≤ 11.69  | 33.47 | (13.18 - 53.77) | 0.554 |       |       |
|                       | ≥ 11.7   | NR    | NR              |       |       |       |
| <b>IFN-γ</b>          |          |       |                 |       |       |       |
| Pembrolizumab + DTX   | ≤ 80.07  | 32.59 | (25.51 - 39.66) | 0.500 |       |       |
|                       | ≥ 80.08  | 19.28 | NR              |       | 0.446 | 0.286 |
| DTX                   | ≤ 110.22 | 33.47 | (13.18 - 53.77) | 0.554 |       |       |
|                       | ≥ 110.23 | NR    | NR              |       |       |       |

| TNF-α               |          |       |                 |       |       |       |
|---------------------|----------|-------|-----------------|-------|-------|-------|
| Pembrolizumab + DTX | ≤ 39.35  | 32.59 | (25.51 - 39.66) | 0.552 | 0.208 | 0.712 |
|                     | ≥ 39.36  | 22.2  | (14.04 - 30.37) |       |       |       |
| DTX                 | ≤ 27.87  | 33.47 | NR              | 0.167 |       |       |
|                     | ≥ 27.88  | 22.6  | (18.3 - 26.87)  |       |       |       |
| IL-6                |          |       |                 |       |       |       |
| Pembrolizumab + DTX | ≤ 39.73  | 32.59 | (25.59 - 39.58) | 0.780 | 0.230 | 0.754 |
|                     | ≥ 39.74  | 28.64 | (15.01 - 42.28) |       |       |       |
| DTX                 | ≤ 49.28  | 33.47 | (13.31 - 53.64) | 0.284 |       |       |
|                     | ≥ 49.29  | 22.6  | NR              |       |       |       |
| IL-10               |          |       |                 |       |       |       |
| Pembrolizumab + DTX | ≤ 10.52  | NR    | NR              | 0.962 | 0.015 | 0.743 |
|                     | ≥ 10.53  | NR    | NR              |       |       |       |
| DTX                 | ≤ 9.24   | NR    | NR              | 0.004 |       |       |
|                     | ≥ 9.25   | NR    | NR              |       |       |       |
| IL-12p70            |          |       |                 |       |       |       |
| Pembrolizumab + DTX | ≤ 8.75   | 32.59 | (25.59 - 39.58) | 0.664 | 0.499 | 0.279 |
|                     | ≥ 8.76   | 22.2  | (16.38 - 28.03) |       |       |       |
| DTX                 | ≤ 11.36  | 33.47 | (13.92 - 53.02) | 0.960 |       |       |
|                     | ≥ 11.37  | NR    | NR              |       |       |       |
| IL-17A              |          |       |                 |       |       |       |
| Pembrolizumab + DTX | ≤ 58.89  | NR    | NR              | 0.905 | 0.077 | 0.89  |
|                     | ≥ 58.9   | NR    | NR              |       |       |       |
| DTX                 | ≤ 58.9   | NR    | NR              | 0.119 |       |       |
|                     | ≥ 59     | NR    | NR              |       |       |       |
| IL-18               |          |       |                 |       |       |       |
| Pembrolizumab + DTX | ≤ 306.33 | 29.66 | (11.34 - 47.99) | 0.675 | 0.514 | 0.175 |
|                     | ≥ 306.34 | 28.64 | (15.44 - 41.85) |       |       |       |
| DTX                 | ≤ 595.44 | 33.47 | (8.04 - 58.91)  | 0.268 |       |       |
|                     | ≥ 595.45 | NR    | NR              |       |       |       |
| IL-23               |          |       |                 |       |       |       |
| Pembrolizumab + DTX | ≤ 172.53 | 29.66 | (24.85 - 34.48) | 0.531 | 0.096 | 0.989 |
|                     | ≥ 172.54 | NR    | NR              |       |       |       |
| DTX                 | ≤ 255.44 | 33.47 | (13.31 - 53.64) | 0.262 |       |       |
|                     | ≥ 255.45 | 22.6  | NR              |       |       |       |
| IL-33               |          |       |                 |       |       |       |
| Pembrolizumab + DTX | ≤ 28.62  | 32.59 | (17.08 - 48.09) | 0.987 | 0.548 | 0.299 |
|                     | ≥ 28.63  | 28.64 | NR              |       |       |       |
| DTX                 | ≤ 15.9   | 33.47 | (17.68 - 49.26) | 0.409 |       |       |
|                     | ≥ 16     | NR    | NR              |       |       |       |

DTX: Docetaxel,  $\Delta T$ : diferencia de concentración entre la primera y la segunda toma de muestra sanguínea, NR: Not Reached (al menos la mitad de los pacientes no presentaron un valor de SG en la variable).

Tabla 26. Supervivencia Global de progresión con los valores de citocinas de 2T entre grupos de tratamiento

| Variable            | ≤ Mediana de<br>concentración<br>(ng/mL) ≥ | Mediana de SLP<br>(meses) | IC 95%          | P      |        |        |
|---------------------|--------------------------------------------|---------------------------|-----------------|--------|--------|--------|
|                     |                                            |                           |                 | ≤ Vs ≥ | ≤ Vs ≤ | ≥ Vs ≥ |
| IL-8 (CXCL8)        |                                            |                           |                 |        |        |        |
| Pembrolizumab + DTX | ≤ 57.31                                    | 29.66                     | NR              | 0.647  | 0.170  | 0.468  |
|                     | ≥ 57.32                                    | 32.59                     | (15.25 - 49.92) |        |        |        |
| DTX                 | ≤ 59.89                                    | NR                        | NR              | 0.335  |        |        |
|                     | ≥ 59.90                                    | 33.47                     | (13.08 - 53.87) |        |        |        |
| IP-10 (CXCL10)      |                                            |                           |                 |        |        |        |
| Pembrolizumab + DTX | ≤ 861.23                                   | NR                        | NR              | 0.474  | 0.272  | 0.006  |
|                     | ≥ 861.24                                   | NR                        | NR              |        |        |        |
| DTX                 | ≤ 534.37                                   | NR                        | NR              | 0.004  |        |        |
|                     | ≥ 534.38                                   | NR                        | NR              |        |        |        |
| Eotaxin (CCL11)     |                                            |                           |                 |        |        |        |
| Pembrolizumab + DTX | ≤ 192.45                                   | NR                        | NR              | 0.646  | 0.736  | 0.114  |
|                     | ≥ 192.46                                   | 29.66                     | (17.72 - 41.61) |        |        |        |
| DTX                 | ≤ 175.11                                   | NR                        | NR              | 0.554  |        |        |
|                     | ≥ 175.12                                   | 33.47                     | (13.18 - 53.77) |        |        |        |
| TARC (CCL17)        |                                            |                           |                 |        |        |        |
| Pembrolizumab + DTX | ≤ 141.68                                   | 29.66                     | NR              | 0.694  | 0.151  | 0.626  |
|                     | ≥ 141.69                                   | 32.59                     | (10.5 - 54.68)  |        |        |        |
| DTX                 | ≤ 201.71                                   | NR                        | NR              | 0.144  |        |        |
|                     | ≥ 201.72                                   | 33.47                     | NR              |        |        |        |
| MCP-1 (CCL2)        |                                            |                           |                 |        |        |        |
| Pembrolizumab + DTX | ≤ 457.55                                   | 32.59                     | (24.65 - 40.53) | 0.583  | 0.845  | 0.184  |
|                     | ≥ 457.56                                   | 29.66                     | (4.83 - 54.5)   |        |        |        |
| DTX                 | ≤ 482.06                                   | NR                        | NR              | 0.554  |        |        |
|                     | ≥ 482.07                                   | 33.47                     | (13.18 - 53.77) |        |        |        |
| RANTES (CCL5)       |                                            |                           |                 |        |        |        |
| Pembrolizumab + DTX | ≤ 17123.5                                  | NR                        | NR              | 0.056  | 0.530  | 0.196  |
|                     | ≥ 17123.6                                  | 28.64                     | (15.21 - 42.08) |        |        |        |
| DTX                 | ≤ 20915.5                                  | NR                        | NR              | 0.140  |        |        |
|                     | ≥ 20915.6                                  | 33.47                     | NR              |        |        |        |
| MIP-1α (CCL3)       |                                            |                           |                 |        |        |        |
| Pembrolizumab + DTX | ≤ 20.36                                    | NR                        | NR              | 0.137  | 0.754  | 0.105  |
|                     | ≥ 20.37                                    | 22.2                      | (16.79 - 27.62) |        |        |        |
| DTX                 | ≤ 29.62                                    | NR                        | NR              | 0.815  |        |        |
|                     | ≥ 29.63                                    | 33.47                     | (17.79 - 49.16) |        |        |        |
| MIG (CXCL9)         |                                            |                           |                 |        |        |        |
| Pembrolizumab + DTX | ≤ 70.67                                    | 28.64                     | (15.31 - 41.98) | 0.568  | 0.478  | 0.243  |

|                     |          |       |                 |       |       |       |
|---------------------|----------|-------|-----------------|-------|-------|-------|
|                     | ≥ 70.68  | 32.59 | (25.72 - 39.45) |       |       |       |
| DTX                 | ≤ 13.58  | 33.47 | (12.79 - 54.16) | 0.546 |       |       |
|                     | ≥ 13.59  | NR    | NR              |       |       |       |
| ENA-78 (CXCL5)      |          |       |                 |       |       |       |
| Pembrolizumab + DTX | ≤ 325.24 | 28.64 | (15.96 - 41.32) | 0.464 |       |       |
|                     | ≥ 325.25 | NR    | NR              |       |       |       |
| DTX                 | ≤ 304.37 | 33.47 | (5.25 - 61.69)  | 0.363 | 0.116 | 0.916 |
|                     | ≥ 304.38 | NR    | NR              |       |       |       |
| MIP-3α (CCL20)      |          |       |                 |       |       |       |
| Pembrolizumab + DTX | ≤ 3.8    | NR    | NR              | 0.243 |       |       |
|                     | ≥ 3.9    | 28.64 | (16.68 - 40.61) |       |       |       |
| DTX                 | ≤ 1.7    | NR    | NR              | 0.068 | 0.460 | 0.73  |
|                     | ≥ 1.8    | 2.89  | (16.93 - 28.27) |       |       |       |
| GRO-α (CXCL1)       |          |       |                 |       |       |       |
| Pembrolizumab + DTX | ≤ 60.79  | 28.64 | NR              | 0.703 |       |       |
|                     | ≥ 60.8   | 32.59 | (12.88 - 52.3)  |       |       |       |
| DTX                 | ≤ 35.68  | NR    | NR              | 0.587 | 0.276 | 0.493 |
|                     | ≥ 35.69  | 33.47 | (17.65 - 49.3)  |       |       |       |
| I-TAC (CXCL11)      |          |       |                 |       |       |       |
| Pembrolizumab + DTX | ≤ 59.49  | 32.59 | (20.17 - 40)    | 0.985 |       |       |
|                     | ≥ 59.5   | 29.66 | NR              |       |       |       |
| DTX                 | ≤ 45.3   | 33.47 | (17.41 - 49.54) | 0.691 | 0.531 | 0.242 |
|                     | ≥ 45.4   | NR    | NR              |       |       |       |
| MIP-1β(CCL4)        |          |       |                 |       |       |       |
| Pembrolizumab + DTX | ≤ 25.62  | 29.66 | NR              | 0.571 |       |       |
|                     | ≥ 25.63  | 32.59 | (15.16 - 50.01) |       |       |       |
| DTX                 | ≤ 18.23  | NR    | NR              | 0.174 | 0.232 | 0.52  |
|                     | ≥ 18.24  | 33.47 | NR              |       |       |       |
| IL-1β               |          |       |                 |       |       |       |
| Pembrolizumab + DTX | ≤ 6.14   | 32.59 | (24.79 - 40.38) | 0.587 |       |       |
|                     | ≥ 6.15   | 29.66 | (14.41 - 44.91) |       |       |       |
| DTX                 | ≤ 10.22  | NR    | NR              | 0.956 | 0.500 | 0.264 |
|                     | ≥ 10.23  | 33.47 | (17.84 - 49.1)  |       |       |       |
| IFN-α               |          |       |                 |       |       |       |
| Pembrolizumab + DTX | ≤ 5.44   | 32.59 | (19.16 - 46.02) | 0.702 |       |       |
|                     | ≥ 5.45   | 29.66 | (0.362 - 58.97) |       |       |       |
| DTX                 | ≤ 2.1    | NR    | NR              | 0.909 | 0.556 | 0.308 |
|                     | ≥ 2.2    | 33.47 | NR              |       |       |       |
| IFN-γ               |          |       |                 |       |       |       |
| Pembrolizumab + DTX | ≤ 54.08  | 32.59 | NR              | 0.368 |       |       |
|                     | ≥ 54.09  | 29.66 | (13.54 - 45.79) |       |       |       |
| DTX                 | ≤ 59.74  | 33.47 | (13.26 - 53.69) | 0.478 | 0.417 | 0.317 |

|                     |          |       |                 |       |       |       |
|---------------------|----------|-------|-----------------|-------|-------|-------|
|                     | ≥ 59.75  | NR    | NR              |       |       |       |
| TNF-α               |          |       |                 |       |       |       |
| Pembrolizumab + DTX | ≤ 23.52  | 32.59 | NR              | 0.116 | 0.913 | 0.079 |
|                     | ≥ 23.53  | 22.2  | (14.39 - 30.02) |       |       |       |
| DTX                 | ≤ 17.33  | NR    | NR              | 0.664 |       |       |
|                     | ≥ 17.34  | 33.47 | NR              |       |       |       |
| IL-6                |          |       |                 |       |       |       |
| Pembrolizumab + DTX | ≤ 32.01  | NR    | NR              | 0.228 | 0.480 | 0.497 |
|                     | ≥ 31.02  | 29.66 | (19.82 - 39.51) |       |       |       |
| DTX                 | ≤ 30.06  | NR    | NR              | 0.100 |       |       |
|                     | ≥ 30.07  | NR    | NR              |       |       |       |
| IL-10               |          |       |                 |       |       |       |
| Pembrolizumab + DTX | ≤ 8.61   | NR    | NR              | 0.324 | 0.552 | 0.112 |
|                     | ≥ 8.62   | NR    | NR              |       |       |       |
| DTX                 | ≤ 8.92   | NR    | NR              | 0.866 |       |       |
|                     | ≥ 8.93   | NR    | NR              |       |       |       |
| IL-12p70            |          |       |                 |       |       |       |
| Pembrolizumab + DTX | ≤ 7.82   | NR    | NR              | 0.500 | 0.899 | 0.055 |
|                     | ≥ 7.83   | 7.08  | (5.39 - 33.17)  |       |       |       |
| DTX                 | ≤ 8.75   | 33.47 | (5.25 - 61.69)  | 0.617 |       |       |
|                     | ≥ 8.76   | NR    | NR              |       |       |       |
| IL-17A              |          |       |                 |       |       |       |
| Pembrolizumab + DTX | ≤ 37.9   | 28.64 | (19.92 - 37.37) | 0.503 | 0.137 | 0.585 |
|                     | ≥ 38     | 32.59 | NR              |       |       |       |
| DTX                 | ≤ 31.13  | 33.47 | (5.18 - 61.77)  | 0.534 |       |       |
|                     | ≥ 31.14  | NR    | NR              |       |       |       |
| IL-18               |          |       |                 |       |       |       |
| Pembrolizumab + DTX | ≤ 506.88 | 32.59 | (15.89 - 49.28) | 0.991 | 0.580 | 0.158 |
|                     | ≥ 506.89 | 29.66 | (27.14 - 32.19) |       |       |       |
| DTX                 | ≤ 604.41 | 33.47 | (12.95 - 54)    | 0.374 |       |       |
|                     | ≥ 604.42 | NR    | NR              |       |       |       |
| IL-23               |          |       |                 |       |       |       |
| Pembrolizumab + DTX | ≤ 77.88  | 32.59 | (27.92 - 37.25) | 0.753 | 0.592 | 0.19  |
|                     | ≥ 77.89  | 22.2  | NR              |       |       |       |
| DTX                 | ≤ 50.73  | 33.47 | (12.96 - 53.99) | 0.727 |       |       |
|                     | ≥ 50.74  | NR    | NR              |       |       |       |
| IL-33               |          |       |                 |       |       |       |
| Pembrolizumab + DTX | ≤ 7.08   | 32.59 | (14.30 - 50.87) | 0.450 | 0.243 | 0.546 |
|                     | ≥ 7.09   | NR    | NR              |       |       |       |
| DTX                 | ≤ 5.52   | 33.47 | (13.08 - 53.87) | 0.918 |       |       |
|                     | ≥ 5.53   | NR    | NR              |       |       |       |

DTX: Docetaxel, ΔT: diferencia de concentración entre la primera y la segunda toma de muestra sanguínea, NR: Not Reached (al menos la mitad de los pacientes no presentaron un valor de SG en la variable).

**Análisis por minería de datos de las concentraciones plasmáticas de citocinas de los pacientes y su correlación con las características clínico-patológicas, valores de biometría hemática, Supervivencia Libre de Progresión y de Sobrevida Global**

El análisis por minería de datos incluyó los datos de concentración plasmática de las 24 citocinas (24 atributos) de los 40 pacientes (40 instancias) para el total de pacientes y los dos grupos de tratamiento (20 instancias por grupo) en ambas tomas de muestras sanguíneas. En todos los casos el algoritmo K-Means clusterizó a los datos en dos clústers diferentes (Clúster 0 y Clúster 1). Para el total de pacientes en primera toma, 21 pacientes fueron asignados al Clúster 0 y 19 al Clúster 1 (figura 17). El algoritmo RandomTree generó seis reglas de decisión, tres para el Clúster 0 y tres para el Clúster 1, con las citocinas TNF- $\alpha$ , IP-10, RANTES e IL-6:

- Clúster 0
  - TNF- $\alpha$  < 95.8  $\rightarrow$  IP-10  $\geq$  317.36  $\rightarrow$  IL-6  $\geq$  43.6 (9 pacientes).
  - TNF- $\alpha$  < 95.8  $\rightarrow$  IP-10  $\geq$  317.36  $\rightarrow$  RANTES  $\geq$  14225.5 (11 pacientes).
  - TNF- $\alpha$   $\geq$  95.8  $\rightarrow$  RANTES  $\geq$  20764.5 (1 paciente).
- Clúster 1
  - TNF- $\alpha$  < 95.8  $\rightarrow$  IP-10 < 317.36 (4 pacientes).
  - TNF- $\alpha$  < 95.8  $\rightarrow$  IP-10  $\geq$  317.36  $\rightarrow$  IL-6 < 43.6  $\rightarrow$  RANTES < 14225.5 (6 pacientes).
  - TNF- $\alpha$   $\geq$  95.8  $\rightarrow$  RANTES < 20764.5 (9 pacientes).

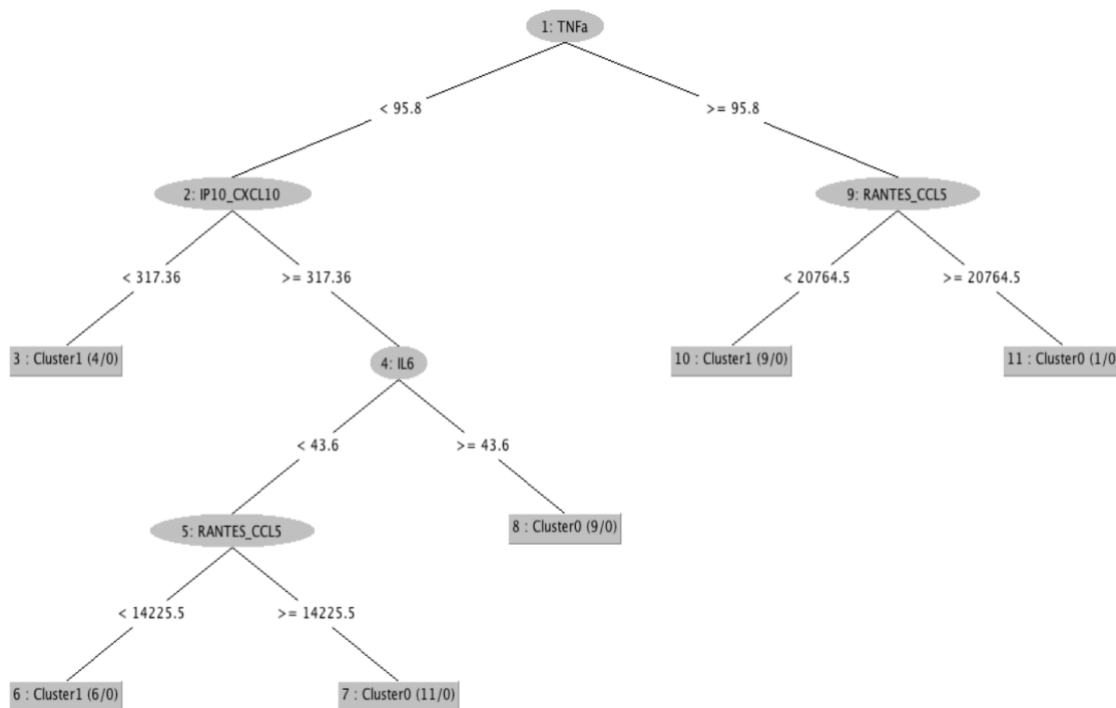


Figura 17. Árbol de decisión generado por el algoritmo RandomTree de los 40 datos de concentración plasmática de citocinas obtenidas por todos los pacientes en primera toma de muestra sanguínea, donde se obtuvieron 6 reglas de decisión dados los dos clústers (Clúster 0 y Clúster 1) por el algoritmo K-Means. Los pacientes asignados a cada clúster por regla de decisión se muestran entre paréntesis al lado del número de clúster, por ejemplo, “Cluster0 (5/0)” indica que 5 pacientes fueron asignados correctamente a ese clúster asociado a una regla de decisión y que 0 pacientes fueron asignados de forma incorrecta.

En el grupo de tratamiento de Pembrolizumab más Docetaxel en primera toma de muestra sanguínea, 10 pacientes fueron asignados al Clúster 0 y 10 al Clúster 1 (figura 18). El algoritmo RandomTree generó cinco reglas de decisión, dos para el Clúster 0 y tres para el Clúster 1, con las citocinas IL-6, GRO- $\alpha$ , IP-10 y MIP-1 $\alpha$ :

- Clúster 0
  - IL-6 < 105.5  $\rightarrow$  GRO- $\alpha$   $\geq$  66.53 (6 pacientes).
  - IL-6 < 105.5  $\rightarrow$  GRO- $\alpha$  < 66.53  $\rightarrow$  IP-10  $\geq$  507.07  $\rightarrow$  MIP-1 $\alpha$  < 47.52 (4 pacientes).
- Clúster 1
  - IL-6  $\geq$  105.5 (6 pacientes).
  - IL-6 < 105.5  $\rightarrow$  GRO- $\alpha$  < 66.53  $\rightarrow$  IP-10 < 507.07 (3 pacientes).
  - IL-6 < 105.5  $\rightarrow$  GRO- $\alpha$  < 66.53  $\rightarrow$  IP-10  $\geq$  507.07  $\rightarrow$  MIP-1 $\alpha$   $\geq$  47.52 (1 pacientes).

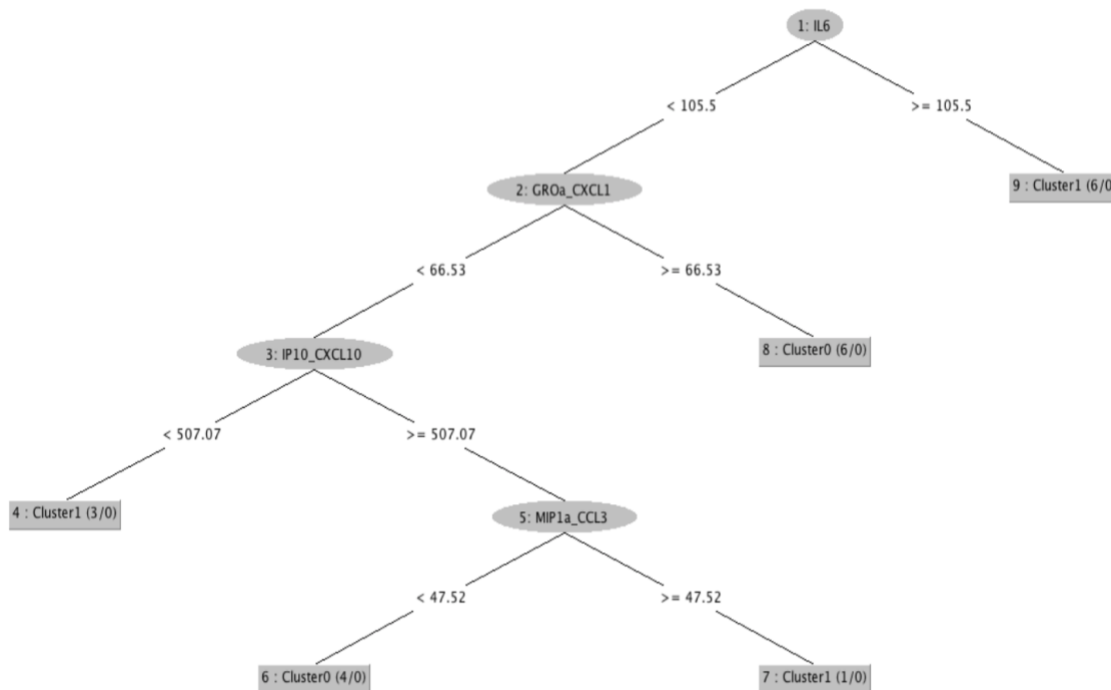


Figura 18. Árbol de decisión generado por el algoritmo RandomTree de los 20 datos de concentración plasmática de citocinas obtenidas por los pacientes del grupo de tratamiento de Pembrolizumab más Docetaxel en primera

toma de muestra sanguínea, donde se obtuvieron 5 reglas de decisión dados los dos clústers (Clúster 0 y Clúster 1) generados por el algoritmo K-Means. Los pacientes asignados a cada clúster por regla de decisión se muestran entre paréntesis al lado del número de clúster.

En el grupo de tratamiento de Docetaxel como monoterapia en primera toma de muestra sanguínea, 11 pacientes fueron asignados al Clúster 0 y 9 al Clúster 1 (figura 19). El algoritmo RandomTree generó siete reglas de decisión, cuatro para el Clúster 0 y tres para el Clúster 1, con las citocinas IL-23, TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IP-10 y Eotaxin:

- Clúster 0
  - IL-23 < 231.31  $\rightarrow$  TNF- $\alpha$  < 9.54 (1 paciente).
  - IL-23 < 231.31  $\rightarrow$  TNF- $\alpha$   $\geq$  9.54  $\rightarrow$  IL-6  $\geq$  128.2 (2 pacientes).
  - IL-23  $\geq$  231.31  $\rightarrow$  IL-1  $\beta$  < 64.91  $\rightarrow$  IP-10 < 617.14 (7 pacientes).
  - IL-23  $\geq$  231.31  $\rightarrow$  IL-1  $\beta$  < 64.91  $\rightarrow$  IP-10  $\geq$  617.14  $\rightarrow$  Eotaxin  $\geq$  157.94 (1 paciente).
- Clúster 1
  - IL-23 < 231.31  $\rightarrow$  TNF- $\alpha$   $\geq$  9.54  $\rightarrow$  IL-6 < 128.2 (6 pacientes)
  - IL-23  $\geq$  231.31  $\rightarrow$  IL-1  $\beta$   $\geq$  64.91 (2 pacientes)
  - IL-23  $\geq$  231.31  $\rightarrow$  IL-1  $\beta$  < 64.91  $\rightarrow$  IP-10  $\geq$  617.14  $\rightarrow$  Eotaxin < 157.94 (1 paciente).

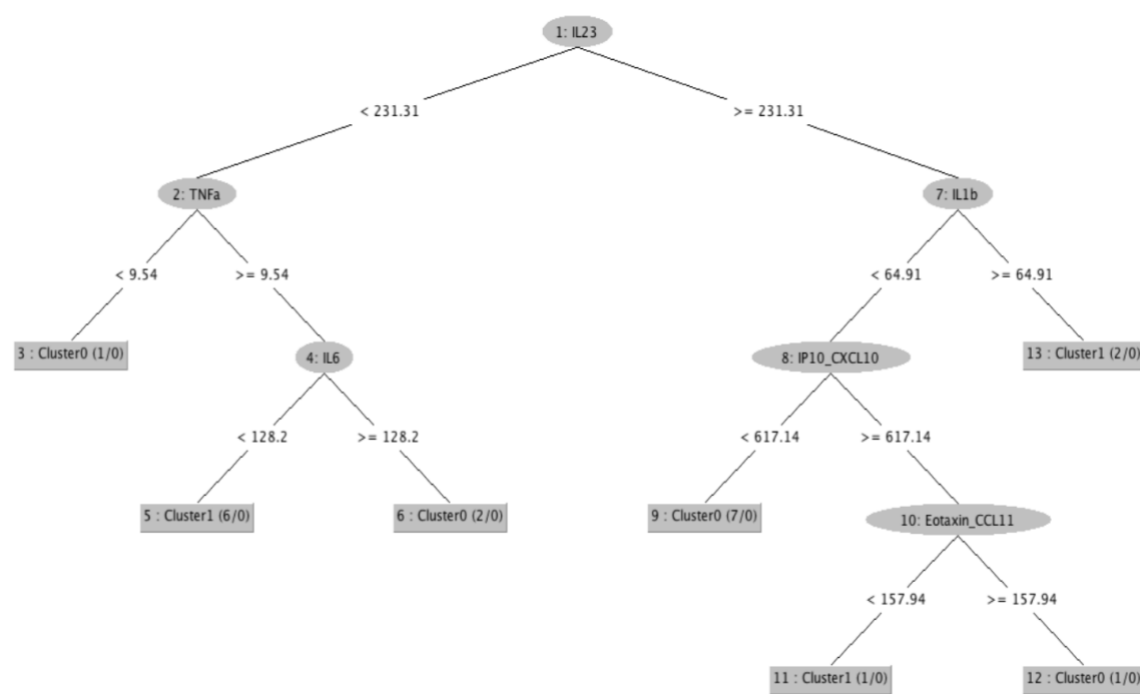


Figura 19. Árbol de decisión generado por el algoritmo RandomTree de los 20 datos de concentración plasmática de citocinas obtenidas por los pacientes del grupo de tratamiento de Docetaxel en primera toma de muestra sanguínea, donde se obtuvieron 7 reglas de decisión dados los dos clústers (Clúster 0 y Clúster 1) generados por el

algoritmo K-Means. Los pacientes asignados a cada clúster por regla de decisión se muestran entre paréntesis al lado del número de clúster.

Para el total de pacientes en segunda toma de muestra sanguínea, 19 pacientes fueron asignados al Clúster 0 y 21 al Clúster 1 (figura 20). El algoritmo RandomTree generó ocho reglas de decisión, cinco para el Clúster 0 y tres para el Clúster 1, con las citocinas TARC, IL-8, IFN- $\alpha$ , IL-6, Eotaxin y MIG:

- Clúster 0
  - TARC  $\geq$  626.46 (6 pacientes).
  - TARC < 626.46  $\rightarrow$  IL-8 < 43.67  $\rightarrow$  IFN- $\alpha$  < 2.1 (5 pacientes).
  - TARC < 626.46  $\rightarrow$  IL-8 < 43.67  $\rightarrow$  IFN- $\alpha$   $\geq$  2.1  $\rightarrow$  Eotaxin < 145.84 (4 pacientes).
  - TARC < 626.46  $\rightarrow$  IL-8  $\geq$  43.67  $\rightarrow$  IL-6 < 28.11  $\rightarrow$  MIG  $\geq$  112.77 (3 pacientes).
  - TARC < 626.46  $\rightarrow$  IL-8  $\geq$  43.67  $\rightarrow$  IL-6 < 28.11  $\rightarrow$  MIG < 112.77  $\rightarrow$  Eotaxin < 197.07 (1 paciente).
- Clúster 1
  - TARC < 626.46  $\rightarrow$  IL-8 < 43.67  $\rightarrow$  IFN- $\alpha$   $\geq$  2.1  $\rightarrow$  Eotaxin  $\geq$  145.84 (4 pacientes).
  - TARC < 626.46  $\rightarrow$  IL-8  $\geq$  43.67  $\rightarrow$  IL-6  $\geq$  28.11 (14 pacientes)
  - IL-23  $\geq$  231.31  $\rightarrow$  IL-1  $\beta$  < 64.91  $\rightarrow$  IP-10  $\geq$  617.14  $\rightarrow$  Eotaxin < 157.94 (1 paciente).
  - TARC < 626.46  $\rightarrow$  IL-8  $\geq$  43.67  $\rightarrow$  IL-6 < 28.11  $\rightarrow$  MIG < 112.77  $\rightarrow$  Eotaxin  $\geq$  197.07 (3 pacientes).

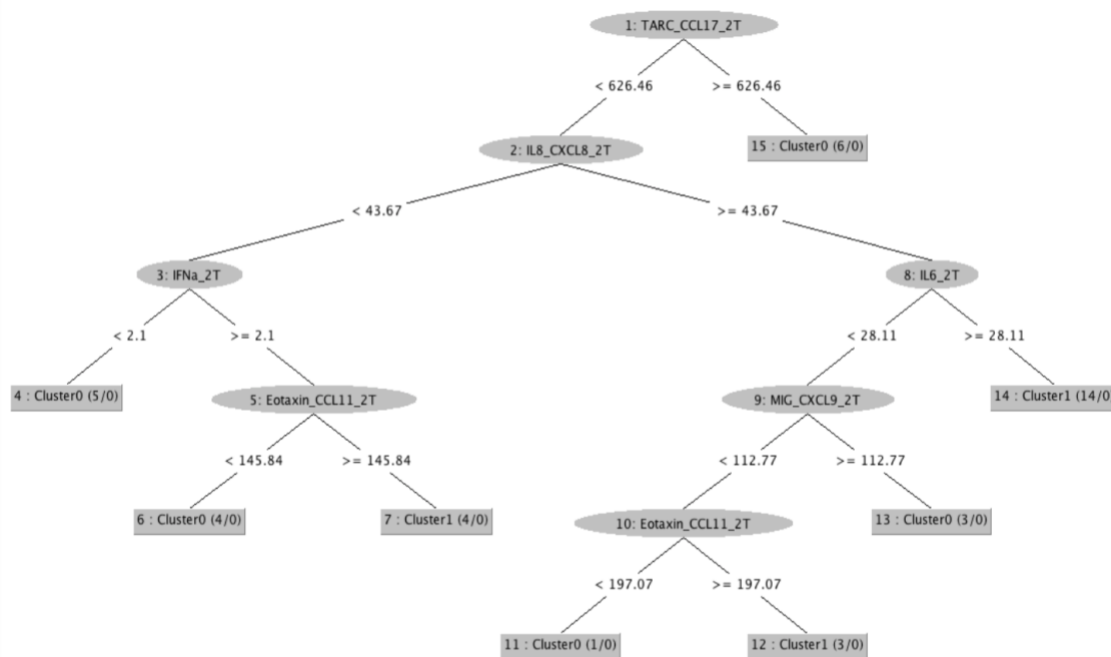


Figura 20. Árbol de decisión generado por el algoritmo RandomTree de los 40 datos de concentración plasmática de citocinas obtenidas por todos los pacientes en segunda toma de muestra sanguínea, donde se obtuvieron 9

reglas de decisión dados los dos clústers (Clúster 0 y Clúster 1) generados por el algoritmo K-Means. Los pacientes asignados a cada clúster por regla de decisión se muestran entre paréntesis al lado del número de clúster.

En el grupo de tratamiento de Pembrolizumab más Docetaxel en segunda toma de muestra sanguínea, 10 pacientes fueron asignados al Clúster 0 y 10 al Clúster 1 (figura 21). El algoritmo RandomTree generó cinco reglas de decisión, tres para el Clúster 0 y dos para el Clúster 1, con las citocinas ENA78, IL-8 e IFN- $\alpha$ :

- Clúster 0
  - ENA-78  $\geq 858.71$  (4 pacientes).
  - ENA-78  $< 858.71 \rightarrow$  IL-8  $< 28.56$  (4 pacientes).
  - ENA-78  $< 858.71 \rightarrow$  IL-8  $\geq 28.56 \rightarrow$  IFN- $\alpha < 2.4 \rightarrow$  ENA-78  $< 191.71$  (4 pacientes).
- Clúster 1
  - ENA-78  $< 858.71 \rightarrow$  IL-8  $\geq 28.56 \rightarrow$  IFN- $\alpha \geq 2.4$  (8 pacientes).
  - ENA-78  $< 858.71 \rightarrow$  IL-8  $\geq 28.56 \rightarrow$  IFN- $\alpha < 2.4 \rightarrow$  ENA-78  $\geq 191.71$  (2 pacientes).

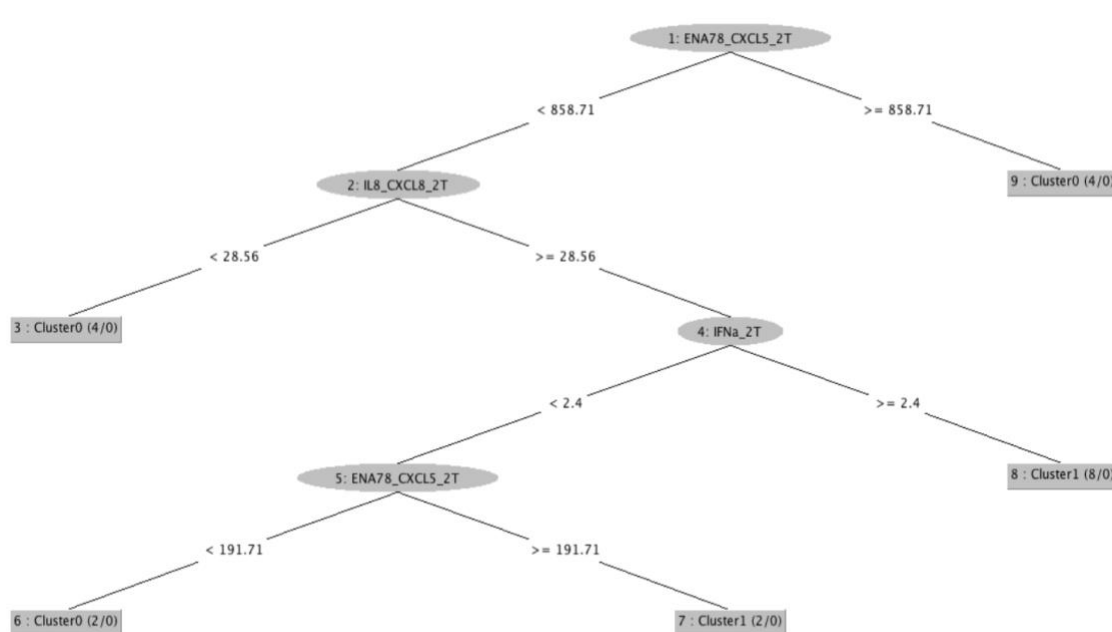


Figura 21. Árbol de decisión generado por el algoritmo RandomTree de los 20 datos de concentración plasmática de citocinas obtenidas por los pacientes del grupo de tratamiento de Pembrolizumab más Docetaxel en segunda toma de muestra sanguínea, donde se obtuvieron 5 reglas de decisión dados los dos clústers (Clúster 0 y Clúster 1) generados por el algoritmo K-Means. Los pacientes asignados a cada clúster por regla de decisión se muestran entre paréntesis al lado del número de clúster.

En el grupo de tratamiento de Docetaxel como monoterapia en segunda toma de muestra sanguínea, 9 pacientes fueron asignados al Clúster 0 y 11 al Clúster 1 (figura 22). El algoritmo RandomTree generó siete reglas de decisión, cuatro para el Clúster 0 y tres para el Clúster 1, con las citocinas IFN- $\alpha$ , IL-12p70, IL-1 $\beta$  e IP-10:

- Clúster 0
  - IFN- $\alpha$  < 13.57  $\rightarrow$  IL-12p70 < 6.65 (3 pacientes).
  - IFN- $\alpha$   $\geq$  13.57  $\rightarrow$  IL-12p70  $\geq$  54.06 (1 paciente).
  - IFN- $\alpha$  < 13.57  $\rightarrow$  IL-12p70  $\geq$  6.65  $\rightarrow$  IL-1 $\beta$  < 4.96  $\rightarrow$  IP-10  $\geq$  1068.69 (1 paciente).
  - IFN- $\alpha$  < 13.57  $\rightarrow$  IL-12p70  $\geq$  6.65  $\rightarrow$  IL-1 $\beta$   $\geq$  4.96  $\rightarrow$  IP-10 < 865.13 (4 pacientes).
- Clúster 1
  - IFN- $\alpha$   $\geq$  13.57  $\rightarrow$  IL-12p70 < 54.06 (7 pacientes).
  - IFN- $\alpha$  < 13.57  $\rightarrow$  IL-12p70  $\geq$  6.65  $\rightarrow$  IL-1 $\beta$  < 4.96  $\rightarrow$  IP-10 < 1068.69 (3 pacientes).
  - IFN- $\alpha$  < 13.57  $\rightarrow$  IL-12p70  $\geq$  6.65  $\rightarrow$  IL-1 $\beta$   $\geq$  4.96  $\rightarrow$  IP-10  $\geq$  865.13 (1 paciente).

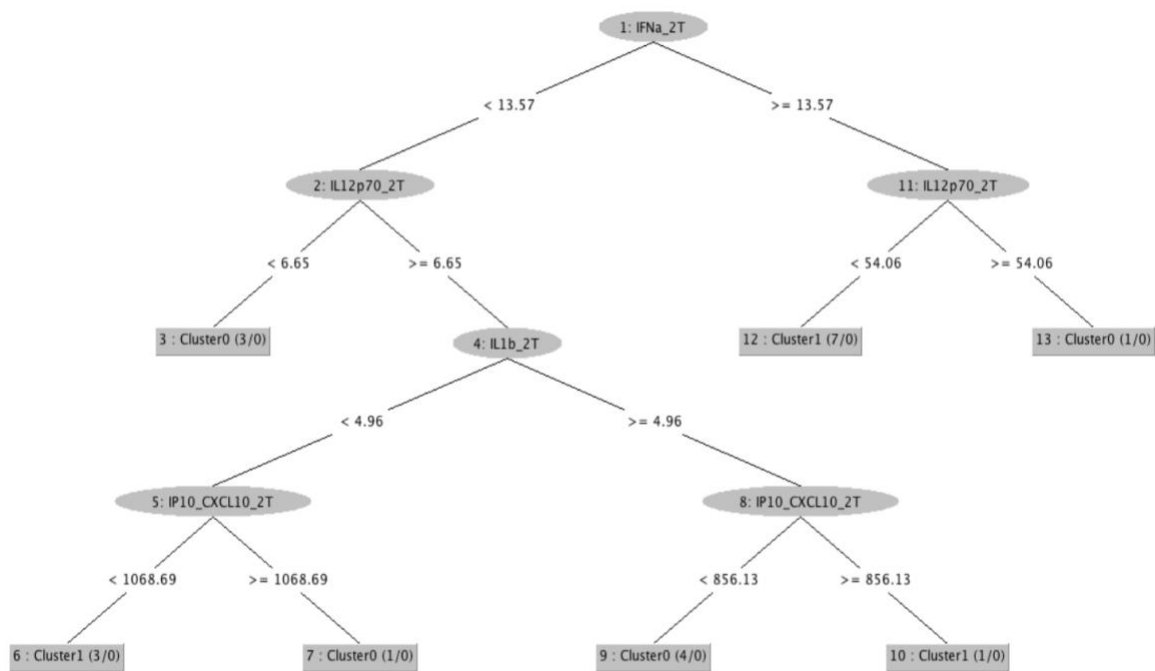


Figura 22. Árbol de decisión generado por el algoritmo RandomTree de los 20 datos de concentración plasmática de citocinas obtenidas por los pacientes del grupo de tratamiento de Docetaxel en segunda toma de muestra sanguínea, donde se obtuvieron x reglas de decisión dados los dos clústers (Clúster 0 y Clúster 1) generados por el algoritmo K-Means. Los pacientes asignados a cada clúster por regla de decisión se muestran entre paréntesis al lado del número de clúster.

**Análisis de correlación de las características clínicas patológicas y valores de biometría hemática de primera y segunda toma de muestra sanguínea entre los pacientes asignados a un clúster por minería de datos**

No existieron diferencias significativas entre el número de pacientes asignados al Clúster 0 y al Clúster 1 de acuerdo a los valores de concentración de citocinas en primera toma de muestra sanguínea y las características clínico patológicas (tabla 27), mientras que existió una sola diferencia significativa entre el Clúster 0 y el Clúster 1 generados a partir de los valores de concentración de citocinas en segunda toma en la categoría de “histología”, entre el grupo histológico “otros” y “adenocarcinoma” (tabla 28).

Sobre los valores de biometría hemática para los pacientes asignados a cada clúster por minería de datos, se presentaron diferencias significativas en las siguientes categorías:

- Clústers generados de acuerdo a los valores de concentración de citocinas en primera toma de muestra sanguínea (tabla 29):
  - Clúster 0 (1T Vs. 2T): albúmina.
  - Clúster 1 (1T Vs. 2T): monocitos y albúmina.
  - Entre clústers: RNL (2T).
- Clústers generados de acuerdo a los valores de concentración de citocinas en segunda toma de muestra sanguínea (tabla 30):
  - Clúster 0 (1T Vs. 2T): eosinófilos y albúmina.
  - Clúster 1 (1T Vs. 2T): monocitos y albúmina.
  - Entre clústers: sin diferencias significativas.

**Tabla 27. Características clínico-patológicas de los pacientes en general y por clúster generados por los valores de concentración de citocinas en 1T**

| Variable                                   | Total<br>% (n/40) | Clúster 0<br>% (n/21) | Clúster 1<br>% (n/19) | P     |
|--------------------------------------------|-------------------|-----------------------|-----------------------|-------|
| <b>Género</b>                              |                   |                       |                       |       |
| Femenino                                   | 62.5 (25/40)      | 66.7 (14/21)          | 57.9 (11/19)          | 0.567 |
| Masculino                                  | 37.5 (15/40)      | 33.3 (7/21)           | 42.1 (8/19)           |       |
| <b>Grupos por edad (años)</b>              |                   |                       |                       |       |
| ≤ 60                                       | 57.5 (23/40)      | 57.1 (12/21)          | 57.9 (11/19)          | 0.962 |
| ≥ 60                                       | 42.5 (17/40)      | 42.9 (9/21)           | 42.1 (8/19)           |       |
| <b>Historial de tabaquismo</b>             |                   |                       |                       |       |
| Negativo                                   | 50 (20/40)        | 38.1 (8/21)           | 63.2 (12/19)          | 0.113 |
| Positivo                                   | 50 (20/40)        | 61.9 (13/21)          | 36.8 (7/19)           |       |
| <b>Índice tabáquico</b>                    |                   |                       |                       |       |
| ≤ 20                                       | 39.6 (8/20)       | 37.5 (3/8)            | 41.7 (5/12)           | 0.852 |
| ≥ 21                                       | 60.4 (12/20)      | 62.5 (5/8)            | 58.3 (7/12)           |       |
| <b>Exposición a humo de leña</b>           |                   |                       |                       |       |
| Negativo                                   | 72.5 (29/40)      | 71.4 (15/21)          | 73.7 (14/19)          | 0.873 |
| Positivo                                   | 27.5 (11/40)      | 28.6 (6/21)           | 26.3 (5/19)           |       |
| <b>Índice de exposición a humo de leña</b> |                   |                       |                       |       |
| ≤ 20                                       | 56.65 (6/11)      | 33.3 (2/6)            | 80 (4/5)              | 0.122 |
| ≥ 21                                       | 43.35 (5/11)      | 66.7 (4/6)            | 20 (1/5)              |       |
| <b>ECOG al momento del Dx</b>              |                   |                       |                       |       |
| ≤ 1                                        | 95 (38/40)        | 4.8 (1/21)            | 5.3 (1/19)            | 0.942 |
| ≥ 2                                        | 5 (2/40)          | 95.2 (20/21)          | 94.7 (18/19)          |       |
| <b>Histología</b>                          |                   |                       |                       |       |
| Otros                                      | 10 (5/40)         | 9.5 (2/21)            | 10.5 (2/19)           | 0.916 |
| Adenocarcinoma                             | 90 (36/40)        | 90.5 (19/21)          | 89.5 (17/19)          |       |
| Lepídico                                   | 5.6 (2/36)        | 5.3 (1/19)            | 5.9 (1/17)            | 0.415 |
| Acinar / Papilar                           | 38.9 (4/36)       | 47.4 (9/19)           | 29.4 (5/17)           |       |
| Micropapilar / Sólido                      | 38.9 (4/36)       | 26.3 (5/19)           | 52.9 (9/17)           |       |
| No especificado                            | 16.7 (6/36)       | 21.1 (4/19)           | 11.8 (2/17)           |       |
| <b>Mutaciones blanco</b>                   |                   |                       |                       |       |
| ALK positivo                               | 2 (2/40)          | 9.5 (2/21)            | 0 (0/19)              | 0.386 |
| EGFR positivo                              | 32.5 (13/40)      | 38.1 (8/21)           | 26.3 (5/19)           | 0.427 |
| Ex19del                                    | 76.9 (10/13)      | 75 (6/8)              | 80 (4/5)              | 0.239 |
| Ex21 (L858R)                               | 15.4 (2/13)       | 25 (2/8)              | 0 (0/5)               |       |
| EX20 (T790M)                               | 7.7 (1/13)        | 0 (0/8)               | 20 (1/5)              |       |
| <b>Estado de PD-L1</b>                     |                   |                       |                       |       |
| No probado                                 | 52.5 (21/40)      | 42.9 (9/21)           | 63.2 (12/19)          | 0.360 |
| Negativo                                   | 22.5 (9/40)       | 23.8 (5/21)           | 21.1 (4/19)           |       |
| Positivo                                   | 25 (10/40)        | 33.3 (7/21)           | 15.8 (3/19)           |       |
| <b>Expresión de PD-L1</b>                  |                   |                       |                       |       |
| Baja expresión (< 50%)                     | 90 (9/10)         | 100 (7/7)             | 66.7 (2/3)            | 0.107 |
| Alta expresión (≥ 50%)                     | 10 (1/10)         | 0 (0/7)               | 33.3 (1/3)            |       |

DTX: Docetaxel, Dx: diagnóstico; DE: desviación estándar, ECOG: Escala de calidad de vida de acuerdo al Grupo Oncológico Cooperativo del Este, ALK: Cinasa de linfoma anaplásico, EGFR: Receptor del Factor de Crecimiento Epidérmico, Ex19del: Deleción del exón 19 de EGFR, Ex21 (L858R): Sustitución de una leucina por una arginina en la posición 858 del exón 21 de EGFR, Ex20 (T790M): Sustitución de una treonina por una metionina en la posición 790 del exón 20 de EGFR, ACE: Antígeno Carcinoembrionario, PD-L1: Ligando 1 de Muerte Celular Programada. P ≤ 0.05.

**Tabla 28. Características clínico-patológicas de los pacientes en general y por clúster generados por los valores de concentración de citocinas en 2T**

| Variable                                   | Total<br>% (n/40) | Clúster 0<br>% (n/21) | Clúster 1<br>% (n/19) | P     |
|--------------------------------------------|-------------------|-----------------------|-----------------------|-------|
| <b>Género</b>                              |                   |                       |                       |       |
| Femenino                                   | 62.5 (25/40)      | 47.4 (9/19)           | 76.2 (16/21)          | 0.060 |
| Masculino                                  | 37.5 (15/40)      | 52.6 (10/19)          | 23.8 (5/21)           |       |
| <b>Grupos por edad (años)</b>              |                   |                       |                       |       |
| ≤ 60                                       | 57.5 (23/40)      | 52.6 (10/19)          | 61.9 (13/21)          | 0.554 |
| ≥ 60                                       | 42.5 (17/40)      | 47.4 (9/19)           | 38.1 (8/21)           |       |
| <b>Historial de tabaquismo</b>             |                   |                       |                       |       |
| Negativo                                   | 50 (20/40)        | 47.4 (9/19)           | 52.4 (11/21)          | 0.752 |
| Positivo                                   | 50 (20/40)        | 52.6 (10/19)          | 47.6 (10/21)          |       |
| <b>Índice tabáquico</b>                    |                   |                       |                       |       |
| ≤ 20                                       | 39.4 (8/20)       | 33.3 (3/9)            | 45.5 (5/11)           | 0.582 |
| ≥ 21                                       | 60.6 (12/20)      | 66.7 (6/9)            | 54.5 (6/11)           |       |
| <b>Exposición a humo de leña</b>           |                   |                       |                       |       |
| Negativo                                   | 72.5 (29/40)      | 68.4 (13/19)          | 76.2 (16/21)          | 0.583 |
| Positivo                                   | 27.5 (11/40)      | 31.6 (6/19)           | 23.8 (5/21)           |       |
| <b>Índice de exposición a humo de leña</b> |                   |                       |                       |       |
| ≤ 20                                       | 50.5 (6/11)       | 50 (3/6)              | 60 (3/5)              | 0.740 |
| ≥ 21                                       | 45.5 (5/11)       | 50 (3/6)              | 40 (2/5)              |       |
| <b>ECOG al momento del Dx</b>              |                   |                       |                       |       |
| ≤ 1                                        | 95 (38/40)        | 5.3 (1/19)            | 4.8 (1/21)            | 0.942 |
| ≥ 2                                        | 5 (2/40)          | 94.7 (18/19)          | 95.2 (20/21)          |       |
| <b>Histología</b>                          |                   |                       |                       |       |
| Otros                                      | 10 (5/40)         | 21.1 (4/19)           | 0 (0/21)              | 0.027 |
| Adenocarcinoma                             | 90 (36/40)        | 78.9 (15/19)          | 100 (21/21)           |       |
| Lepídico                                   | 5.6 (2/36)        | 6.7 (1/15)            | 4.8 (1/21)            | 0.458 |
| Acinar / Papilar                           | 38.9 (4/36)       | 26.7 (4/15)           | 47.6 (10/21)          |       |
| Micropapilar / Sólido                      | 38.9 (4/36)       | 40 (6/15)             | 38.1 (8/21)           |       |
| No especificado                            | 16.7 (6/36)       | 26.7 (4/15)           | 9.5 (2/21)            |       |
| <b>Mutaciones blanco</b>                   |                   |                       |                       |       |
| ALK positivo                               | 2 (2/40)          | 5.3 (1/19)            | 4.8 (1/21)            | 0.973 |
| EGFR positivo                              | 32.5 (13/40)      | 31.6 (6/19)           | 33.3 (7/21)           | 0.906 |
| Ex19del                                    | 76.9 (10/13)      | 66.7 (4/6)            | 85.7 (6/7)            | 0.188 |
| Ex21 (L858R)                               | 15.4 (2/13)       | 33.3 (2/6)            | 0 (0/7)               |       |
| EX20 (T790M)                               | 7.7 (1/13)        | 0 (0/6)               | 14.3 (1/7)            |       |
| <b>Estado de PD-L1</b>                     |                   |                       |                       |       |
| No probado                                 | 52.5 (21/40)      | 52.6 (10/19)          | 50 (10/20)            | 0.509 |
| Negativo                                   | 22.5 (9/40)       | 15.8 (3/19)           | 52.4 (11/21)          |       |
| Positivo                                   | 25 (10/40)        | 31.6 (6/19)           | 19 (4/21)             |       |
| <b>Expresión de PD-L1</b>                  |                   |                       |                       |       |
| Baja expresión (<50%)                      | 90 (9/10)         | 83.3 (5/6)            | 100 (4/4)             | 0.389 |
| Alta expresión (≥50%)                      | 10 (1/10)         | 16.7 (1/6)            | 0 (0/4)               |       |

DTX: Docetaxel, Dx: diagnóstico; DE: desviación estándar, ECOG: Escala de calidad de vida de acuerdo al Grupo Oncológico Cooperativo del Este, ALK: Cinasa de linfoma anaplásico, EGFR: Receptor del Factor de Crecimiento Epidérmico, Ex19del: Delección del exón 19 de EGFR, Ex21 (L858R): Sustitución de una leucina por una arginina en la posición 858 del exón 21 de EGFR, Ex20 (T790M): Sustitución de una treonina por una metionina en la posición 790 del exón 20 de EGFR, ACE: Antígeno Carcinoembrionario, PD-L1: Ligando 1 de Muerte Celular Programada. P ≤ 0.05.

**Tabla 29. Valores de biometría hemática en el total de pacientes y entre clústers generados por los valores de concentración de citocinas en 1T**

| Variable                | Total              |         | Clúster 0           |       | Clúster 1          |       | P     |
|-------------------------|--------------------|---------|---------------------|-------|--------------------|-------|-------|
|                         | N=40               | P       | n=21                | P     | n=19               | P     |       |
| Plaquetas (miles/mm³)   |                    |         |                     |       |                    |       |       |
| 1ºT                     | 258.62 (114/504)   | 0.047   | 226 (120/491)       | 0.054 | 233.5 (149/354)    | 0.629 | 0.685 |
| 2ºT                     | 294.02 (61/613)    |         | 283 (175 / 453)     |       | 236.5 (61/544)     |       | 0.560 |
| Neutrófilos (miles/mm³) |                    |         |                     |       |                    |       |       |
| 1ºT                     | 3.87 (0.1/8.5)     | 0.047   | 2.9 (0.5 / 8.5)     | 0.020 | 3.45 (1.6/7.2)     | 0.793 | 0.588 |
| 2ºT                     | 4.69 (0.6/17.9)    |         | 4.2 (0.9 / 9.2)     |       | 3.35 (0.6/7.1)     |       | 0.163 |
| Linfocitos (miles/mm³)  |                    |         |                     |       |                    |       |       |
| 1ºT                     | 1.07 (0.2/3.1)     | 0.747   | 0.9 (0.2/1.8)       | 0.628 | 1.1 (0.4/3.1)      | 0.924 | 0.115 |
| 2ºT                     | 1.1 (0.2/2.8)      |         | 0.9 (0.2/2.1)       |       | 1 (0.5/2.3)        |       | 0.182 |
| Monocitos (miles/mm³)   |                    |         |                     |       |                    |       |       |
| 1ºT                     | 0.39 (0.1/1.7)     | 0.016   | 0.3 (0.1/1.7)       | 0.190 | 0.3 (0.1/1.2)      | 0.046 | 0.417 |
| 2ºT                     | 0.57 (0/1.3)       |         | 0.6 (0/1.1)         |       | 0.35 (0.1/1.2)     |       | 0.775 |
| Eosinófilos (miles/mm³) |                    |         |                     |       |                    |       |       |
| 1ºT                     | 0.14 (0/1)         | 0.039   | 0.1 (0/1)           | 0.112 | 0.05 (0/0.6)       | 0.221 | 0.731 |
| 2ºT                     | 0.09 (0/1.7)       |         | 0 (0/1.7)           |       | 0 (0/0.1)          |       | 0.936 |
| Basófilos (miles/mm³)   |                    |         |                     |       |                    |       |       |
| 1ºT                     | 0.5 (0/19.5)       | 0.405   | 0 (0/0.4)           | 0.317 | 0 (0/0)            | 1.000 | 1.000 |
| 2ºT                     | 0.03 (0/0.5)       |         | 0 (0/0.5)           |       | 0 (0/0.1)          |       | 0.495 |
| RPL                     |                    |         |                     |       |                    |       |       |
| 1ºT                     | 324.4 (93.2/818.3) | 0.528   | 279.3 (104.4/818.3) | 0.986 | 183.9 (93.2/476)   | 0.295 | 0.129 |
| 2ºT                     | 372.1 (86.9/1675)  |         | 302 (113.8/1675)    |       | 180.7 (86.9/777.1) |       | 0.076 |
| RNL                     |                    |         |                     |       |                    |       |       |
| 1ºT                     | 4.77 (0.2/13.5)    | 0.925   | 5.2 (0.38/13)       | 0.715 | 3.48 (1.3/9)       | 0.687 | 0.507 |
| 2ºT                     | 6.15 (0.48/59.67)  |         | 4.89 (1.93/12.6)    |       | 2.6 (0.48/6.6)     |       | 0.015 |
| Albúmina (g/dL)         |                    |         |                     |       |                    |       |       |
| 1ºT                     | 3.84 (2.8/4.6)     | <0.0001 | 3.9 (3.5/4.6)       | 0.001 | 3.85 (3.7/4.3)     | 0.003 | 0.319 |
| 2ºT                     | 3.45 (1.9/4.4)     |         | 3.6 (2.9/4.4)       |       | 3.7 (1.9/3.9)      |       | 0.514 |
| ACE (ng/mL)             |                    |         |                     |       |                    |       |       |
| 1ºT                     | 23.09 (1.03/144.5) | 0.658   | 10.56 (1.18/122)    | 0.981 | 8.23 (1.03/133)    | 0.530 | 0.409 |
| 2ºT                     | 37.2 (1.43/567)    |         | 11.05 (1.56/105)    |       | 4.13 (1.43/567)    |       | 0.250 |

RPL: razón plaquetas/linfocitos, RNL: razón neutrófilos/linfocitos, ACE: Antígeno Carcinoembrionario. P ≤ 0.05.

**Tabla 30. Valores de biometría hemática en el total de pacientes y entre clústers generados por los valores de concentración de citocinas en 2T**

| Variable                | Total                    |         | Clúster 0             |         | Clúster 1              |       | P     |
|-------------------------|--------------------------|---------|-----------------------|---------|------------------------|-------|-------|
|                         | N=40                     | P       | n=21                  | P       | n=19                   | P     |       |
| Plaquetas (miles/mm3)   |                          |         |                       |         |                        |       |       |
| 1ºT                     | 258.6 (114/504)          | 0.047   | 242 (142/419)         | 0.212   | 222.5 (120/491)        | 0.131 | 0.807 |
| 2ºT                     | 294.02 (61/613)          |         | 268 (61/453)          |         | 273 (171/544)          |       | 0.882 |
| Neutrófilos (miles/mm3) |                          |         |                       |         |                        |       |       |
| 1ºT                     | 3.87 (0.1/8.5)           | 0.047   | 3.4 (1/8.5)           | 0.376   | 2.8 (0.5/7.2)          | 0.076 | 0.968 |
| 2ºT                     | 4.69 (0.6/17.9)          |         | 4.2 (0.6/9.2)         |         | 3.75 (1/8.9)           |       | 0.714 |
| Linfocitos (miles/mm3)  |                          |         |                       |         |                        |       |       |
| 1ºT                     | 1.07 (0.2/3.1)           | 0.747   | 1.1 (0.3/3.1)         | 0.453   | 0.75 (0.2/2.6)         | 0.243 | 0.296 |
| 2ºT                     | 1.1 (0.2/2.8)            |         | 1 (0.2/2.3)           |         | 0.85 (0.5/2.2)         |       | 0.723 |
| Monocitos (miles/mm3)   |                          |         |                       |         |                        |       |       |
| 1ºT                     | 0.39 (0.1/1.7)           | 0.016   | 3 (1/1.7)             | 0.181   | 0.35 (0.1/1.2)         | 0.038 | 0.836 |
| 2ºT                     | 0.57 (0/1.3)             |         | 0.5 (0/1.2)           |         | 0.5 (0.1/1)            |       | 0.902 |
| Eosinófilos (miles/mm3) |                          |         |                       |         |                        |       |       |
| 1ºT                     | 0.14 (0/1)               | 0.039   | 0.1 (0/1)             | 0.023   | 0 (0/0.6)              | 0.500 | 0.457 |
| 2ºT                     | 0.9 (0/1.7)              |         | 0 (0/0.1)             |         | 0 (0/1.7)              |       | 0.762 |
| Basófilos (miles/mm3)   |                          |         |                       |         |                        |       |       |
| 1ºT                     | 0.5 (0/19.5)             | 0.405   | 0 (0/0.4)             | 0.206   | 0 (0/0)                | 0.564 | 0.835 |
| 2ºT                     | 0 .03 (0/0.5)            |         | 0 (0/0.5)             |         | 0 (0/0.1)              |       | 0.079 |
| RPL                     |                          |         |                       |         |                        |       |       |
| 1ºT                     | 324.49<br>(93.23/818.33) | 0.528   | 231.6<br>(93.2/806.6) | 0.717   | 359 (117.3/818.3)      | 0.741 | 0.336 |
| 2ºT                     | 372.1 (86.9/1675)        |         | 285.5<br>(86.9/1675)  |         | 312.4<br>(113.8/777.1) |       | 0.735 |
| RNL                     |                          |         |                       |         |                        |       |       |
| 1ºT                     | 4.77 (0.2/13.5)          | 0.925   | 3.22 (1.3/13)         | 0.841   | 5.35 (0.38/10.33)      | 0.768 | 0.456 |
| 2ºT                     | 6.1 (0.48/59.6)          |         | 4.33 (0.48/12.6)      |         | 3.95 (2/6.6)           |       | 0.828 |
| Albúmina (g/dL)         |                          |         |                       |         |                        |       |       |
| 1ºT                     | 3.84 (2.8/4.6)           | <0.0001 | 3.9 (3.5/4.6)         | <0.0001 | 3.9 (3.6/4.5)          | 0.015 | 0.913 |
| 2ºT                     | 3.45 (1.9/4.4)           |         | 3.5 (1.9/4)           |         | 3.7 (3.4/4.4)          |       | 0.073 |
| ACE (ng/mL)             |                          |         |                       |         |                        |       |       |
| 1ºT                     | 23.09 (1.03/144.5)       | 0.658   | 8.98 (1.03/133)       | 0.701   | 9.5 (1.18/75.56)       | 0.836 | 0.560 |
| 2ºT                     | 37.21 (1.43/567)         |         | 6.99 (1.43/82.09)     |         | 7 (1.78/567)           |       | 0.569 |

RPL: razón plaquetas/linfocitos, RNL: razón neutrófilos/linfocitos, ACE: Antígeno Carcinoembrionario. P ≤ 0.05.

**Análisis de supervivencia de los valores de SLP y SG por grupo de tratamiento y toma de muestra sanguínea en los pacientes asignados a cada clúster generado por de minería de datos**

El análisis de supervivencia generado a través del estimador no paramétrico Kaplan-Meier sobre los valores de SLP de los pacientes asignados al Clúster 0 y Clúster 1 en el total de pacientes (figuras 23 y 26), en el grupo de Pembrolizumab más Docetaxel (figuras 24 y 27) y en el de Docetaxel como monoterapia (figuras 25 y 26) para la primera y segunda toma de muestra sanguínea (respectivamente), sólo mostró diferencias significativas entre los dos clústers para dicho parámetro de respuesta en el grupo de Docetaxel en segunda toma de muestra sanguínea, dado el valor obtenido de significancia de 0.046 mediante la prueba de Log Rank.

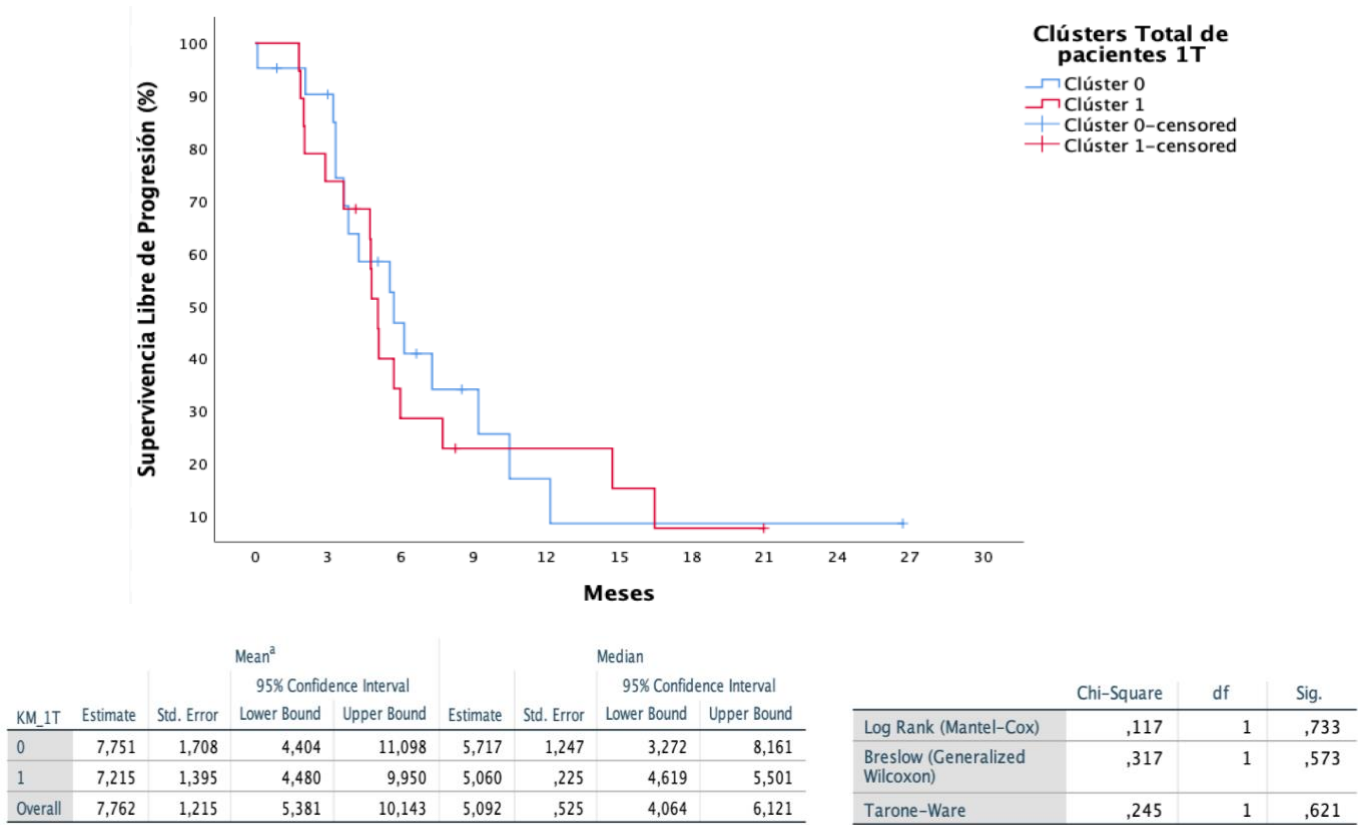


Figura 23. Curvas de supervivencia obtenidas por el estimador Kaplan-Meier con los valores de SLP del total de los pacientes en la primera toma de muestra sanguínea, agrupados por el análisis de minería de datos en Clúster 0 (curva azul) y Clúster 1 (curva roja). En la parte inferior se muestran los valores de media (mean) y mediana (median), así como de significancia estadística obtenidos por las pruebas Log Rank, Breslow y Tarone-Ware ( $P \leq 0.05$ ). No existió alguna diferencia significativa entre estos valores.

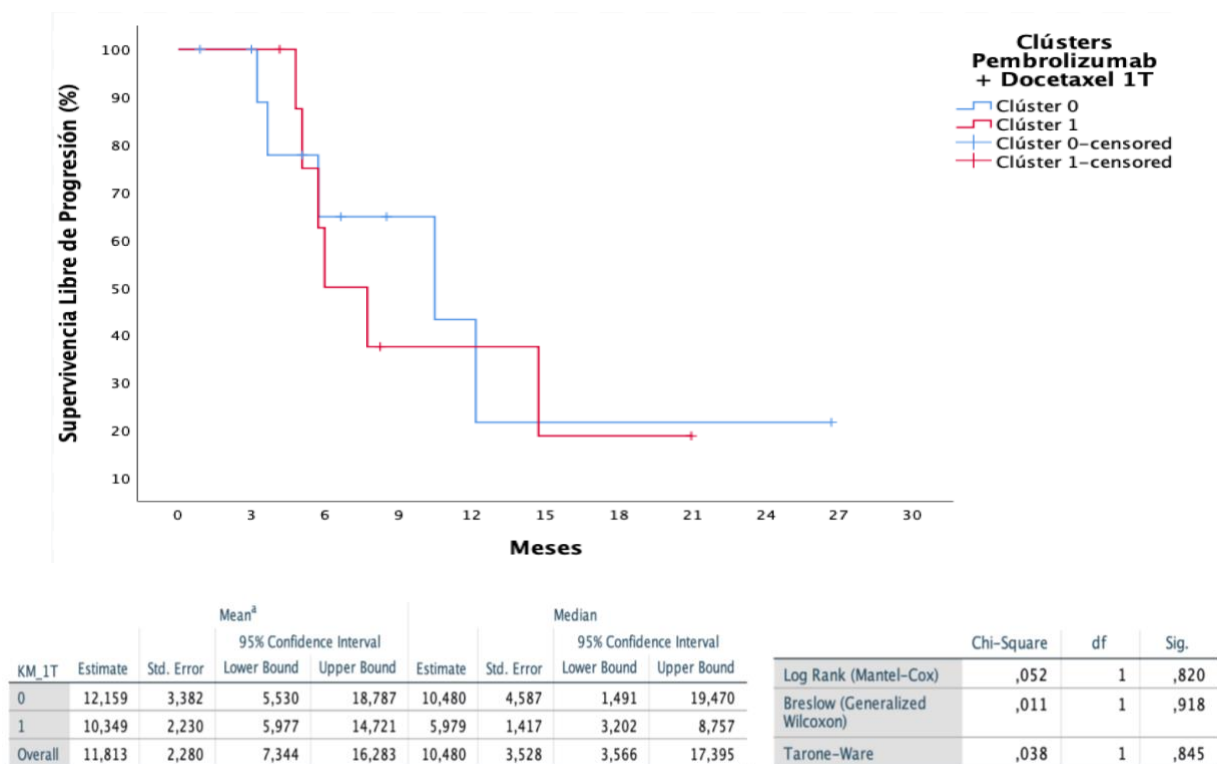


Figura 24. Curvas de supervivencias obtenida por el estimador Kaplan-Meier con los valores de SLP de los pacientes en el grupo de Pembrolizumab más Docetaxel en la primera toma de muestra sanguínea, agrupados por el análisis de minería de datos en Clúster 0 (curva azul) y Clúster 1 (curva roja). En la parte inferior se muestran los valores de media (mean) y mediana (median), así como de significancia estadística obtenidos por las pruebas Log Rank, Breslow y Tarone-Ware ( $P \leq 0.05$ ). No existió alguna diferencia significativa entre estos valores.

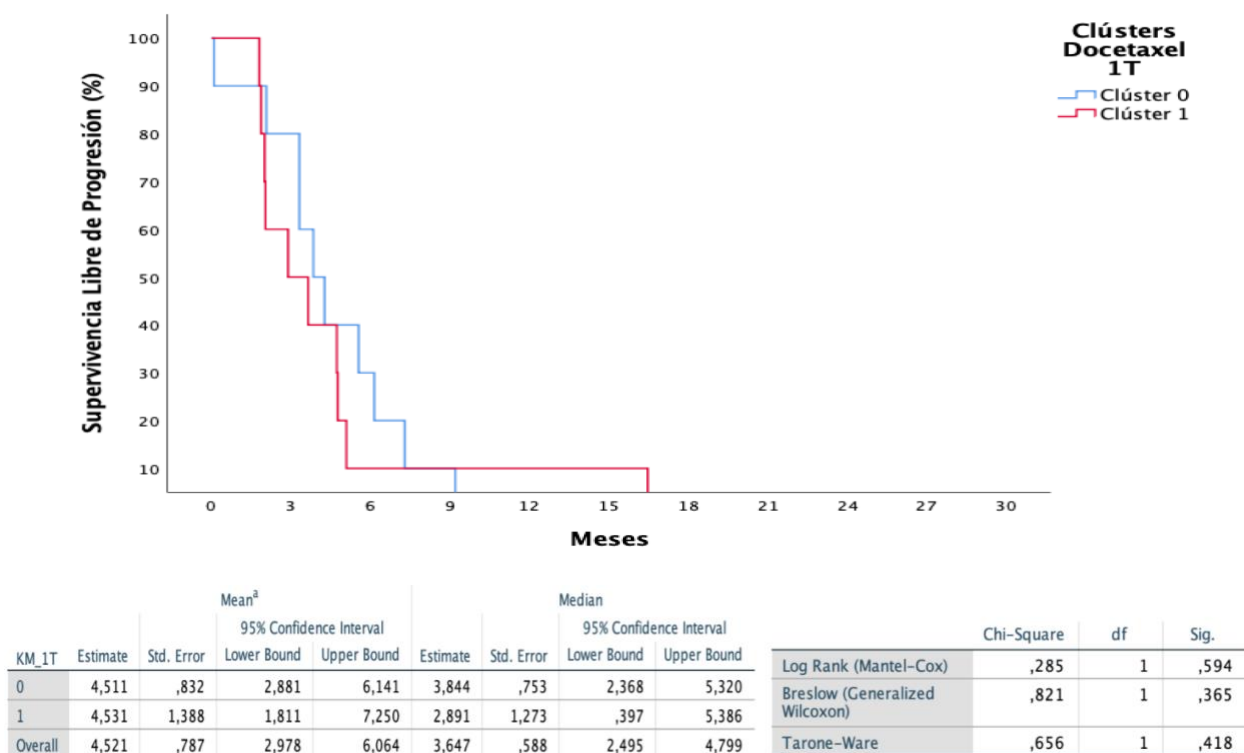


Figura 25. Curvas de supervivencia obtenidas por el estimador Kaplan-Meier con los valores de SLP de los pacientes en el grupo de de Docetaxel en la primera toma de muestra sanguínea, agrupados por el análisis de minería de datos en Clúster 0 (curva azul) y Clúster 1 (curva roja). En la parte inferior se muestran los valores de media (mean) y mediana (median), así como de significancia estadística obtenidos por las pruebas Log Rank, Breslow y Tarone-Ware ( $P \leq 0.05$ ). No existió alguna diferencia significativa entre estos valores.

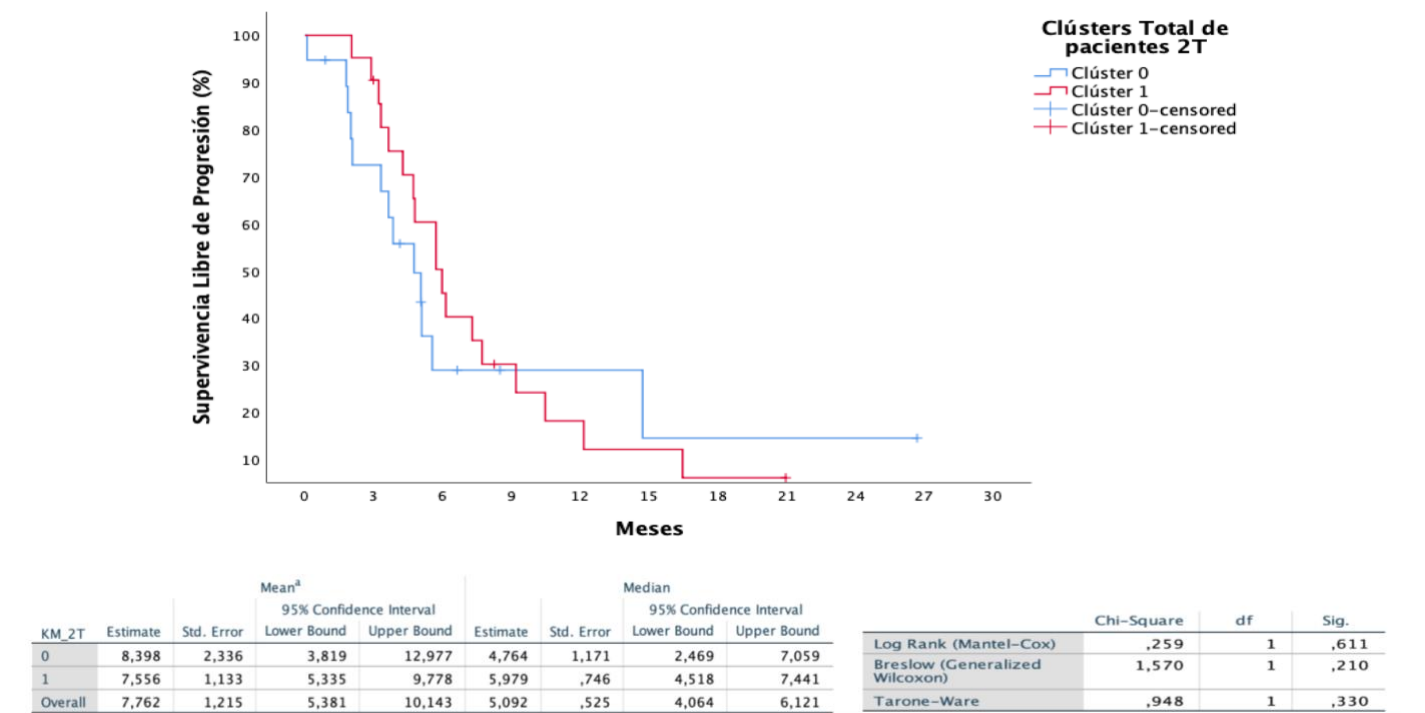
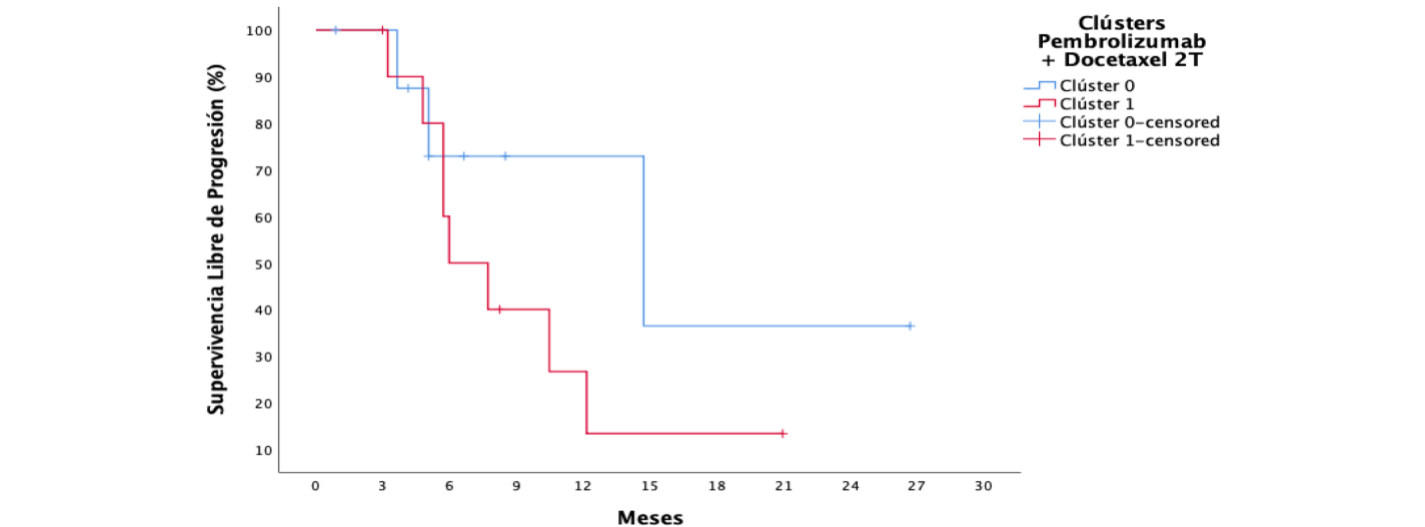
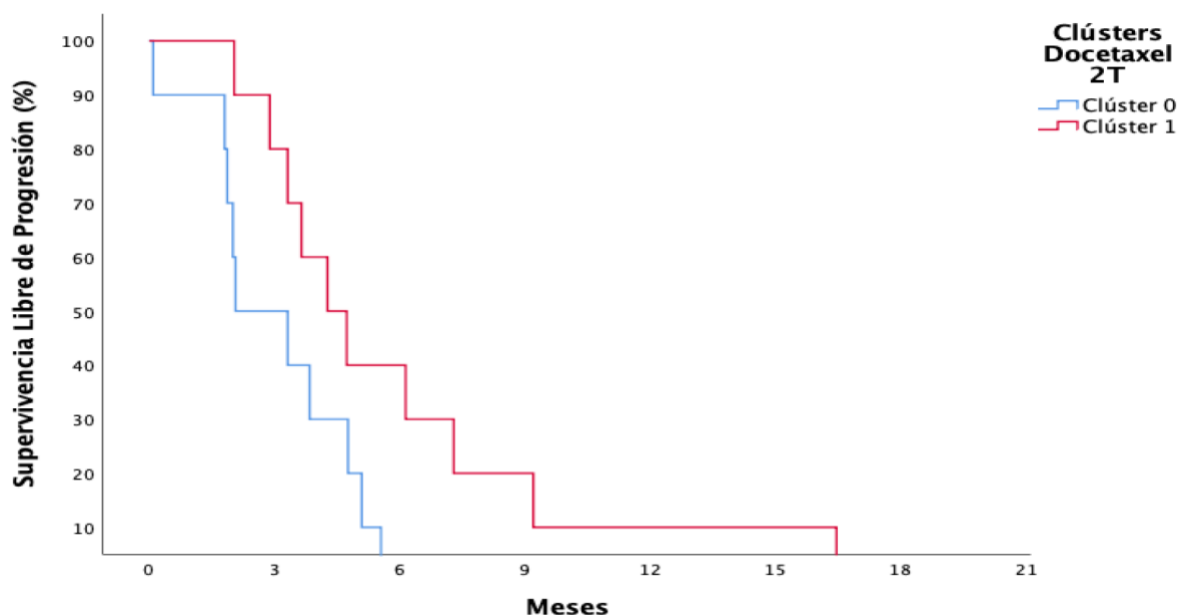


Figura 26. Curvas de supervivencia obtenidas por el estimador Kaplan-Meier con los valores de SLP del total de los pacientes en la segunda toma de muestra sanguínea, agrupados por el análisis de minería de datos en Clúster 0 (curva azul) y Clúster 1 (curva roja). En la parte inferior se muestran los valores de media (mean) y mediana (median), así como de significancia estadística obtenidos por las pruebas Log Rank, Breslow y Tarone-Ware ( $P \leq 0.05$ ). No existió alguna diferencia significativa entre estos valores.



| KM_2T   | Estimate | Std. Error | Mean <sup>a</sup>       |             | Estimate | Std. Error | Median                  |             | Chi-Square                     | df    | Sig. |      |
|---------|----------|------------|-------------------------|-------------|----------|------------|-------------------------|-------------|--------------------------------|-------|------|------|
|         |          |            | 95% Confidence Interval |             |          |            | 95% Confidence Interval |             |                                |       |      |      |
|         |          |            | Lower Bound             | Upper Bound |          |            | Lower Bound             | Upper Bound |                                |       |      |      |
| 0       | 16,287   | 4,086      | 8,278                   | 24,296      | 14,719   | 7,171      | ,663                    | 28,774      | Log Rank (Mantel-Cox)          | 1,194 | 1    | ,275 |
| 1       | 9,128    | 1,784      | 5,631                   | 12,625      | 5,979    | 1,584      | 2,874                   | 9,085       | Breslow (Generalized Wilcoxon) | ,620  | 1    | ,431 |
| Overall | 11,813   | 2,280      | 7,344                   | 16,283      | 10,480   | 3,528      | 3,566                   | 17,395      | Tarone-Ware                    | ,927  | 1    | ,336 |

Figura 27. Curvas de supervivencia obtenidas por el estimador Kaplan-Meier con los valores de SLP de los pacientes en el grupo de Pembrolizumab más Docetaxel en la segunda toma de muestra sanguínea, agrupados por el análisis de minería de datos en Clúster 0 (curva azul) y Clúster 1 (curva roja). En la parte inferior se muestran los valores de media (mean) y mediana (median), así como de significancia estadística obtenidos por las pruebas Log Rank, Breslow y Tarone-Ware ( $P \leq 0.05$ ). No existió alguna diferencia significativa entre estos valores.



| KM_2T   | Estimate | Std. Error | Mean <sup>a</sup>       |             | Estimate | Std. Error | Median                  |             | Chi-Square                     | df    | Sig. |      |
|---------|----------|------------|-------------------------|-------------|----------|------------|-------------------------|-------------|--------------------------------|-------|------|------|
|         |          |            | 95% Confidence Interval |             |          |            | 95% Confidence Interval |             |                                |       |      |      |
|         |          |            | Lower Bound             | Upper Bound |          |            | Lower Bound             | Upper Bound |                                |       |      |      |
| 0       | 3,042    | ,555       | 1,954                   | 4,131       | 2,070    | 1,039      | ,033                    | 4,106       | Log Rank (Mantel-Cox)          | 3,995 | 1    | ,046 |
| 1       | 5,999    | 1,350      | 3,353                   | 8,645       | 4,271    | ,857       | 2,591                   | 5,951       | Breslow (Generalized Wilcoxon) | 3,524 | 1    | ,060 |
| Overall | 4,521    | ,787       | 2,978                   | 6,064       | 3,647    | ,588       | 2,495                   | 4,799       | Tarone-Ware                    | 3,692 | 1    | ,055 |

Figura 28. Curvas de supervivencia obtenidas por el estimador Kaplan-Meier con los valores de SLP de los pacientes en el grupo de Docetaxel en la primera toma de muestra sanguínea, agrupados por el análisis de minería de datos en Clúster 0 (curva azul) y Clúster 1 (curva roja). En la parte inferior se muestran los valores de media (mean; <sup>a</sup> = la estimación se limita al mayor tiempo de supervivencia si está censurada) y mediana (median), así como de significancia estadística obtenidos por las pruebas Log Rank, Breslow y Tarone-Ware ( $P \leq 0.05$ ). Los valores obtenidos fueron significativamente diferentes de acuerdo a la prueba Log Rank ( $P = 0.046$ ).

Por su parte, el análisis de supervivencia sobre los valores de SG de los pacientes asignados al Clúster 0 y Clúster 1 en el total de pacientes (figuras 29 y 32), en el grupo de Pembrolizumab más Docetaxel (figuras 30 y 33) y en el de Docetaxel (figuras 31 y 34) para la primera y segunda toma de muestra sanguínea (respectivamente), no mostró diferencias significativas entre los dos clústers para dicho parámetro de respuesta en ninguno de los grupos.

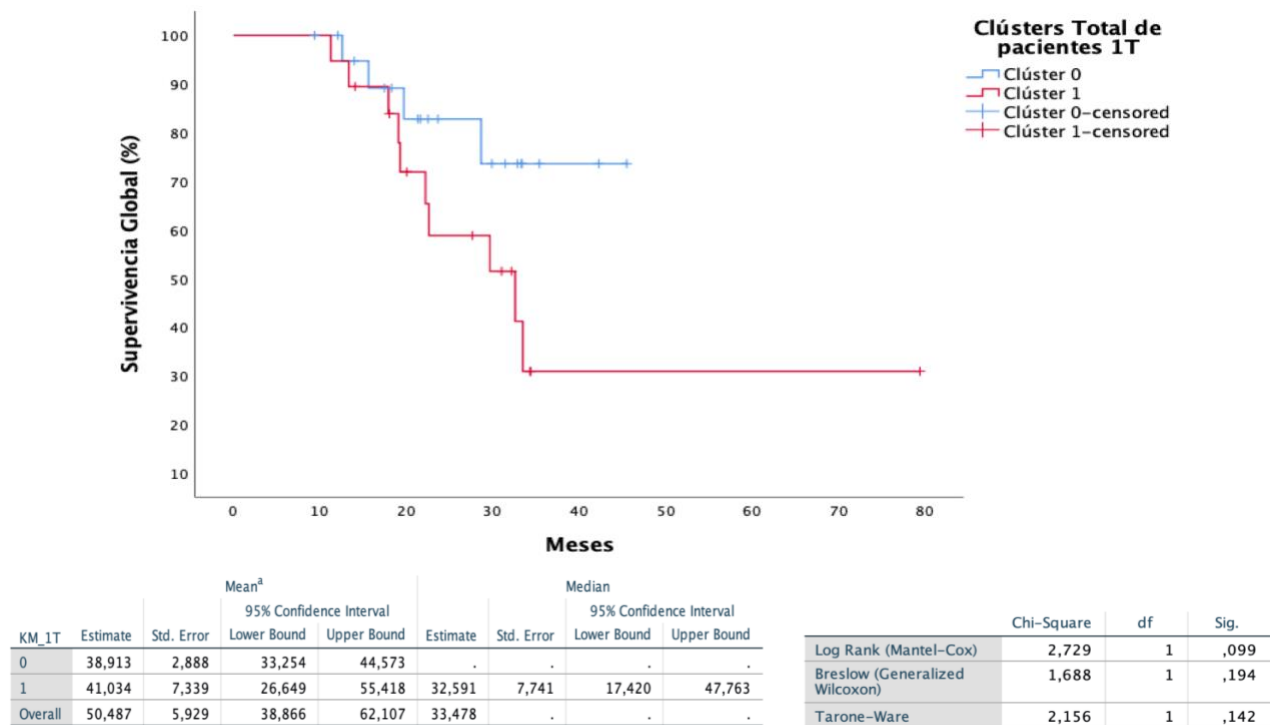


Figura 29. Curva de supervivencia obtenida por el estimador Kaplan-Meier con los valores de SG del total de los pacientes en la primera toma de muestra sanguínea, agrupados por el análisis de minería de datos en Clúster 0 (curva azul) y Clúster 1 (curva roja). En la parte inferior se muestran los valores de media (mean) y mediana (median), así como de significancia estadística obtenidos por las pruebas Log Rank, Breslow y Tarone-Ware ( $P \leq 0.05$ ). No existió alguna diferencia significativa entre estos valores.

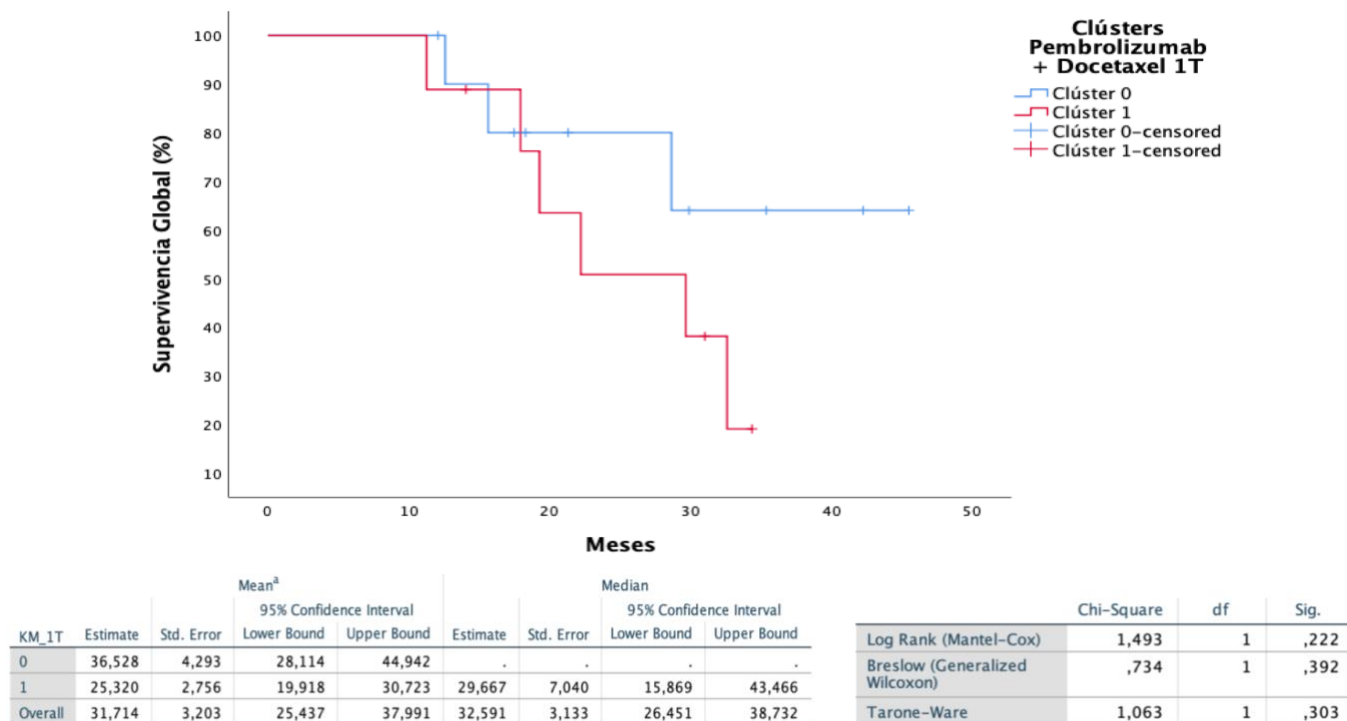
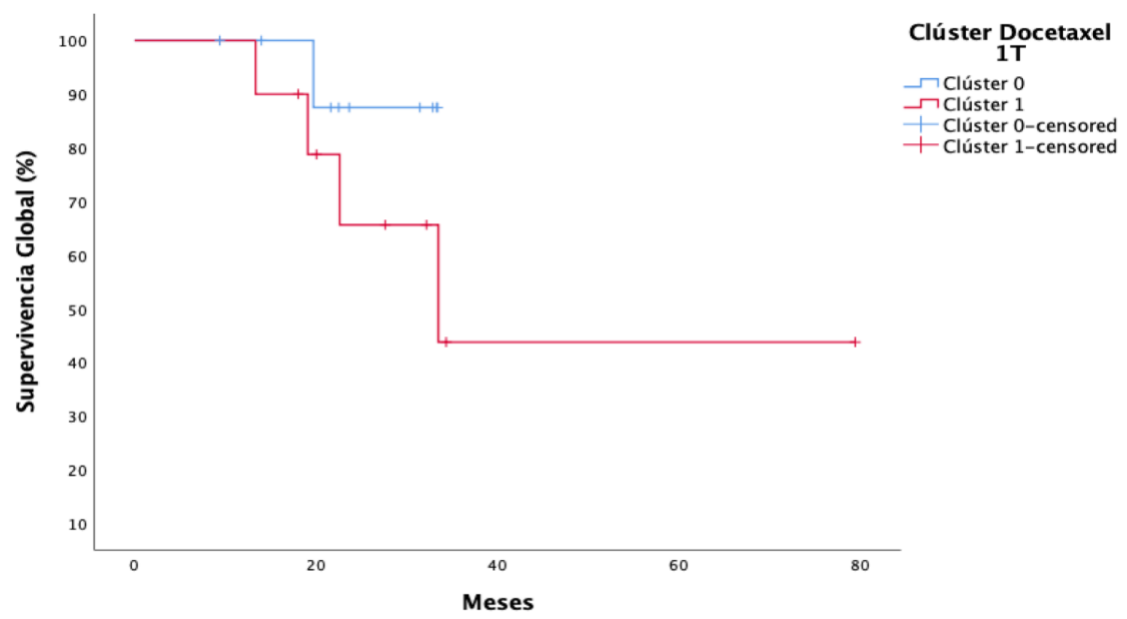


Figura 30. Curvas de supervivencia obtenidas por el estimador Kaplan-Meier con los valores de SG de los pacientes en el grupo de tratamiento de Pembrolizumab más Docetaxel en la primera toma de muestra sanguínea, agrupados por el análisis de minería de datos en Clúster 0 (curva azul) y Clúster 1 (curva roja). En la parte inferior se muestran los valores de media (mean) y mediana (median), así como de significancia estadística obtenidos por las pruebas Log Rank, Breslow y Tarone-Ware ( $P \leq 0.05$ ). No existió alguna diferencia significativa entre estos valores.



| Mean <sup>a</sup> |          |            |                         |             | Median   |            |                         |             |  |
|-------------------|----------|------------|-------------------------|-------------|----------|------------|-------------------------|-------------|--|
| KM_1T             | Estimate | Std. Error | 95% Confidence Interval |             | Estimate | Std. Error | 95% Confidence Interval |             |  |
|                   |          |            | Lower Bound             | Upper Bound |          |            | Lower Bound             | Upper Bound |  |
| 0                 | 31,671   | 1,598      | 28,539                  | 34,804      | .        | .          | .                       | .           |  |
| 1                 | 48,513   | 11,038     | 26,879                  | 70,147      | 33,478   | 10,407     | 13,080                  | 53,877      |  |
| Overall           | 53,007   | 10,607     | 32,217                  | 73,797      | .        | .          | .                       | .           |  |

|                                | Chi-Square | df | Sig. |
|--------------------------------|------------|----|------|
| Log Rank (Mantel-Cox)          | ,928       | 1  | ,335 |
| Breslow (Generalized Wilcoxon) | ,938       | 1  | ,333 |
| Tarone-Ware                    | ,933       | 1  | ,334 |

Figura 31. Curvas de supervivencia obtenidas por el estimador Kaplan-Meier con los valores de SG de los pacientes en el grupo de Docetaxel en la primera toma de muestra sanguínea, agrupados por el análisis de minería de datos en Clúster 0 (curva azul) y Clúster 1 (curva roja). En la parte inferior se muestran los valores de media (mean) y mediana (median), así como de significancia estadística obtenidos por las pruebas Log Rank, Breslow y Tarone-Ware ( $P \leq 0.05$ ). No existió alguna diferencia significativa entre estos valores.

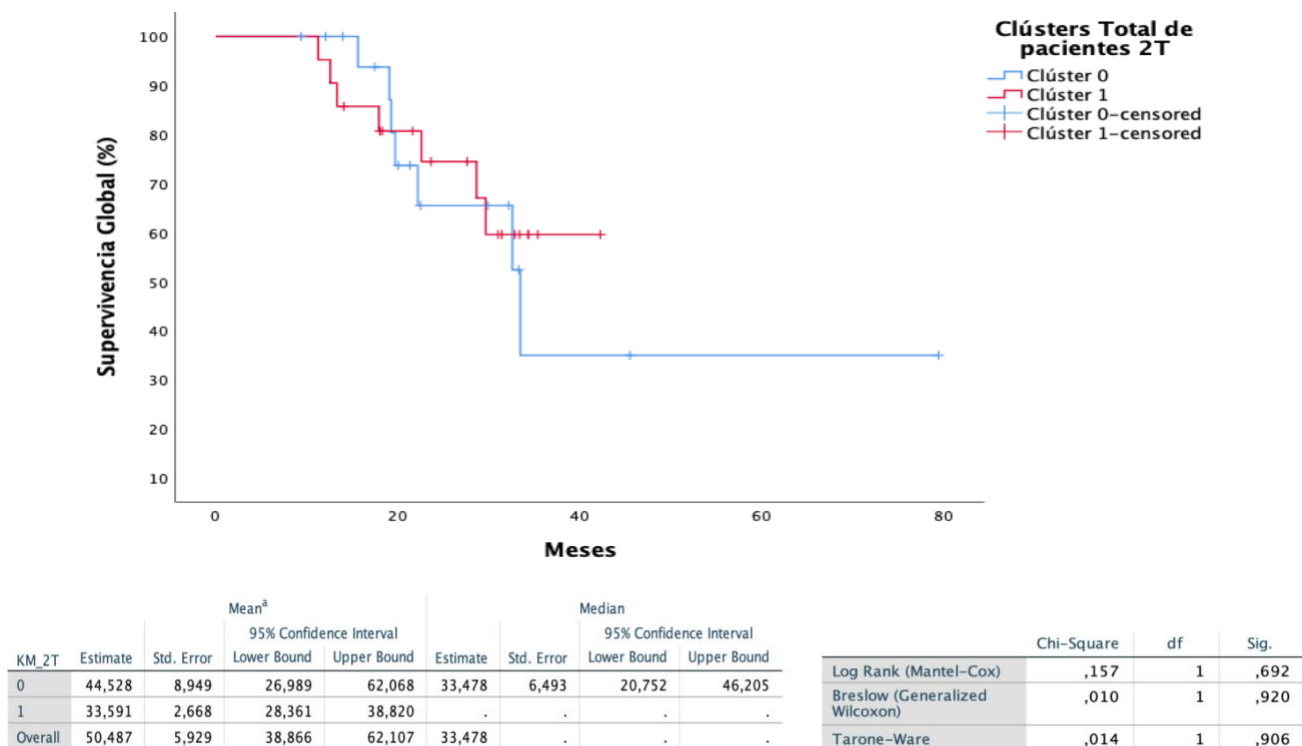


Figura 32. Curvas de supervivencia obtenidas por el estimador Kaplan-Meier con los valores de SG del total de los pacientes en la segunda toma de muestra sanguínea, agrupados por el análisis de minería de datos en Clúster 0 (curva azul) y Clúster 1 (curva roja). En la parte inferior se muestran los valores de media (mean) y mediana (median), así como de significancia estadística obtenidos por las pruebas Log Rank, Breslow y Tarone-Ware ( $P \leq 0.05$ ). No existió alguna diferencia significativa entre estos valores.

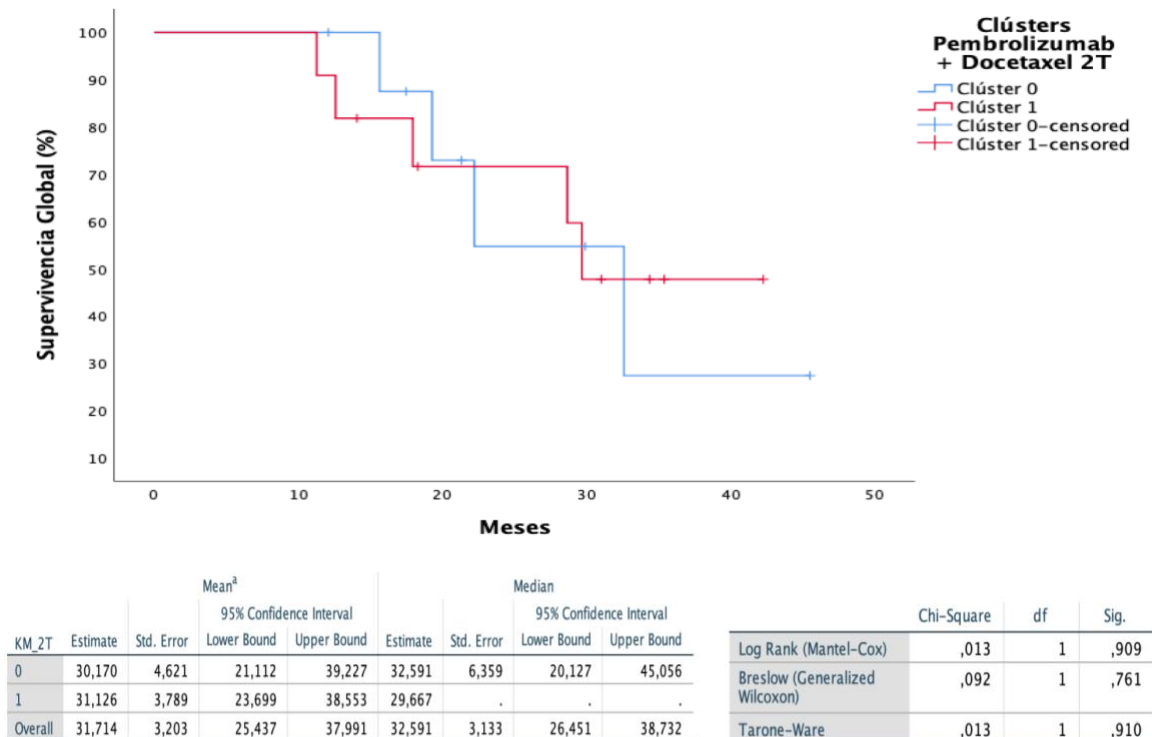


Figura 33. Curvas de supervivencia obtenidas por el estimador Kaplan-Meier con los valores de SG de los pacientes en el grupo de Pembrolizumab más Docetaxel en la segunda toma de muestra sanguínea, agrupados por el análisis de minería de datos en Clúster 0 (curva azul) y Clúster 1 (curva roja). En la parte inferior se muestran los valores de media (mean) y mediana (median), así como de significancia estadística obtenidos por las pruebas Log Rank, Breslow y Tarone-Ware ( $P \leq 0.05$ ). No existió alguna diferencia significativa entre estos valores.

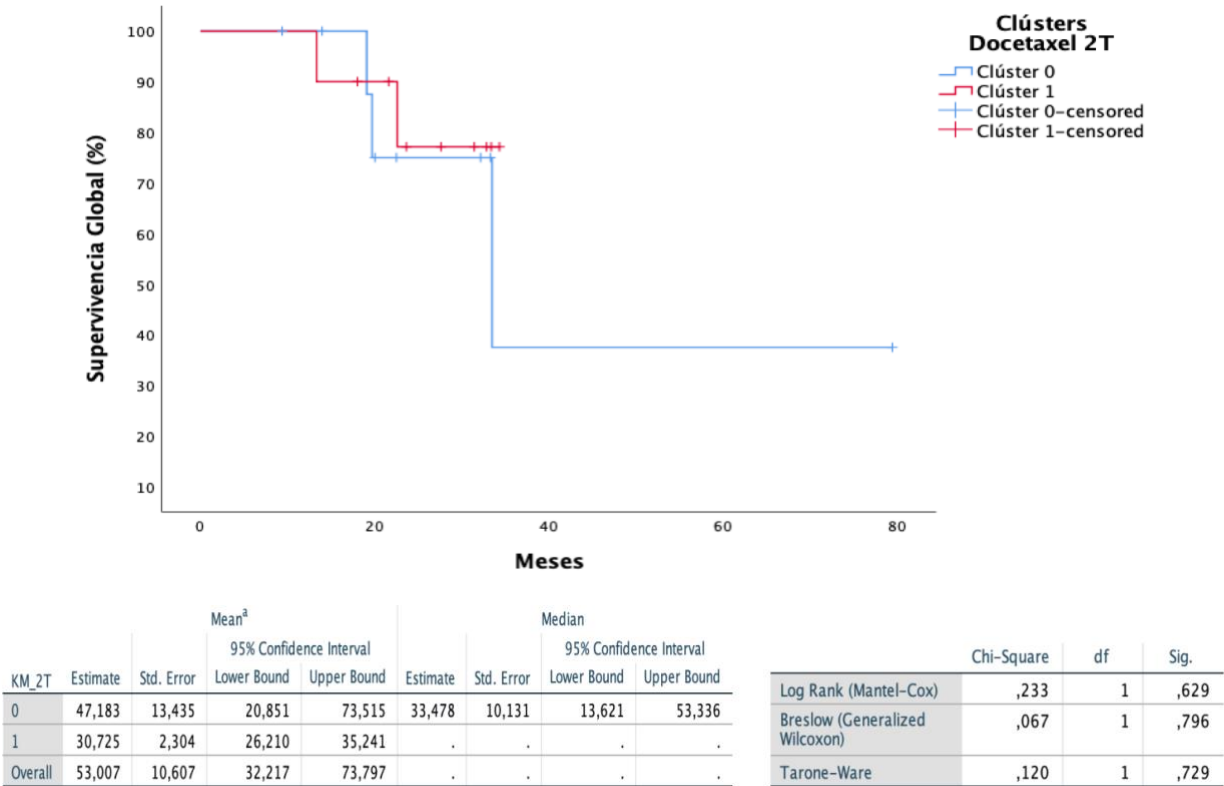


Figura 34. Curvas de supervivencia obtenidas por el estimador Kaplan-Meier con los valores de SG de los pacientes en el grupo Docetaxel en la primera toma de muestra sanguínea, agrupados por el análisis de minería de datos en Clúster 0 (curva azul) y Clúster 1 (curva roja). En la parte inferior se muestran los valores de media (mean) y mediana (median), así como de significancia estadística obtenidos por las pruebas Log Rank, Breslow y Tarone-Ware ( $P \leq 0.05$ ). No existió alguna diferencia significativa entre estos valores.

### **Supervivencia Libre de Progresión y Supervivencia Global en el total de pacientes y por grupo de tratamiento (figuras 13 a 16)**

El total de pacientes tuvo una media y mediana de SLP de 7.76 y 5.09 meses y de SG de 50.48 y 33.47 meses, respectivamente. Los pacientes en el grupo de Pembrolizumab más Docetaxel tuvieron significativamente una mayor media y mediana de SLP que el de Docetaxel (11.81 Vs. 4.52 meses y 10.48 Vs. 3.64 meses, respectivamente). Lo anterior es concordante con lo obtenido en la cohorte de 78 pacientes de la cual se derivaron los 40 pacientes incluidos en este estudio, ya que estos presentaron una diferencia significativa en la media de SLP de 9.5 meses en el primero contra 3.9 meses en el segundo<sup>197</sup>. En SG, los pacientes del grupo de Docetaxel tuvieron significativamente una mayor media que aquellos en el grupo de la combinación (53 Vs. 31.71 meses). Los valores de mediana de dicho parámetro no pueden ser del todo comparables entre grupos, ya que si bien en el grupo de Pembrolizumab más Docetaxel se obtuvo una mediana SG de 32.59 meses, en el grupo de Docetaxel el valor de mediana fue NR. En este sentido y en términos de media de SG, los resultados obtenidos contrastan con los presentados en la cohorte de 78 pacientes, donde la media de SG entre ambos grupos de tratamiento no fue significativamente diferente<sup>197</sup>. En otro estudio que comparó pacientes con CPCNP estadios tardíos con TPS PD-L1  $\geq 1\%$  o  $\geq 50\%$  sometidos en segunda línea de tratamiento a Pembrolizumab (2 mg/kg o 200 mg/kg) o Docetaxel (75 mg/m<sup>2</sup>), sólo existió un beneficio significativamente mayor en SLP en pacientes con un TPS PD-L1  $\geq 50\%$  sometidos a cualquier dosis de Pembrolizumab, en comparación con quienes recibieron Docetaxel (mediana de 5 Vs. 4.1 meses con 2 mg/kg y 5.2 Vs. 4.1 meses con 200 mg/kg); en SG el beneficio fue significativamente mayor en estos dos grupos de Pembrolizumab, en comparación con el de Docetaxel, en pacientes con un TPS PD-L1  $\geq 1\%$  (mediana 14.9 Vs. 8.2 meses con 2 mg/kg y 17.3 Vs. 8.2 meses con 200 mg/kg)<sup>195</sup>. Otros estudios también han mostrado un beneficio significativamente mayor en SLP y SG para los pacientes con CPCNP estadios tardíos con TPS PD-L1  $\geq 1\%$  o  $\geq 50\%$  que recibieron Pembrolizumab en primera línea, en comparación al tratamiento con quimioterapia doble basada en platinos, así como en pacientes en primera línea que recibieron Pembrolizumab más platino (Carboplatino o Cisplatino) y Pemetrexed (o un taxano como nab-Paclitaxel o Paclitaxel), en comparación con quienes sólo recibieron estos dos últimos (pudiendo tener un TPS de PD-L1 negativo, de  $\geq 1\%$  o  $\geq 50\%$ )<sup>206</sup>. Por lo tanto, y a diferencia de estos dos últimos antecedentes citados, este estudio (así como aquél de la cohorte de 78 pacientes) demuestra que el tratamiento con Pembrolizumab combinado con Docetaxel puede otorgar significativamente un mayor beneficio clínico que la monoterapia con éste último, independientemente del estatus de expresión de PD-L1. Si bien en SG se obtuvo una mayor media para el grupo de Docetaxel, la gran cantidad de valores NR obtenidos por los pacientes en este parámetro puede generar debate sobre si estos resultados representan fielmente la realidad, por lo cual en este sentido se sugiere considerar con mayor peso los resultados obtenidos en la cohorte de 78 pacientes, donde la terapia combinatoria otorgó significativamente un mayor beneficio que la monoterapia.

### **Características clínico-patológicas (tabla 7) y su asociación con SLP (tabla 17) y SG (tabla 22)**

De acuerdo a los resultados obtenidos en la prueba de significación estadística sobre las características clínico-patológicas de los pacientes incluidos en el estudio (tabla 7), se puede apreciar que el hecho de que ninguna de las categorías o subcategorías hayan sido diferentes entre sí permite argumentar que ninguna de éstas tuvo mayor o menor peso, dentro de un mismo grupo de estudio o entre estos, sobre el resto de variables o análisis posteriores efectuados. Todos los apartados que serán analizados a continuación serán comparados con antecedentes similares y con el estudio de la cohorte de 78 pacientes<sup>197</sup>, de la cual se derivan los 40 pacientes incluidos en este estudio (a excepción del ECOG y los índices de exposición a humo de leña y tabáquico, ya que estos no fueron analizados en términos de su asociación con SLP y SG en dicho estudio). Cabe mencionar que si bien se obtuvieron diferencias significativas en algunas subcategorías clínico-patológicas en SG (tabla 22), todas presentaron un valor NR de la mediana en meses (a excepción de las histologías “adenocarcinoma” y “otros”), siendo este un factor que limita las comparaciones tanto dentro del estudio como con otros similares.

#### **Género**

Es destacable el hecho de que la mayor incidencia de la enfermedad en el estudio la presentó el género femenino (62.5%), lo que contrasta con la estadística mundial y nacional en este ámbito, ya que son los hombres, en general, los que poseen la mayor frecuencia de casos de dicha enfermedad<sup>151</sup>. Aunque un estudio previo en población mexicana (1417 pacientes con CPCNP) también presentó una mayor frecuencia de casos en el género femenino (52.4%) e incluso en pacientes latinoamericanos, en general (53.5%)<sup>207</sup>.

El tratamiento con Docetaxel benefició significativamente más a mujeres que hombres, en términos de SLP (tabla 17). Sin embargo, las mujeres en el grupo de Pembrolizumab más Docetaxel tuvieron significativamente una mayor SLP que las mujeres en el otro grupo de tratamiento y el mismo fenómeno se presentó para los hombres. Lo anterior contrasta parcialmente con los resultados mostrados en un meta-análisis sobre ensayos clínicos que incluyeron pacientes con CPCNP en estadios tardíos que recibieron quimioterapia doble con platinos, Docetaxel o ICIs (Pembrolizumab, Nivolumab, Atezolizumab y Avelumab) en primera o segunda línea de tratamiento, donde sí hubo significativamente un mayor beneficio en SLP para los hombres con respecto a las mujeres que recibieron inmunoterapia, incluso estas últimas no tuvieron algún beneficio significativo en dicho parámetro con ese tratamiento, con respecto a quienes recibieron quimioterapia<sup>208</sup>. Por ende, la combinación del tratamiento podría otorgar un beneficio significativo al género femenino, con respecto a la inmunoterapia o quimioterapia de un solo agente, aunque esto podría ser simplemente un resultado dado por el tamaño de muestra, ya que en la cohorte de 78 pacientes, que representan realmente el total de estos 40 pacientes, no existieron diferencias significativas entre ambos grupos de tratamiento en SLP y SG entre hombres y mujeres<sup>197</sup>.

## Edad

La media de edad (56 años) fue ligeramente menor a lo obtenido en estudios previos en pacientes mexicanos y latinoamericanos (60 años)<sup>209, 207</sup>. Los pacientes menores y mayores a 60 años en el grupo de Pembrolizumab más Docetaxel tuvieron significativamente un mayor beneficio en SLP que los del grupo de Docetaxel, fenómeno que no aconteció de forma significativa en el meta-análisis mencionado anteriormente (en “género”)<sup>208</sup>. Esto sí ocurrió en otros estudios con poblaciones de pacientes similares que recibieron Pembrolizumab, Nivolumab o quimioterapia como agentes únicos, incluyendo Docetaxel (siendo los puntos de corte de ambos estudios < 65 y ≥ 65 años)<sup>210</sup>. Sin embargo, los resultados obtenidos en este estudio con respecto a la edad y los parámetros de supervivencia, contrastan con lo obtenido en la cohorte de 78 pacientes, donde los sujetos mayores y menores a 60 años no tuvieron diferencias significativas entre sí sobre SLP y SG entre ambos grupos<sup>197</sup>.

## Historial de tabaquismo e índice tabáquico

La frecuencia de historial de tabaquismo (50%) es similar a lo reportado en pacientes con CPCNP mexicanos y latinoamericanos (47.5% y 46.7%, respectivamente)<sup>207</sup>, mientras que la media de índice tabáquico obtenida (35.23%) fue bastante similar a la presentada en pacientes mexicanos del Insituto Nacional de Cancerología diagnosticados entre 2007 y 2014 (34.7%)<sup>209</sup>.

Los pacientes en el grupo de Pembrolizumab más Docetaxel con historial de tabaquismo negativo presentaron un beneficio significativamente mayor en SLP, en comparación con el de Docetaxel. Esto también contrasta con el meta-análisis de quimioterapia Vs. ICIs en primera o segunda línea, donde los pacientes con historial de tabaquismo positivo tratados con inmunoterapia anti-PD-L1 o anti-PD-1 tuvieron significativamente un mayor beneficio en SLP, en comparación con aquellos que recibieron quimioterapia<sup>208</sup>. Por otro lado, al igual que con el género y la edad, el historial de tabaquismo no fue un factor que se asociara a una mayor o menor supervivencia entre los grupos en términos de SLP y/o SG, para la cohorte de 78 pacientes<sup>197</sup>.

## Exposición a humo de leña e índice de exposición a humo de leña

La frecuencia de exposición a humo de leña obtenida (27.5%) fue casi similar a la presentada en pacientes mexicanos con CPCNP (37.2%), mientras que la media del índice de exposición a humo de leña determinada (49.45%) difirió notablemente con este estudio (94.5%)<sup>209</sup>. Los pacientes incluidos en el grupo de Pembrolizumab más Docetaxel con historial tanto negativo como positivo de exposición a humo de leña, así como los que presentaron un índice de exposición a humo de leña ≤20, tuvieron significativamente un mayor beneficio en SLP que aquellos en el grupo de Docetaxel. Por su parte, los pacientes dentro del grupo de Docetaxel que no tuvieron exposición a humo de leña presentaron significativamente un mayor beneficio que quienes tuvieron exposición. Tales resultados son difícilmente comparables con otros, especialmente en

CPCNP y con estos tratamientos, debido a la falta de antecedentes que se centren en este factor y su asociación con la respuesta al tratamiento, en términos de supervivencia. Se tiene registro de un mayor beneficio significativo sobre la SLP en pacientes mexicanos con CPCNP estadios tardíos que tuvieron exposición a humo de leña, en comparación con aquellos que no tuvieron dicha exposición, y que recibieron Erlotinib en segunda o tercera línea de tratamiento después del fallo a la quimioterapia o bien, en primera línea si no fueron candidatos a recibir quimioterapia o radioterapia<sup>211</sup>. Por otro lado, la cohorte de 78 pacientes no mostró diferencias significativas en SLP y SG sobre la exposición a humo de leña entre ambos grupos de tratamiento<sup>197</sup>.

#### ECOG al momento del diagnóstico

La frecuencia del valor ECOG  $\leq 1$  (95%) fue mayor a la determinada en pacientes mexicanos con CPCNP (73.2%)<sup>209</sup>. Los pacientes en el grupo de Pembrolizumab más Docetaxel que presentaron un ECOG  $\leq 1$  al momento del diagnóstico, tuvieron significativamente una mayor SLP que aquellos con la misma condición en el grupo de Docetaxel. En otros estudios no se han encontrado diferencias significativas en este factor, aunque estos han sido en pacientes con CPCNP estadios tardíos que recibieron únicamente Pembrolizumab o Nivolumab en segunda línea<sup>212</sup>, Docetaxel en segunda línea<sup>213</sup> o platinos en primera línea<sup>214</sup>.

#### Histología

La frecuencia del tipo histológico adenocarcinoma (90%) fue concordante a lo presentado en pacientes mexicanos y latinoamericanos (90.8% y 95%, respectivamente)<sup>207</sup>. En términos de SLP existieron diferencias significativas entre ambos grupos (siendo mayor el beneficio en el grupo de la combinación) en todas las histologías y subhistologías, a excepción de la subhistología “no especificada”. También dentro del grupo de la combinación, la histología “adenocarcinoma” tuvo significativamente una mayor mediana de SG que el resto de histologías. Lo anterior contrasta con un estudio que incluyó pacientes con CPCNP tratados con Pembrolizumab o Docetaxel en segunda línea, donde no existieron diferencias significativas en SLP a nivel histológico (aunque debe tenerse en cuenta que todos los pacientes tenían, al menos, una expresión de PD-L1 del 1%)<sup>195</sup>. También estos resultados son contrastantes con lo obtenido en pacientes con CPCNP que recibieron quimioterapia en primera línea, donde las histologías “adenocarcinoma” y “no adenocarcinoma” no fueron significativamente diferentes con respecto a los valores de SLP y SG obtenidos<sup>214</sup>. Pero por otro lado, los resultados obtenidos son coincidentes con la cohorte de 78 pacientes, donde la histología de “adenocarcinoma” tuvo significativamente un mayor beneficio en SLP que el resto de histologías para los pacientes que recibieron Pembrolizumab más Docetaxel, en comparación con los que recibieron Docetaxel (esto no ocurrió para las comparaciones entre subhistologías)<sup>197</sup>. También existe coincidencia parcial con un estudio en CPCNP en estadios tardíos, donde los pacientes tratados con Pembrolizumab o Nivolumab en segunda línea y divididos por histología “escamosa” y “no escamosa”, tuvieron mayor SLP los pacientes con histología “escamosa”<sup>212</sup>.

### Tipo de mutación (EGFR o ALK)

El porcentaje de pacientes con alteraciones genéticas en EGFR (32.5%) es similar al presentado en estudios previos en pacientes mexicanos con CPCNP, en los cuales se han reportado frecuencias del 34.3%<sup>207</sup>, 31.2%<sup>215</sup> y 27%<sup>209</sup>. Dentro de este rubro, las frecuencias de la delección del exón 19 (76.9%), exón 20 (7.7%) y la mutación del exón 21 (15.4%) obtenidas también representaron la mayor parte de las alteraciones genéticas en EGFR, como se ha determinado previamente en 381 pacientes mexicanos con CPCNP del Instituto Nacional de Cancerología (63.9% exón 19, 8.4% exón 20 y 26% exón 21)<sup>215</sup>. Por su parte, el porcentaje de ALK obtenido (2%) coincide dentro del rango de frecuencia obtenido a nivel mundial (2-7%)<sup>155</sup>.

Los pacientes en el grupo de Pembrolizumab más Docetaxel que tuvieron alguna mutación en EGFR tuvieron significativamente un mayor beneficio en SLP que aquellos pacientes con mutación en EGFR del grupo de Docetaxel, siendo contrastante con lo obtenido en un meta-análisis sobre pacientes con CPCNP que recibieron Nivolumab o Docetaxel en segunda línea de tratamiento, donde no existieron diferencias significativas entre estos dos tratamientos en los pacientes con mutaciones en EGFR<sup>216</sup>. Sin embargo, esto también podría ser un efecto del tamaño de la muestra, ya que la cohorte de 78 pacientes no mostró diferencias significativas entre los pacientes con y sin mutaciones en EGFR (ni en ALK) entre ambos grupos de tratamiento<sup>197</sup>.

### Estado de expresión de PD-L1

Una mayor expresión de PD-L1 podría pensarse como un factor altamente favorable para la aplicación de ICIs como Pembrolizumab en pacientes con CPCNP, pero el efecto positivo en términos de respuesta a la terapia de un solo agente se presenta solamente en el 20% de los pacientes con CPCNP, aproximadamente. Por ello el valor de TPS de PD-L1 como biomarcador pronóstico de respuesta a un tratamiento en CPCNP sigue siendo un tema controversial, ya que existen estudios en los que este factor está involucrado directamente con la obtención de mejores valores de respuesta en primera línea como agente único o en distintas combinaciones con quimioterapias o inmunoterapias y en segunda línea<sup>195</sup> y aquellos estudios en los que no<sup>217</sup>, incluyendo la cohorte de 78 pacientes con CPCNP, donde se determinaron mejores valores de respuesta en términos de TRO y SLP, independientemente del estado de expresión de PD-L1<sup>197</sup>. Estas discrepancias pueden deberse, en parte, a que pacientes con un TPS de PD-L1 de 0% han respondido de una forma similar a aquellos con TPS mayores, a que ocurren cambios dinámicos en la expresión de PD-L1 a lo largo del tiempo y a que no existe un consenso metodológico sobre el análisis de la expresión de PD-L1, variando cada estudio desde el tipo de muestra analizado (tejido tumoral o muestra sanguínea) hasta el tipo de técnica utilizada para su determinación, la elección de los tipos de anticuerpos anti-PD-L1 y los puntos de corte<sup>218, 219</sup>. Incluso en las muestras tisulares obtenidas de los pacientes para la determinación de la expresión de PD-L1 no se suele tomar en cuenta la heterogeneidad espacial intratumoral, lo que implica que el tejido tumoral analizado puede no ser representativo de todo el microambiente tumoral<sup>218</sup>. Los datos de expresión de PD-L1 reportados en este estudio fueron

determinados a partir de muestras del tejido tumoral por inmunohistoquímica, sin que el valor de expresión de éste fuese un criterio de inclusión o exclusión y siendo sólo probado en el 47.5% de los pacientes, teniendo el 25% de ellos una expresión positiva ( $\geq 1\%$ ). Y si bien ensayos clínicos como el Keynote-010 han demostrado un beneficio de la terapia de segunda línea con Pembrolizumab en términos de TRO, SLP y SG en pacientes con un TPS PD-L1  $\geq 1\%$ <sup>195</sup>, la mayoría de los estudios y ensayos clínicos que demuestran una mejor respuesta a la inmunoterapia en pacientes con CPCNP recaen dentro de un TPS  $\geq 50\%$ , tanto en primera como segunda línea<sup>220</sup>. En este trabajo sólo diez pacientes tuvieron un estado de expresión probado de PD-L1, nueve con TPS  $\geq 1\%$  y sólo uno con TPS PD-L1  $\geq 50\%$ , lo que podría explicar la razón por la cual la subcategoría de estado de expresión positiva de PD-L1 no tuvo algún tipo de influencia sobre los valores de SLP o SG obtenidos por los pacientes, ya que si el número de pacientes con un TPS  $\geq 50\%$  de PD-L1 hubiese sido mayor (al estar probado que este parámetro tiene mayor determinación sobre un TPS  $\geq 1\%$  en los valores de respuesta obtenidos en CPCNP), se habría podido determinar con mayor certeza si existe o no una asociación de este parámetro con la respuesta obtenida. Sin embargo, y de manera coincidente con la cohorte de 78 pacientes, el grupo de la combinación obtuvo mejores valores de respuesta independientemente del estado de PD-L1 (tabla 27)<sup>197</sup>. Cabe destacar que dentro del grupo de Pembrolizumab más Docetaxel los pacientes tuvieron una media de índice tabáquico y exposición a humo de leña mayor que los del grupo de Docetaxel, lo que a priori puede significar una mayor carga mutacional del tumor (o TMB por tumor mutational burden) debido a la cantidad de carcinógenos/agentes mutacionales que ingresan al tracto respiratorio. El TMB refleja la cantidad de neo-antígenos en un tumor, lo que aumenta la gama de posibilidades de reconocimiento de células tumorales por parte de las células del sistema inmune. Una mayor expresión de PD-L1 se asocia con un peor pronóstico en CPCNP (sin tomar en cuenta el uso de alguna inmunoterapia), pero a su vez dicha expresión se asocia a un mayor TMB. En 2020, la FDA aprobó una TMB alta como criterio para el tratamiento con Pembrolizumab en varias neoplasias, incluida el CPCNP (determinada en muestras tisulares o sanguíneas, dado que se ha demostrado que los valores obtenidos en ambas están correlacionadas), ya que los pacientes con CPCNP sometidos a inmunoterapia con mayor TMB han obtenido mejores resultados en parámetros de supervivencia, en comparación con aquellos de menor valor de TMB<sup>218, 220</sup>. Sin embargo, en términos de respuesta al tratamiento, en este estudio (y la cohorte de 78 pacientes) la terapia combinatoria no mostró beneficio en SLP, en comparación con el grupo de Docetaxel o dentro del propio grupo de la combinación, para aquellos pacientes con historial de tabaquismo y expresión de PD-L1 positivos (ni siquiera en SG, independientemente de los valores NR presentados), sólo en aquellos con exposición a humo de leña aunque con índice de éste  $\leq 20$ <sup>197</sup>.

### **Concentraciones obtenidas por biometría hemática (tabla 8) y su asociación con SLP (tablas 18 y 19) y SG (tablas 23 y 24) por toma de muestra sanguínea**

En todas las comparativas posibles de biometría hemática, es decir, aquellas que no presentaron un valor de mediana NR en al menos uno de los dos grupos de tratamiento, el grupo de Pembrolizumab más Docetaxel

tuvo una mayor SLP en meses que el de Docetaxel (tablas 18 y 19) y viceversa en SG (tablas 23 y 24), salvo que en este último parámetro la cantidad de valores NR fue mucho mayor, lo que distorsiona parcialmente las diferencias o similitudes reales que pudiesen existir entre ambos grupos de tratamiento en tal parámetro.

### Plaquetas

Se determinó un aumento significativo en la concentración plaquetaria entre 1T y 2T en el total de pacientes y el grupo de la combinación de tratamiento (tabla 8). Existe evidencia que indica que valores de concentración de plaquetas  $\geq 400 \times 10^9$  plaquetas/L se correlacionan con una peor respuesta en términos de SLP y SG al tratamiento con quimioterapia doble basada en platinos en CPCNP<sup>221</sup>, posiblemente debido a que pueden secretar citocinas proangiogénicas (como VEGF y PDGF), a su participación en la EMT, su capacidad de absorber agentes farmacológicos (como se ha comprobado con Bevacizumab), a que pueden conferir a las células tumorales resistencia a la apoptosis y promover su proliferación y metástasis (siendo auxiliares en la adhesión de éstas células)<sup>222, 221</sup>. Sin embargo, el aumento máximo obtenido en este estudio fue de  $281 \times 10^9$  plaquetas/L en los dos grupos de tratamiento y en ninguna de las dos tomas de muestra sanguínea los valores obtenidos por los pacientes en SLP y SG con trombocitosis (definidos con una concentración de  $\geq 350 \times 10^9$  plaquetas/L) fueron significativamente diferentes entre ambos grupos (tablas 18-19 y 23-24), aunque sí lo fueron entre pacientes con valores normales de plaquetas (SLP 1T-2T y SG 2T) y con trombocitopenia (SLP 1T).

Se ha identificado que las plaquetas promueven la supervivencia tumoral y la angiogénesis en presencia de agentes quimioterapéuticos (y por lo tanto generando una peor respuesta al tratamiento con estos)<sup>221</sup>, lo cual podría explicar el porqué de que el grupo de la combinación tuvo mejores medianas de supervivencia que el de Docetaxel a menor concentración plaquetaria, al contar con un mecanismo como los es el bloqueo del receptor PD-1, para eliminar a las células tumorales mediante las células del sistema inmune, a pesar de también contar con un agente quimioterapéutico en su tratamiento. Por otra parte, la concentración de plaquetas en 1T y 2T se asoció a la concentración de MIP-3 $\alpha$  en el total de pacientes y en el grupo de Pembrolizumab más Docetaxel.

### Neutrófilos

Los neutrófilos también mostraron un aumento significativo a  $4.15 \times 10^9$  células/L en el total de pacientes, mas no en alguno de los dos grupos. En pacientes con CPCNP estadios III y IV tratados con quimioterapia basada en platinos, se ha reportado una peor respuesta en términos de SG en aquellos con una concentración de neutrófilos  $\geq 4.5 \times 10^9$  neutrófilos/L<sup>223</sup>. El grupo de Docetaxel obtuvo un valor de mediana en 2T cercano al reportado en dicho estudio (4.4 neutrófilos/L), pero en SG el aumento sólo fue significativo en el total de pacientes 1T, siendo aquellos con neutropenia ( $< 2.6 \times 10^9$  neutrófilos/L) los que tuvieron la mayor SG en esta condición (32.59 meses). El mismo caso ocurrió para el total de pacientes en SLP 2T (5.71 meses). Esto puede deberse posiblemente a que los neutrófilos son capaces de promover la angiogénesis, el crecimiento tumoral y

metástasis, dependiendo del fenotipo, ya que existen de forma general dos tipos de neutrófilos (mediados por el microambiente tumoral mediante la concentración de citocinas como IFN- $\beta$  e IL-12 para N1 y TGF- $\beta$ , IL-6, G-CSF e IL-35 para N2)<sup>224</sup>: N1 con funciones antitumorales como eliminación de células tumorales por degranulación y/o producción de ROS y NOS, así como el reclutamiento de linfocitos T-CD8<sup>+</sup> en el tumor, y por otro lado los N2 que poseen funciones protumorales, como suprimir la actividad de NK, promover la angiogénesis y extravasación de células tumorales mediante la secreción de VEGF y MMPs o disminuir y aumentar la infiltración tumoral de linfocitos T-CD8<sup>+</sup> y Treg, respectivamente. Esta es la razón por la cual algunos estudios en cáncer en los que no existe determinación fenotípica de este conjunto celular, pueden encontrar asociaciones benéficas o perjudiciales al tratamiento respecto a la abundancia de neutrófilos, aunque siendo en su mayoría de carácter perjudicial cuando se trata de altas concentraciones (por lo cual se puede suponer una mayor abundancia de neutrófilos N2 en estos casos) tanto a nivel local como sistémico, y aún más teniendo en cuenta que son la célula inmunitaria de mayor abundancia en el microambiente del CPCNP<sup>225, 158, 226</sup>.

### Linfocitos

Si bien no existen estudios prospectivos que prueben el efecto de la concentración de linfocitos en sangre en la supervivencia de pacientes con CPCNP tratados con quimioterapia o inmunoterapia, existe un estudio que demuestra que una concentración  $\geq 2.4 \times 10^9$  linfocitos/L después del tratamiento de primera línea con quimioterapia basada en platino y antes de una segunda línea con quimioradioterapia, se asoció con una mayor respuesta en términos de SG a éste último tratamiento. Sin embargo, en este estudio no se obtuvo algún incremento significativo en su concentración, ni ninguna asociación significativa entre SG y estos, principalmente debido a que la categoría “linfocitosis” tuvo valores de mediana NR en ambas tomas. Si se sigue el argumento de que una mayor concentración de linfocitos en sangre puede estar asociado a una mejor respuesta al tratamiento, esto sólo ocurrió de forma particular en SLP por grupo de tratamiento, donde la mediana de supervivencia fue mayor en los pacientes con valores normales que en aquellos con linfopenia, sin embargo el caso contrario ocurrió en SG, ya que en ambas tomas de muestra sanguínea la mediana de supervivencia en el total de pacientes fue ligeramente mayor en aquellos con linfopenia. Por otro lado, puede darse el caso de que se tenga una alta concentración de linfocitos en CPCNP y que estos puedan encontrarse en un estado de anergia (debido a la neutralización o reclutamiento por parte del tumor de las células efectoras y/o por una tolerancia antigénica inducida) o agotamiento (el cual se cree que surge por una estimulación antigénica sostenida), en donde en este último expresan una mayor cantidad de receptores del punto de control inmunitario, pierden progresivamente su capacidad de producir y liberar citocinas como TNF- $\alpha$ , IL-2, IFN- $\gamma$  u otras proteínas citotóxicas, como las granzimas<sup>217, 227</sup>. O bien, que exista un aumento en la concentración de Tregs, las cuales están asociadas negativamente al pronóstico de respuesta a tratamientos en CPCNP, al atenuar la actividad antitumoral de linfocitos T-CD4<sup>+</sup> y CD8<sup>+</sup>, células dendríticas y células NK, promoviendo así el escape inmunológico de las células tumorales<sup>228, 229</sup>.

### Monocitos

La concentración de monocitos tuvo un aumento significativo general entre 1T y 2T, pero este fenómeno ocurrió con mayor magnitud en el grupo de Docetaxel (de  $0.5 \times 10^9$  monocitos/L), lo cual podría explicar la obtención de peores valores de SLP y SG en este grupo en comparación con el de Pembrolizumab más Docetaxel, ya que se ha probado en pacientes con CPCNP estadios IIIB y IV tratados en segunda línea con quimioterapia doble basada en platino más Bevacizumab o sólo con quimioterapia doble, que una concentración  $\geq 0.6 \times 10^9$  monocitos/L se asoció con menores valores de SLP y SG<sup>230</sup>. Lo anterior podría fundamentarse en que existe un consenso en que la concentración de monocitos periféricos tiene una asociación directa con la cantidad de macrófagos asociados al tumor (o TAM por tumor associated macrophages) y estos con un mal pronóstico en CPCNP<sup>231</sup>, ya que los monocitos colonizan el tumor y posteriormente son inducidos, por parte del tumor, a un fenotipo M2 con funciones mayoritariamente protumorales (de forma análoga a los N2)<sup>232</sup>, como el reclutamiento in situ de monocitos (para lograr una mayor densidad de TAMs), MDSC (que además de contar por sí solos con funciones inmunosupresoras y proangiogénicas, pueden diferenciarse en el tumor a TAM) y Tregs. Además, esta citocina inhibe a los linfocitos T-CD8<sup>+</sup>, genera la diferenciación hacia el fenotipo Th<sub>2</sub> de linfocitos T-CD4<sup>+</sup> (asociados con funciones protumorales, incluyendo una mayor infiltración tumoral de macrófagos M2) y promueve la angiogénesis induciendo la secreción de factores proangiogénicos por parte de los TAM)<sup>233, 234, 235</sup>.

### Eosinófilos

Los resultados reportados en pacientes con CPCNP estadios III y IV tratados con Pembrolizumab, Nivolumab y Atezolizumab como agentes únicos<sup>236</sup>, así como Pembrolizumab o Atezolizumab en combinación con quimioterapia en primera y segunda línea<sup>237</sup>, demuestran que concentraciones  $\geq 0.3 \times 10^9$  eosinófilos/L se asociaron con mejores valores de SLP y SG, posiblemente debido a que los eosinófilos son potentes reguladores de las respuestas inflamatorias locales, así como de la reparación y remodelación tisular<sup>239</sup>. También pueden participar positivamente en la citotoxicidad celular, reclutamiento tumoral de linfocitos T, maduración de células dendríticas, polarización de macrófagos y puede modular el equilibrio de las respuestas de linfocitos Th<sub>1</sub> y Th<sub>2</sub> (aunque al igual que la mayoría de estirpes celulares, dichas funciones pueden estar desreguladas a favor del crecimiento tumoral, como se podría esperar en casos de concentración mucho mayores de dichas células)<sup>239</sup>. En este trabajo el mismo fenómeno ocurrió en SG, pero de forma contraria para quienes tuvieron las menores concentraciones de eosinófilos en el total de pacientes y el grupo de la combinación (de hecho, la concentración de eosinófilos disminuyó hacia la 2T en estos dos y fue significativamente menor con respecto al grupo de Docetaxel), sin dejar de tener en cuenta que en este parámetro no se alcanzó un valor para los intervalos de confianza y que todos los valores en el grupo de Docetaxel fueron NR, al igual que todos los valores de eosinofilia en SLP, lo que limita la comprensión del peso de este factor, en términos comparativos, sobre la respuesta al tratamiento.

### Basófilos

La concentración de basófilos únicamente mostró un aumento significativo (observado dentro del rango de mediana, en el valor máximo) en el grupo de Pembrolizumab más Docetaxel hacia la segunda toma, siendo éste un factor difícil de comparar con otros estudios, ya que no existen muchos que hayan probado la influencia del conteo de basófilos periféricos en la respuesta (en términos de supervivencia) a un tratamiento en CPCNP, especialmente en tratamientos farmacológicos. En pacientes estadios III y IV que recibieron una primera línea de quimioterapia doble basada en platinos, seguida de una administración de terapia dirigida que constó de células NK inducidas por citocinas (terapia CIK por cytokine-induced killer cells)<sup>240</sup>, así como en pacientes que se sometieron a resección radical<sup>241</sup>, el conteo de basófilos no tuvo alguna influencia en los valores de SLP y SG obtenidos. En este estudio se demostró que dicho factor sí tuvo asociación significativa con los parámetros de respuesta mencionados, siendo los pacientes con conteos normales de basófilos, en comparación con aquellos que presentaron basofilia, los que tuvieron los mayores valores de SLP y SG, destacándose que el grupo de Docetaxel sólo mostró este fenómeno en SLP 1T, mientras que el grupo de la combinación mostró el beneficio significativo sobre ambos parámetros en los sujetos mencionados en 1T y 2T. El hecho de que aquellos con concentraciones normales de basófilos tuvieran un mayor beneficio pudo haberse debido a que estas células pueden inducir localmente la polarización de macrófagos hacia el fenotipo M2, incluyendo en los pulmones, además de poder ser PD-L1<sup>+</sup> <sup>242</sup>.

### RPL

En pacientes con CPCNP estadios III y IV que recibieron Pembrolizumab o Nivolumab como agentes únicos, una valor de RPL  $\geq 200$  se asoció con una menor media de SLP y SG en respuesta a dichos tratamientos, a diferencia de aquellos con valor de RPL  $\leq 200$ <sup>243</sup>. Dentro de esta comparativa es de destacar que ambos grupos tuvieron una mediana bastante superior a tal valor, especialmente el grupo de Docetaxel y aunque este fenómeno no fue significativo entre los valores de SG obtenidos por los pacientes en ambas tomas de muestra sanguínea, en términos de SLP existieron diferencias significativas entre grupos en los puntos de corte inferior de dicho factor (259.86 en 1T y 286.41 en 2T).

### RNL

Un valor de RNL  $\geq 5$  está asociado a una peor respuesta en SLP y SG al tratamiento con quimioterapia en CPCNP estadios III y IV<sup>244, 245</sup>, así como al tratamiento con Pembrolizumab o Nivolumab como agentes únicos<sup>246</sup>. En este estudio RNL aumentó entre el diagnóstico y la 2T, especialmente en el grupo de Docetaxel que alcanzó una mediana de 4.95, aunque este factor no fue significativo en términos de SG en el total de pacientes, únicamente en SLP para valores menores a 5 en 1T ( $\leq 4$ ) y 2T ( $\leq 4.46$ ) entre grupos de tratamiento.

## Albúmina

La concentración de albúmina sérica también mostró un descenso en ambos grupos en 2T, en especial el grupo de Docetaxel que llegó 3.45 g/dL, ya que se ha probado en pacientes mexicanos con CPCNP en estadios tardíos que aquellos con una concentración  $\leq 3.5$  g/dL de albúmina presentaron peores valores de SG<sup>247</sup>. La asociación de una mayor concentración de albúmina con una respuesta favorable en CPCNP también fue descrita en pacientes estadios III y IV tratados en primera línea con quimioterapia doble basada en platinos (aunque estos posteriormente recibieron terapia CIK)<sup>240</sup>. Lo anterior probablemente se deba a que los niveles bajos de albúmina se asocian con un estado de inflamación sistémica, malnutrición y caquexia, estados que pueden alterar negativamente la respuesta inmunológica antitumoral. Además, la ausencia de albúmina sérica puede provocar la acumulación de fármacos quimioterapéuticos (o sus residuos metabólicos), lo que genera toxicidad en el torrente sanguíneo<sup>248</sup>.

Inicialmente, el grupo de la combinación tuvo significativamente una mayor concentración de albúmina que el de Docetaxel (4.2 Vs. 3.8 g/dL), lo cual puede seguir esta tendencia de un mejor pronóstico a una mayor concentración de albúmina, tanto en pre-tratamiento e incluso después de éste teniendo en cuenta lo obtenido en este trabajo, en donde los pacientes con concentraciones normales de esta proteína tuvieron una mayor SLP y SG (sólo en 1T en este parámetro).

## Antígeno Carcinoembrionario (ACE)

El caso del ACE es similar al de los basófilos en cuanto a la inexistencia de estudios en CPCNP prospectivos sobre tratamientos farmacológicos que determinen su influencia en SLP y SG, con respecto a las concentraciones periféricas tomadas en, al menos, dos momentos diferentes. La mayoría de los estudios sobre la concentración periférica de ACE recaen en pacientes de estadios tempranos pre y postoperatorios, variando en los puntos de cohorte para límites superiores desde 2.5 hasta 9.8 ng/mL<sup>249, 250</sup>. De igual forma, existe un estudio en pacientes mexicanos del Instituto Nacional de Cancerología con CPCNP estadios I a IV que incluyó pacientes estadios tardíos que recibieron quimioterapia doble basada en platinos en primera línea, pero teniendo como criterio de inclusión una concentración ACE  $> 10$  ng/mL<sup>251</sup>. Todos estos estudios coinciden que tanto una concentración por debajo de los límites superiores, así como una reducción en ésta durante o después del tratamiento, se asoció con una mejor respuesta en SLP y SG en cada uno de los diferentes tratamientos (y un menor riesgo a recurrencia en el caso de los casos resecados). Esto puede deberse al hecho de que ACE puede actuar como una molécula de adhesión celular, facilitando de esta forma la invasión y metástasis<sup>252</sup>.

Si bien la variación en los puntos de corte de los estudios mencionados dificulta la comparación con este estudio, las concentraciones de ACE de los pacientes no mostraron diferencias significativas dentro de cada grupo y entre ellos, además de sólo haber tenido influencia en SLP 1T. Sin embargo, dentro de esta condición se obtuvo un resultado significativo coincidente con lo citado en los estudios anteriores y es que los pacientes que tuvieron

menores concentraciones de ACE en el grupo de Docetaxel tuvieron una mejor SLP en comparación con aquellos con concentración elevada, aunque por otro lado, el valor de SLP obtenido por aquellos con concentración elevada en el grupo de Pembrolizumab más Docetaxel superó significativamente al de aquellos con concentración normal en Docetaxel. En la cohorte de 78 pacientes que recibieron los mismos tratamientos y de la cual se derivan los 40 pacientes incluidos en este estudio, también se encontraron diferencias significativas en SLP y SG sobre las concentraciones de ACE, aunque los puntos de cohorte fueron diferentes a los de este estudio ( $< 15$  pg/mL y  $> 15$  pg/mL contra los  $\leq 2$  ng/mL y  $\geq 2.1$  ng/mL utilizados en este estudio), siendo igualmente mayor el beneficio a menores concentraciones de esta proteína<sup>197</sup>.

### **Curvas de concentración de citocinas (figuras 9 a 12)**

Las curvas de concentración obtenidas de las 24 citocinas (figuras 9 a 12) destacan un valor de coeficiente de determinación ( $R^2$ ) mayor a 0.9 ( $R^2 > 0.9$ ) en todos los análisis efectuados (variando únicamente desde  $R^2 = 0.956$  a  $R^2 = 0.999$ ), lo que demuestra una aproximación óptima de los datos a la línea de regresión ajustada. En el caso de las citocinas IL-8 y MCP-1 que se analizaron en ambos kits, se optó por mostrar las curvas de concentración del kit de Chemokines (con  $R^2$  de 0.993 y 0.997, respectivamente), aunque los valores de  $R^2$  obtenidos con el kit de Inflammation no difirieron mucho de estos (0.978 y 0.998, respectivamente).

### **Concentraciones de citocinas (tabla 9), su asociación con las características clínico-patológicas (tablas 10 y 11), las correlaciones existentes entre éstas mismas (tablas 12 a 14) y con las categorías de biometría hemática (tablas 15 y 16) y su asociación con SLP (tablas 20 y 21) y SG (tablas 25 y 26) por toma de muestra sanguínea**

La comparación de los valores de concentración de cada citocina (tabla 9) con aquellos reportados en otros estudios no resulta ser del adecuado de realizar, dado que por lo general cada estudio sobre citocinas difiere en el tipo de muestra analizado (tejido tumoral, cultivo con líneas celulares, sangre periférica, modelo murino, etc.), la técnica de determinación (ELISA directo o indirecto, Western Blot, RT-PCR, etc.) y en su mayoría establecen los puntos de corte para definir un valor bajo, normal y/o alto de concentración en torno a una medida de tendencia central asociada a los valores de concentración obtenidos en su muestra (como se realizó en este trabajo con la mediana), ya que no existe un consenso de los valores “normales” de éstas (que pueden fluctuar un poco dependiendo de la institución o la población, pero que regularmente fluctúan en torno a un valor general), como sí ocurre con los parámetros analizados en la biometría hemática.

Por otro lado, existieron varias citocinas con diferencias significativas entre las concentraciones de 1T y 2T dentro del total de pacientes y cada grupo de tratamiento, pero de forma casi similar al análisis de significación estadística sobre las características clínico-patológicas, casi no existieron diferencias significativas de concentración entre grupos de tratamiento, por lo que podría esperarse que ninguna de estas tuviese un mayor

o menor peso sobre el resto de análisis efectuados con base en estas categorías, hablando estrictamente en términos de concentración entre grupos de tratamiento y a excepción de IP-10 y MIG en 2T.

En todos los casos de concentración de citocinas donde existieron diferencias significativas en SLP (tablas 20 y 21), la mediana en meses fue mayor en el grupo de la combinación que en el grupo de Docetaxel. Los valores menores o iguales que la mediana de las citocinas IFN- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-10 e IL-18 en 1T y 2T, así como TARC, MCP-1, ENA-78, I-TAC e IL-33 en 1T y RANTES, MIP-1 $\alpha$ , MIP-3 $\alpha$ , IL- $\beta$ , IFN- $\gamma$  e IL-23 en 2T, fueron las que presentaron la mayor diferencia de SLP (a excepción de IP-10 que tuvo un valor NR), siendo todas estas mayores a 6 meses y con IL-1 $\beta$  en 2T presentando la mayor de éstas, con 10 meses de diferencia.

En los valores de SG asociados a dichas concentraciones (tablas 25 y 26), a excepción de GRO $\alpha$ , TNF- $\alpha$  e IL-6 en 1T, todas las citocinas presentaron un valor NR, en al menos uno de los dos grupos de tratamiento, en el valor por debajo y por encima de la mediana ( $\leq$  y/o  $\geq$ ) de concentración de citocinas, incluyendo en las cuatro citocinas que obtuvieron un valor significativamente diferente (IL-8, MCP-10, IL-10 en 1T e IP-10 en 2T), lo que dificulta la comparación, explica la ausencia de más casos significativos en comparación con el mismo análisis en SLP y genera controversia sobre si realmente esos cuatro casos significativamente diferentes objetivamente lo son, dada la presencia de tantos valores NR. Por otro lado, a diferencia del análisis de asociación con los valores de SLP, en este análisis todos aquellos valores de mediana de SG que sí pueden ser comparables entre grupos ( $\leq$  Vs.  $\leq$  o  $\geq$  Vs.  $\geq$  sin valor de NR) presentan una mediana de SG mayor en el grupo de Docetaxel como monoterapia, en comparación con el grupo de Pembrolizumab más Docetaxel, aunque las diferencias son mayores por uno a tres meses en general y no mayores a cuatro meses.

Para fines prácticos, los valores del coeficiente de correlación de Pearson (r) obtenidos entre citocinas y categorías de biometría hemática (tablas 15 y 16), así como entre las propias citocinas (tablas 12 a 14), son definidos de la siguiente manera:

r = 1: correlación positiva perfecta. r (0.85 – 0.99): correlación positiva muy fuerte. r (0.75 – 0.84): correlación positiva fuerte. r (0.5 – 0.74): correlación positiva moderada. r (0.3 – 0.49): correlación positiva débil. r (0.1 – 0.29): correlación positiva muy débil. r = 0 correlación nula.

Lo mismo asignación aplica para los valores negativos de r, modificándose el prefijo a “correlación negativa”.

### IL-8 (CXCL8)

Quimiocina producida principalmente por monocitos, con los cuales tuvo una leve correlación positiva débil en 1T mas no en 2T (tablas 15 y 16), macrófagos (especialmente M2 intratumorales en CPCNP)<sup>235</sup> y en menor medida por fibroblastos, células endoteliales, queratinocitos, melanocitos, hepatocitos y condrocitos. Su síntesis es inducida por IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$  e IL-17A<sup>253, 254</sup> e inhibida por IP-10, Eotaxin e IL-18<sup>255, 256, 238</sup>. En este estudio,

IL-8 tuvo correlaciones positivas con: IL-18 de carácter moderado (total de pacientes y grupo de la combinación de tratamiento en 2T), IL-17 de carácter débil (total de pacientes en 1T) y con Eotaxin de carácter moderado en el grupo de la combinación en 2T, contrastando con lo citado al respecto de estas dos últimas citocinas. También se ha comprobado que su expresión se encuentra incrementada en las células epiteliales de vías respiratorias de pacientes fumadores o exfumadores con CPCNP<sup>257, 258</sup> coincidiendo con el hecho de que su concentración en 1T se asoció con el índice tabáquico en el total de pacientes y en el grupo de Docetaxel. Una de sus principales funciones es actuar como un factor quimiotáctico intratumoral de neutrófilos en CP (lo que incluye la inducción de la expresión de moléculas de adhesión en células endoteliales y su participación en la EMT), especialmente de aquellos con un fenotipo N2, aunque con estas células no tuvo correlación en este estudio<sup>259, 255, 258</sup>. Lo anterior, aunado a su asociación probada en CPCNP con la angiogénesis (mediante la inducción de síntesis de VEGF), progresión tumoral, regresión tumoral (en pacientes sometidos a resección) y baja supervivencia, la hacen de una citocina con roles mayoritariamente negativos en enfermedad<sup>260</sup>. Esto guarda sentido en las diferencias significativas que existieron entre grupos de tratamiento en los valores menores o iguales a la mediana de concentración en SLP 2T y SG 1T, teniendo en cuenta que el grupo de la combinación tuvo una mayor mediana de supervivencia que el de Docetaxel en SLP 2T, aunque en SG 1T no puede ser comparado ya que el grupo de Docetaxel tuvo un valor NR. Pero esto también demuestra, en parte, que el tratamiento de Pembrolizumab más Docetaxel otorga mayor beneficio en términos de supervivencia que el de Docetaxel y curiosamente este fue mayor a concentraciones elevadas de esta citocina, por lo que se podría pensar en un efecto sinérgico de ambos fármacos sobre los efectos de IL-8 o bien, que estos pudieron haber promovieron algún mecanismo fisiológico que indujo a un funcionamiento anti-tumoral desconocido de esta citocina, lo cual no sería del todo extraño ya que, a pesar de ser mayoría los estudios que correlacionan negativamente su concentración con la respuesta a inmunoterapia o quimioterapia como monoterapias en pacientes estadios III y IV<sup>261, 158</sup>, también existen aquellos que han probado lo contrario, con correlaciones positivas entre las concentraciones de IL-8 en inmunoterapias (al momento del diagnóstico y 3 meses después del inicio del tratamiento), incluyendo Pembrolizumab en primera y segunda línea<sup>262</sup>.

### IP-10 (CXCL10)

La síntesis de IP-10 puede ser inducida por IFN- $\alpha$ , IFN- $\gamma$  e IL-12<sup>263, 264, 265</sup> en monocitos, fibroblastos, células endoteliales y queratinocitos<sup>266</sup> y puede inhibir la producción de, IL-8, ENA-78, GRO $\alpha$ , GRO $\beta$  y GRO $\gamma$ <sup>255</sup>. Junto con MIG e I-TAC, IP-10 es una de las citocinas que más estudios cuenta a su favor demostrando efectos positivos en pronóstico y respuesta en cáncer, incluyendo el CP, ya que es un factor quimioattractor intratumoral e inductor de supervivencia, proliferación y activación de linfocitos T-CD4<sup>+</sup>, Th<sub>1</sub>, T-CD8<sup>+</sup> y NK (aunque en este estudio no se asoció su concentración con la de linfocitos). También posee capacidad de inhibir la motilidad de células endoteliales y a factores proangiogénicos como EGF. En modelos murinos se ha correlacionado

negativamente con el crecimiento y angiogénesis tumoral<sup>159, 264, 267</sup> y en muestras tumorales de pacientes sometidos a resección, que aquellos con una mayor expresión de IP-10 tuvieron una mayor mediana de SLP<sup>267</sup>. Dentro de todo este contexto es de esperarse, en primer lugar, que esta citocina tuviese un efecto positivo en el total de pacientes, ya que mostró un aumento significativo de concentración hacia la 2T, y en segundo lugar, que tuviese una mayor influencia en el grupo de la combinación en SLP y SG, ya que tuvo significativamente una mayor concentración en 2T de IP-10 que el de Docetaxel, siendo esto observado en el hecho de que existió una diferencia significativa entre los valores SLP y SG por encima (1T y 2T) y por debajo (2T sólo SLP) de la mediana de concentración de IP-10 entre grupos. Pero incluso dentro del propio grupo de Docetaxel, los valores de SLP fueron diferentes entre aquellos con concentraciones por debajo y por encima de la mediana de concentración de IP-10, aunque los valores NR no permiten apreciar en cuál de los dos parámetros la mediana de SLP fue mayor. Las diferencias entre grupos en SLP y SG pueden deberse al hecho de que la concentración de IP-10 en el grupo de la combinación se correlacionó fuertemente a la de MIG (citocina con efectos antitumorales marcados en CPCNP) en 1T y 2T, mientras que el de la monoterapia débilmente a MIG en 2T.

#### Eotaxin (CCL11)

Es un quimioattractor de basófilos, neutrófilos, linfocitos T-CD4<sup>+</sup> Th<sub>2</sub> y eosinófilos<sup>268, 238</sup>, lo que parcialmente concuerda con lo obtenido ya que existió una correlación positiva leve con la concentración de linfocitos (Pembrolizumab más Docetaxel 1T), mientras que con la concentración de eosinófilos (total de pacientes 1T) y con el valor RNL (total de pacientes 1T y 2T, la correlación existió pero de forma negativa. La síntesis de Eotaxin es estimulada en células epiteliales, endoteliales y fibroblastos por IL- $\beta$  y TNF- $\alpha$  e inhibida por IL-10 e IFN- $\gamma$ <sup>268, 238, 239, 269</sup>. Resulta complicado comprender el motivo de la correlación negativa y positiva que tuvo Eotaxin con TNF- $\alpha$  en el total de pacientes 1T y en el grupo de la combinación 2T, respectivamente, siendo sólo ésta última concordante con los antecedentes. También se ha hallado que Eotaxin puede inhibir la producción de IL-8<sup>238</sup>, contrastando con la correlación positiva moderada obtenida entre esta dos en el grupo de la combinación 2T. Participa activamente en la angiogénesis, EMT, supervivencia y crecimiento tumoral (incluyendo en CPCNP)<sup>270</sup>, por lo cual su expresión se asocia a un mal pronóstico en CPCNP<sup>271, 270</sup>. Los pacientes incluidos en el grupo de Pembrolizumab más Docetaxel que tuvieron significativamente una menor concentración de Eotaxin en 1T presentaron una mayor SLP, en comparación con el grupo de Docetaxel. En SLP y SG de 2T ocurrió el mismo fenómeno pero con aquellos que tuvieron mayores concentraciones, por lo que se podría pensar que el tratamiento combinado promovió acciones antitumorales de esta citocina aún desconocidas.

#### TARC (CCL17)

TARC es un quimioattractor de linfocitos y eosinófilos, aunque el análisis de correlación en este estudio sólo mostró una de carácter positivo débil con los eosinófilos en el grupo de Pembrolizumab más Docetaxel (1T),

pero en el grupo de la combinación, la correlación que existió entre la concentración de TARC con los linfocitos fue de carácter negativo. Esta citocina es producida por células dendríticas, células endoteliales, queratinocitos, células epiteliales bronquiales y fibroblastos<sup>272</sup>.

Pocos o nulos estudios han identificado la asociación de TARC con otras citocinas, especialmente en CPCNP. En este trabajo se encontraron correlaciones moderadas de esta citocina con ENA-78 (combinación 1T), TNF- $\alpha$  (Docetaxel 1T), IL-18 (Docetaxel 1T y combinación 2T), GRO $\alpha$  (combinación 2T), I-TAC (combinación 2T), MIG (Docetaxel 2T) y fuertes con ENA-78 (combinación 2T) e I-TAC (Docetaxel 2T).

La concentración de TARC se asocia a un peor pronóstico en CPCNP ya que polariza a los macrófagos hacia un fenotipo M2<sup>273</sup> y recluta en el tumor a linfocitos Treg, Th<sub>2</sub> y Th<sub>17</sub> (conjunto de linfocitos T que han sido comprobados, en la mayoría de estudios al respecto, de promover la progresión tumoral)<sup>274, 275</sup>. Aunque también se han hallado funciones antitumorales de TARC, como el promover la interacción entre las células dendríticas y los linfocitos T-CD8<sup>+</sup> para conducir a su activación<sup>276</sup>, inducir el desarrollo de linfocitos T en el timo, así como el reclutar en el tumor a linfocitos infiltrantes del tumor (o TIL por tumor infiltrating lymphocytes)<sup>277</sup>, que están compuestos mayoritariamente por linfocitos T-CD4<sup>+</sup> y CD8<sup>+</sup> y en menor parte por linfocitos B y células NK<sup>278</sup>.

Sobre los valores de SLP y SG con base en las concentraciones por debajo y por arriba de la mediana de concentración de TARC, aconteció exactamente lo mismo que en el caso de Eotaxin, dando pauta al pensamiento de que el tratamiento combinado promovió acciones antitumorales de esta citocina a través de la inhibición de sus función de reclutamiento de Treg, ya que en dicho grupo de tratamiento se presentó una correlación negativa con la concentración de linfocitos.

### MCP-1 (CCL2)

Producida en fibroblastos, células epiteliales, queratinocitos, macrófagos, linfocitos (con quienes tuvo correlación positiva moderada con el grupo de la combinación en 1T) y MDSC<sup>279, 280, 281</sup>. MCP-1 es una citocina altamente asociada con el reclutamiento de monocitos en el tumor y de su diferenciación hacia macrófagos M2, con la quimioatracción de Treg, así como de la inhibición y modificación de las funciones efectoras de linfocitos T-CD4<sup>+</sup> hacia Th<sub>2</sub><sup>281, 158, 234</sup>. Además, esta citocina promueve la angiogénesis directamente a través de la inducción de VEGF y la quimioatracción de células endoteliales (o indirectamente a través de los factores proangiogénicos secretados por los macrófagos que indujeron hacia el fenotipo M2)<sup>282</sup>. Por otro lado, se ha reportado que esta citocina también puede aumentar la infiltración de TIL y células dendríticas<sup>283, 284</sup>. Su síntesis puede ser inducida por IL-1 $\beta$ , IL-18, TNF- $\alpha$ , IFN- $\alpha$  e IL-6 (y MCP-1 puede inducir la expresión de esta última)<sup>280, 258</sup> e inhibida por IL-12<sup>285</sup>. Con todas las anteriores MCP-1 tuvo correlaciones positivas leves en el total de pacientes y en el grupo de la combinación en 2T (excepto IL-18 en el grupo de la combinación, ya que en este caso la correlación fue moderada, además de tener correlación débil en el grupo de Docetaxel en 1T). Su expresión se ha encontrado ser mayor en adenocarcinoma, que en el resto de tipos histológicos en CPCNP. Siguiendo esta línea, también se ha determinado que los pacientes con CPCNP escamoso han tenido una

correlación positiva entre la concentración de MCP-1 y la supervivencia y viceversa en los pacientes con CPCNP adenocarcinoma, siendo mayor el porcentaje de TAM M2 en este último tipo histológico<sup>284, 285, 286</sup>. Asimismo, se han determinado correlaciones entre MCP-1 y el género e historial de tabaquismo en CPCN<sup>287</sup>.

El papel de MCP-1 en CPCNP resulta controversial al existir estudios que demuestran asociaciones benéficas<sup>287</sup> y/o perjudiciales con la concentración de ésta<sup>158, 234</sup>. Esta ambigüedad sobre el efecto de una mayor o menor concentración de MCP-1 en la respuesta al tratamiento en CPCNP también se presentó en este estudio, ya que en SLP 1T y 2T, los pacientes del grupo de la combinación tuvieron una mejor respuesta a concentraciones menores que el grupo de Docetaxel y viceversa a concentraciones mayores. En SG no es posible la comparación dentro de un mismo grupo, pero al menos entre estos en 1T, la mayor concentración de MCP-1 otorgó significativamente mejores resultados en el grupo de Docetaxel, que en el grupo de la combinación.

### RANTES (CCL5)

Quimiocina producida por fibroblastos, linfocitos T, plaquetas, mastocitos, células dendríticas, eosinófilos, monocitos, células endoteliales y epiteliales tras la estimulación de MIP-1 $\alpha$  e IL-1 $\beta$ <sup>279, 286, 288, 289</sup>. RANTES propicia el reclutamiento de eosinófilos, linfocitos, monocitos, basófilos y células dendríticas<sup>239</sup>. Puede promover la progresión tumoral al reclutar Treg y MDSC<sup>275, 290</sup> y la metástasis al regular positivamente a la metaloproteinasa 9 (MMP9) activa<sup>232</sup>. Además, puede generar resistencia a la quimioterapia en CPCNP cuando es sintetizada por fibroblastos asociados al cáncer (o CAF por Cancer-Associated Fibroblasts). De forma contraria a esto, su expresión se ha relacionado con una respuesta linfocítica activa, aunado a que puede promover la infiltración tumoral de células dendríticas y TIL<sup>232, 291</sup>. Los pacientes con CPCNP en estadios tardíos que tuvieron niveles de concentración bajos de RANTES han presentado mayores valores de supervivencia<sup>235</sup>, mientras que en pacientes con estadio I e histología específicamente de adenocarcinoma, la mayor supervivencia se presentó en aquellos con mayor concentración de dicha citocina<sup>292</sup>.

En este estudio existieron diferencias significativas entre grupos de tratamiento (y no dentro de cada grupo) únicamente en SLP, específicamente en las concentraciones por debajo y por encima de la mediana de concentración de RANTES en 1T. Mientras que en 2T la diferencia entre grupos sólo fue significativa entre grupos en los valores por debajo de la mediana de concentración de RANTES.

### MIP-1 $\alpha$ (CCL3)

MIP-1 $\alpha$  es producida por células epiteliales, plaquetas (con las cuales mostró correlación positiva, fibroblastos, linfocitos T, basófilos, monocitos y macrófagos<sup>293, 283</sup>, mientras que su síntesis es inducida por TNF- $\alpha$ , IL- $\beta$  e IL-6. Por su parte, MIP-1 $\alpha$  también puede estimular la producción de IL-6, así como la de RANTES<sup>286</sup>.

Esta citocina lleva a cabo la quimioatracción de neutrófilos, células dendríticas, células NK, linfocitos T, monocitos y macrófagos, la modulación de las funciones de monocitos, linfocitos T y B e influye en el desarrollo de las células madre hematopoyéticas<sup>266</sup>.

MIP-1 $\alpha$  ha demostrado tener funciones pro y antitumorales. Respecto a sus funciones protumorales, MIP-1 $\alpha$  puede reclutar Treg y CAF, provocar la producción de MCP-1 (citocina con la cual tuvo una correlación positiva leve en el grupo de Docetaxel 2T) y de VEGF para generar metástasis y angiogénesis, respectivamente, además de ser producida por TAM y MSDC para promover el crecimiento tumoral. Mientras que sus funciones antitumorales involucran el reclutamiento de neutrófilos N1, macrófagos M1 y de TIL<sup>273, 283</sup>. En un perfil múltiple de proteínas en muestras de aspiración con aguja fina de pacientes con CPCNP, se identificó una asociación entre la expresión de PD-L1 y MIP-1 $\alpha$ <sup>294</sup>. En este estudio dicha citocina también mostró una asociación con el estado de PD-L1, tanto positivo como negativo, en el total de pacientes y los dos grupos de tratamiento.

Solamente en SLP se obtuvieron diferencias significativas entre grupos de tratamiento, en los valores por encima de la media de concentración de MIP-1 $\alpha$  en 1T y viceversa en 2T, por lo que cual la relación entre esta citocina y la expresión de PD-L1 pudo haber beneficiado a los pacientes que recibieron Pembrolizumab.

#### MIG (CXCL9)

Encargada de la inhibición de EGF y de la migración de células endoteliales<sup>267</sup> y eosinófilos<sup>295</sup>, así como de la quimioatracción de células NK, monocitos, células dendríticas y linfocitos T (así como de su proliferación y diferenciación hacia un fenotipo Th<sub>1</sub>, que promueve la actividad inmunitaria<sup>266, 296</sup>), MIG es mayormente conocida por sus efectos antiangiogénicos y antitumorales<sup>263</sup>, al igual que IP-10 e I-TARC. De hecho, con IP-10 tuvo correlaciones positivas moderadas (total de pacientes 1T y Docetaxel 2T) y fuertes (Pembrolizumab más Docetaxel 1T y 2T), mientras que con I-TARC fueron de carácter leve (total de pacientes 2T) y moderado (Docetaxel 1T y 2T). Su producción es estimulada por IFN- $\gamma$  en monocitos, células endoteliales y fibroblastos<sup>239</sup>. Dados los beneficios presentado de esta citocina, una asociación directa entra una mayor concentración de esta y la respuesta al tratamiento era esperada, aconteciendo esto en SLP entre grupos (1T) y dentro del grupo de Docetaxel (2T). Aunque también existieron diferencias significativas en este parámetro sobre los sujetos que presentaron una concentración por debajo de la mediana de MIG en 2T y se podría esperar una influencia en una mejor respuesta en el grupo de la combinación, ya que las concentraciones de MIG fueron estadísticamente diferentes en 2T entre este y el grupo de Docetaxel, siendo mayores las del primero.

#### ENA-78 (CXCL5)

La concentración de ENA-78 en CPCNP ha sido asociada fuertemente a la angiogénesis, crecimiento tumoral, EMT, metástasis a ganglios linfáticos y una peor SLP y SG<sup>158, 239, 297</sup>. Puede ser secretada por células epiteliales y macrófagos M2 en respuesta al estímulo de IL-1 $\beta$  y TNF- $\alpha$ , mientras que puede ser inhibida por IP-10<sup>239, 255</sup>.

ENA-78 puede quimioatraer a TAN en los pulmones<sup>235</sup>. En este sentido, en 1T fue significativamente diferente entre grupos el valor de SLP de los pacientes con una menor concentración de ENA-78, pero en 2T esto ocurrió tanto para los de menor como mayor concentración de dicha citocina. De acuerdo al análisis bivariado de citocinas con las características clínico-patológicas, ENA-78 se asoció con la expresión de PD-L1 en 1T (total de pacientes), por lo que el tratamiento con Pembrolizumab pudo haber tenido mayores beneficios que el de Docetaxel a través de este fenómeno, lo cual se hace amplifica hacia la segunda toma de muestra sanguínea donde el efecto de la terapia ya es más evidente, al grado de otorgar beneficios clínicos incluso a los pacientes con una alta expresión de esta citocina, en comparación con el grupo de Docetaxel.

### MIP-3 $\alpha$ (CCL20)

Es un quimioatractor de células dendríticas, pero también de linfocitos (con los cuales tuvo correlación positiva moderada y leve en el grupo de Docetaxel 1T y 2T, respectivamente), especialmente de Treg y Th<sub>17</sub><sup>158, 235</sup>. Puede ser producida por células dendríticas, linfocitos Th<sub>17</sub>, células epiteliales pulmonares y macrófagos M2 a través del estímulo de TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  e IL-6<sup>288</sup>. Además, puede inducir la angiogénesis al promover la expresión de VEGF y promover la EMT, proliferación y migración de células tumorales<sup>235</sup>. MIP-3 $\alpha$  está asociada a enfermedades inducidas por humo y material particulado que ingresa por vías respiratorias<sup>298, 299</sup>, lo que concuerda con lo encontrado en este estudio, ya que mostró asociación en 1T con el índice de exposición a humo de leña  $\geq 21$  (total y ambos grupos) y en 2T con el índice tabáquico  $\leq 20$  (total y ambos grupos) y el índice tabáquico en general (Pembrolizumab más Docetaxel).

En muestras tumorales de CPCNP, también se ha demostrado una asociación de esta citocina con Treg y una menor SG. En este mismo estudio se comprobó que Docetaxel disminuía la expresión de MIP-3 $\alpha$ <sup>300</sup>.

Los resultados significativos obtenidos en SLP para MIP-3 $\alpha$  tanto en 1T como en 2T, son similares a los de ENA-78, al tratarse de una citocina de la cual se podría esperar un mejor beneficio clínico sobre la supervivencia, al momento de comparar a ambos grupos de tratamiento, a menores concentraciones plasmáticas de esta citocina, pero la diferencia en el beneficio aconteció para los sujetos con concentraciones por debajo y por arriba de la concentración de MIP-3 $\alpha$ , lo cual pudo deberse también a su asociación con la expresión de PD-L1 (total y ambos grupos en 1T, aunque también estos tuvieron asociación con MIP-3 $\alpha$  en el estado no probado de PD-L1 2T) y no tanto por la presencia de Docetaxel (dado el antecedente mencionado previamente de este fármaco con MIP-3 $\alpha$ ), ya que no existieron diferencias significativas en la concentración de esta citocina entre ambos grupos en ninguna toma de muestra sanguínea.

### GRO $\alpha$ (CXCL1)

Su síntesis es inducida por TNF- $\alpha$  y VEGF (e inhibida por IP-10) en células epiteliales pulmonares y fibroblastos<sup>158, 301, 255</sup>. También puede ser sintetizada por TAM y es capaz de reclutar neutrófilos, monocitos,

células endoteliales y Treg, por lo cual GRO $\alpha$  ha sido involucrada con la angiogénesis, infiltración de neutrófilos, crecimiento tumoral, metástasis y una mediana menor de SLP en CPCNP<sup>302, 158, 267, 301</sup>.

Similar al caso de MIP-3 $\alpha$ , tanto las concentraciones por debajo como por arriba de la mediana de concentración de GRO $\alpha$  fueron significativamente diferentes entre grupos para SLP 1T y 2T, por lo cual podría existir un efecto inhibitorio sinérgico de la combinación de fármacos sobre las funciones protumorales de esta citocina.

### I-TAC (CXCL11)

I-TAC es otra citocina cuyos registros de efectos antiangiogénicos y antitumorales exceden los contrarios a estos. Su síntesis en fibroblastos, monocitos y células endoteliales puede ser estimulada por IFN- $\alpha$ <sup>288</sup>, con quien tuvo correlaciones positivas débiles en el total de pacientes y el grupo de la combinación en 2T. Es un potente quimioattractor de linfocitos T y puede inhibir la diferenciación de macrófagos al fenotipo M2<sup>302, 303</sup>.

El tratamiento con Docetaxel en CPCNP ha probado aumentar los niveles de concentración de I-TAC y a su vez este fenómeno se correlacionó con una mayor infiltración tumoral de linfocitos T-CD8<sup>+</sup><sup>304</sup>. Sin embargo, en este estudio no se detectó algún incremento significativo de su concentración en cualquier de las tomas de muestra sanguínea y tampoco ésta fue diferente entre los grupos de tratamiento. Pero sobre los valores de SLP obtenidos sí fueron significativamente diferentes entre grupos, tanto en los sujetos con concentraciones por debajo de la mediana de concentración de I-TAC como en aquellos con concentraciones por encima de ésta, sin poder dilucidar el mecanismo por el cual la combinación de Pembrolizumab más Docetaxel actuó sobre I-TAC para otorgar tal beneficio sobre los sujetos que recibieron solamente Docetaxel, dado que no existen antecedentes del efecto del tratamiento de Pembrolizumab en esta citocina. Tal vez pudieron haber influido, en las diferencias sobre SLP entre ambos grupos, las asociaciones que tuvo I-TAC con el grupo de Docetaxel en el índice de humo de leña (1T), la edad (2T), RPL (2T, el cual tuvo un valor alto en este grupo) y albúmina (2T, siendo esta asociación de carácter negativo, lo que se ve reflejado en el descenso de la concentración de esta proteína en este grupo, lo cual repercute negativamente en la supervivencia, como se mencionó en el apartado de albúmina dentro de esta discusión).

### MIP-1 $\beta$ (CCL4)

MIP-1 $\beta$  es secretada por linfocitos (T y B), basófilos, MDSC y por células endoteliales y musculares, pudiendo quimioatraer a monocitos, células dendríticas, CAF, neutrófilos y linfocitos (incluyendo células NK)<sup>239, 277, 284</sup>. Mientras que su síntesis puede ser estimulada por IL-18<sup>256</sup>. En este estudio, MIP-1 $\beta$  se correlacionó positivamente y de forma moderada con linfocitos (grupo combinación 1T) y basófilos (grupo Docetaxel 2T), así como con IL-18 de forma débil (total de pacientes en 2T) y moderada (grupo de la combinación en 2T). Posee una fuerte relación con la infiltración de macrófagos M2 en CPCNP<sup>305</sup>, así como con neutrófilos N2 y la secreción de VEGF<sup>277</sup> y se ha asociado a una peor SG en CPCNP de tipo adenocarcinoma, aunque en el mismo estudio

también se asoció a una SLP favorable en CPCNP de tipo escamoso<sup>284</sup>. Por otro lado, se ha demostrado que esta citocina está involucrada en el reclutamiento intratumoral de TIL<sup>283</sup>.

En 1T, el beneficio de la terapia combinatoria sobre la monoterapia sólo fue evidente en SLP a concentraciones por encima de la mediana de concentración de MIP-1 $\beta$ , mientras que 2T, el beneficio fue tanto para los sujetos con concentraciones por arriba como por debajo de la mediana de concentración de dicha citocina, por lo cual también se puede pensar que una vez ocurrida la administración de Pembrolizumab más Docetaxel, ésta pudo haber inhibido las funciones protumorales de MIP-1 $\beta$  y/o magnificar las funciones antitumorales de ésta, como las asociadas a linfocitos como el reclutamiento de TIL.

### IL-1 $\beta$

IL-1 $\beta$  es producida por monocitos y macrófagos, siendo capaz de promover su proliferación y activación. También puede promover la proliferación de neutrófilos, linfocitos T (incluyendo su activación) y linfocitos B, pudiendo provocar la diferenciación de estos últimos hacia células plasmáticas. Su síntesis puede ser inducida por IL-12p70, IL-18, IL-23, IFN- $\alpha$  y TNF- $\alpha$  e inhibida por IL-10 e IFN- $\gamma$ <sup>306, 259, 307, 308, 309</sup>. Por su parte, IL-1 $\beta$  puede inducir la síntesis de Eotaxin, MCP-1, MIP-1 $\alpha$ , RANTES, ENA-78, MIP-3 $\alpha$ , TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-8 e IL-33<sup>238, 310, 311, 312, 280, 286, 279, 239, 288, 256</sup>. Con todas estas citocinas, a excepción de MCP-1, IL-8 e IL-18, IL-1 $\beta$  tuvo correlación en el total de pacientes y el grupo de la combinación, tanto en 1T como en 2T, y todas estas correlaciones fueron de carácter muy fuerte a casi perfecto ( $r = 0.99$ ), mientras que en el grupo de Docetaxel, esta citocina sólo tuvo correlación en 1T con IFN- $\alpha$  (moderada), IFN- $\gamma$  (moderada), TNF- $\alpha$  (fuerte), IL-10 (fuerte) e IL-33 (moderada) y en 2T con IFN- $\alpha$  (débil) e IFN- $\gamma$  (débil). Con MCP-1 las correlaciones positivas débiles existieron en el total de pacientes y el grupo de la combinación en 2T, con IL-8 no tuvo alguna correlación y con IL-18 tuvo correlaciones positivas moderadas en el total de pacientes y en el grupo de la combinación en 2T, así como en este último. La expresión de IL-1 $\beta$  está asociada a tabaquismo (asociación que existió en el grupo de Docetaxel 2T) junto con un CPCNP más agresivo<sup>313</sup>. También se ha comprobado que IL-1 $\beta$  tiene asociaciones positivas con MDSC<sup>314</sup> y linfocitos Th<sub>17</sub><sup>158</sup>, así como una participación en la EMT<sup>313</sup>, su capacidad de aumentar la expresión de moléculas de adhesión de alta afinidad (integrinas y moléculas de adhesión de la familia de supergenes Ig) en las células endoteliales<sup>315</sup>, de inducir la secreción de MMP-1, MMP-3 y MMP-10<sup>316</sup> y de promover la angiogénesis a partir de la inducción de síntesis de VEGF, IL-8, IL-6, TNF- $\alpha$ , HIF-1 $\alpha$  y TGF- $\beta$ <sup>310, 311</sup>. Debido a lo anterior, la concentración de esta citocina está relacionada con peores valores de supervivencia en CPCNP. Aunque también se ha hallado que en pacientes con CPCNP estadios III y IV que recibieron Pembrolizumab o Nivolumab en primera o segunda línea de tratamiento, la alta concentración de IL-1 $\beta$  al inicio del tratamiento, así como el aumento de la concentración de ésta 3 meses después de la primera aplicación del fármaco se asoció con una mayor SG<sup>262</sup>. Debido al anterior, no resulta tan extraño el apreciar la diferencia de beneficio, en términos de SLP, en los valores por debajo (1T) y por arriba (1T y 2T) de la mediana de concentración de IL-1 $\beta$ , a pesar de la cantidad de funciones protumorales de esta citocina, por lo cual podría haber acontecido que

la combinación de fármacos promoviera la inducción de proliferación y activación de leucocitos sobre los cuales esta citocina puede tener efecto, que auxiliaron en la obtención de una mejor respuesta en dicho grupo, en comparación con el grupo de Docetaxel.

### IFN- $\alpha$

Producido por monocitos, macrófagos, fibroblastos y básicamente cualquier tipo celular infectado por virus, IFN- $\alpha$  puede provocar la activación de macrófagos y promover su actividad fagocítica, inhibir el crecimiento celular, alterar el estado de diferenciación celular y la expresión de antígenos en superficie celular, interferir con la expresión de oncogenes, promover la actividad citotóxica de linfocitos T-CD8<sup>+</sup> y NK (al igual que inducir la actividad Th<sub>1</sub> de los linfocitos T-CD4<sup>+</sup>) y la expresión de genes antivirales e inmunomoduladores<sup>317, 318</sup>. También se han reportado efectos citostáticos y citotóxicos directos sobre células tumorales, así como antiangiogénicos y una capacidad de mejorar la resistencia a fármacos a través de la regulación a la baja de los transportadores de ATP, también conocidos como transportadores ABC (por ATP-Binding Casette) que median el flujo del fármaco hacia el espacio extracelular una vez que este ha ingresado a la célula. Igualmente, se ha demostrado que IFN- $\alpha$  induce la síntesis de IP-10, MCP-1, I-TAC e IL-1 $\beta$ <sup>255, 280, 256, 288, 259</sup>. En el caso de MCP-1, IFN- $\alpha$  tuvo correlaciones positivas de carácter débil (total de pacientes 2T) y moderado (grupo de la combinación en 2T) con ésta, mientras que con I-TAC tuvo correlaciones positivas débiles (total de pacientes y grupo de la combinación en 2T y con IL-1 $\beta$  de carácter moderado (grupo de Docetaxel en 1T), fuerte (grupo de Docetaxel en 2T) y muy fuerte (total de pacientes y grupo de la combinación en 2T).

En CPCNP, IFN- $\alpha$  ha demostrado interrumpir la proliferación y diferenciación de la línea celular A549 (células provenientes originalmente del epitelio alveolar basal y de naturaleza escamosa de CPCNP)<sup>319</sup>.

El beneficio en 1T y 2T sobre la SLP fue significativamente diferente entre ambos grupos en las concentraciones por debajo y por encima de la mediana de concentración de esta citocina, siendo mayor en el grupo de Pembrolizumab más Docetaxel, por lo que la combinación de tratamientos pudo haber promovido los efectos antitumorales de IFN- $\alpha$  tanto a baja como alta concentración de ésta. Aunque fue de carácter débil, también pudo haber participado en el beneficio su correlación con I-TAC, ya que esta citocina también favoreció en SLP, a comparación con el grupo de Docetaxel, a los pacientes en dicho grupo que tuvieron una concentración por debajo y por arriba de la mediana de concentración de I-TAC en 1T y 2T.

### IFN- $\gamma$

IFN- $\gamma$  es producida por linfocitos T (especialmente Th<sub>1</sub>) y linfocitos B, células NK y macrófagos. Posee la capacidad de incrementar la expresión de los genes MHC-I y MHC-II y el cambio fenotípico de linfocitos Th<sub>2</sub> a Th<sub>1</sub> (así como inhibir la proliferación de los Th<sub>2</sub>)<sup>259</sup>. También puede promover la activación, crecimiento y diferenciación de linfocitos T y B, macrófagos (y la diferenciación de estos al fenotipo M1<sup>224</sup>), células NK, células

endoteliales y fibroblastos. Asimismo, puede inducir la síntesis de TNF- $\alpha$  e IP-10 e inhibir la producción de IL-1 $\beta$  y Eotaxin, mientras que la síntesis de la propia IFN- $\gamma$  puede ser estimulada por IL-12, IL-18, IL-23 e IL-33 inhibida por IL-10<sup>320, 321, 311, 310, 317, 322, 285, 253, 254, 255, 256, 259</sup>. Todas estas citocinas tuvieron correlación positiva con IFN- $\gamma$  en este estudio. Con TNF- $\alpha$  las correlaciones fueron débiles (grupo de Docetaxel en 1T), moderadas (total de pacientes y grupo de la combinación 1T) y muy fuertes (total de pacientes y grupo de la combinación en 2T), con IL- $\beta$  las correlaciones fueron débiles (grupo de Docetaxel en 2T), moderadas (grupo de Docetaxel en 1T) y muy fuertes (total de pacientes y grupo de la combinación 1T y 2T), con IL-12 fueron moderadas (grupo de Docetaxel en 1T) y muy fuertes (total de pacientes y grupo de la combinación en 1T y 2T), con IL-18 fueron moderadas (total de pacientes y grupo de la combinación en 2T, así como en este último grupo en 1T), con IL-23 fueron todas muy fuertes (total de pacientes y ambos grupos de tratamiento en 1T y 2T) al igual que con IL-33 (total de pacientes y grupo de la combinación en 1T y 2T). Por último, las correlaciones con IL-10 fueron fuertes (grupo de Docetaxel en 1T) y muy fuertes (total de pacientes y grupo de la combinación en 1T y 2T).

Por otro lado, IFN- $\gamma$  puede tener funciones protumorales como promover el desarrollo de linfocitos Treg<sup>323</sup>, la activación y expansión de las células MDSC y regular positivamente la expresión de PD-L1<sup>290</sup>. Sobre esta misma línea de estudio en CPCNP, se ha encontrado que una alta concentración de IFN- $\gamma$  en pacientes que reciben Nivolumab se ha asociado con una mayor SLP y SG, aunque en dicho estudio no se encontró una asociación entre la supervivencia y la expresión de PD-L1<sup>324</sup>. De forma similar, un estudio en CPCNP con pacientes que recibieron Atezolizumab o Docetaxel, mostró una mejor SLP y SG en aquellos que recibieron la inmunoterapia y el beneficio se asoció positivamente a la expresión de PD-L1 y a la expresión del gen de IFN- $\gamma$ , existiendo una asociación entre la expresión de PD-L1 en células inmunitarias infiltrantes y dicho gen, mas no entre la expresión de PD-L1 en células tumorales y el gen de IFN- $\gamma$ . Las asociaciones mencionadas en este estudio no ocurrieron para los pacientes que recibieron Docetaxel<sup>325</sup>. Sorpresivamente, en este estudio IFN- $\gamma$  no tuvo asociación con este ligando.

De acuerdo a las asociaciones existentes de IFN- $\gamma$  y SLP en este estudio, se presentó un fenómeno similar al de IFN- $\alpha$  con el beneficio significativo en el grupo de la combinación de tratamiento tanto en los sujetos con concentraciones pro debajo como por arriba de la mediana de concentración de esta citocina. Podría asumirse que el tratamiento combinado promovió las actividades antitumorales de IFN- $\gamma$ , pero esto sólo podría ser parcialmente cierto, ya que fue el grupo de Docetaxel el que se relacionó con la concentración de linfocitos (de forma positiva moderada), por lo cual el efecto tuvo que haberse inclinado más hacia las citocinas con las cuales IFN- $\gamma$  se correlacionó de forma más cercana a la linealidad perfecta en el grupo de Pembrolizumab más Docetaxel que en el de Docetaxel como monoterapia, como TNF- $\alpha$  e IL-1 $\beta$ , especialmente una vez acontecida la administración del tratamiento (2T). Es de destacar que en este grupo la correlación positiva casi perfecta de IFN- $\gamma$  con IL-10 fue inesperada, al ser ésta inhibidora de la primera, por lo cual también podría haber existido un mecanismo aún desconocido entre estas dos, el cual fue promovido por la combinación de ambos fármacos.

## TNF- $\alpha$

La expresión de TNF- $\alpha$  es inducida por IL-1 $\beta$  (y viceversa), IL-10, IL-23, IFN- $\gamma$  y TNF- $\alpha$ <sup>306, 326, 307, 320</sup> y puede ser inhibida por IL-12<sup>285, 308</sup>. Además, TNF- $\alpha$  induce la síntesis de IL-1 $\beta$ , IL-6, Eotaxin, MCP-1, MIP-1 $\alpha$ , ENA-78, MIP-3 $\alpha$ , GRO $\alpha$ , MIP-1 $\beta$ <sup>238, 310, 327, 280, 286, 239, 288, 301, 256</sup>. En este estudio TNF- $\alpha$  tuvo correlaciones positivas con: IL-1 $\beta$ , en este estudio tuvieron correlación positiva moderada (total de pacientes y grupo de la combinación 1T), fuerte (grupo de Docetaxel 1T) y muy fuerte (total de pacientes y grupo de la combinación 2T), IL-6 de forma moderada (total de pacientes y grupo de la combinación en 1T), fuerte (total de pacientes en 2T) y muy fuerte (grupo de la combinación en 2T), IL-10 de forma moderadas (total de pacientes, grupo de la combinación y de Docetaxel 1T, así como en este último grupo en 2T), y muy fuertes (total de pacientes y grupo de la combinación 2T), IL-23 de forma moderada (total de pacientes y grupo de la combinación en 1T), fuerte (total de pacientes en 2T) y muy fuerte (grupo de la combinación en 2T), con IL-18 de forma débil (total de pacientes en 2T) y moderada (grupo de la combinación en 1T y 2T), IFN- $\gamma$  de forma débil (grupo de Docetaxel en 1T), moderadas (total de pacientes y grupo de la combinación en 1T) y muy fuertes (total de pacientes y grupo de la combinación en 2T), con Eotaxin tuvo una correlación negativa débil (total de pacientes en 1T) y una positiva débil (grupo de la combinación en 2T), MCP-1 de forma débil (total de pacientes y grupo de la combinación en 2T), MIP-1 $\beta$  de forma débil (total de pacientes en 2T) y moderada (grupo de la combinación en 2T). Por último, con IL-12 se correlacionó de forma positiva moderada (total de pacientes y grupo de la combinación en 1T) y muy fuerte (total de pacientes y grupo de la combinación en 2T).

Es producida por linfocitos T, monocitos (con los cuales tuvo una correlación débil en el total de pacientes y el grupo de la combinación en 1T), macrófagos, mastocitos, células epiteliales alveolares y bronquiales<sup>328</sup>. Posee la capacidad de activar y reclutar neutrófilos (con los cuales tuvo correlación positiva débil en el total de pacientes y el grupo de Docetaxel en 1T), macrófagos y linfocitos<sup>329</sup>. También es de resaltar que se ha descrito una asociación negativa entre la expresión de TNF- $\alpha$  y la señalización de EGFR (la cual se ve incrementada cuando este receptor sufre mutaciones)<sup>330</sup>, coincidiendo con lo detectado en este estudio, donde el total de pacientes y ambos grupos de tratamiento se asociaron en 2T con la ausencia de mutaciones en EGFR ("mutaciones negativas de EGFR").

Estudios in vitro han demostrado efectos antiproliferativos<sup>329, 331</sup> y antiangiogénicos de TNF- $\alpha$  en CPCNP<sup>332</sup> y también se ha obtenido una correlación positiva entre su concentración y un pronóstico favorable en esta enfermedad, incluyendo pacientes estadios III y IV que recibieron Pembrolizumab o Nivolumab en segunda línea<sup>262</sup>, así como en pacientes que recibieron quimioterapia doble basada en platinos en primera línea<sup>333</sup> o que fueron sometidos a cirugía<sup>334</sup>. TNF- $\alpha$  influye directa e indirectamente en la apoptosis celular, la producción de IL-6, la expresión de MHC-I, MHC-II y moléculas de adhesión celular<sup>329</sup>. De igual forma, se han reportado efectos protumorales de TNF- $\alpha$ , como lo es la inhibición de apoptosis y el promover la proliferación y diferenciación de las células tumorales, así como la expansión y activación de MDSC, participando también en la EMT y metástasis<sup>335, 336, 290</sup>.

Los pacientes con concentraciones por debajo y por encima de la mediana de concentración de TNF- $\alpha$  tuvieron un beneficio significativo mayor, en términos de SLP, que el grupo de Docetaxel. Por lo cual la combinación del tratamiento pudo haber promovido los efectos protumorales y/o inhibido los antitumorales de esta citocina, tanto en bajas como en altas concentraciones de esta citocina.

### IL-6

IL-6 es derivada de linfocitos T y B, monocitos, macrófagos, eosinófilos, fibroblastos, queratinocitos y células endoteliales, mesengiales y gliales<sup>337</sup>, a través de la inducción de síntesis ejercida por IL- $\beta$ , IL-17A, TNF- $\alpha$ , MIP-1 $\alpha$  y MCP-1 (y viceversa con estas dos últimas) e inhibida por IL-10 (aunque IL-6 puede inducir la síntesis de IL-10 en linfocitos T en cooperación con TGF- $\beta$ ), IL-12 e IL-17<sup>327, 158, 286, 280, 338</sup>. Además de MIP-1 $\alpha$ , MCP-1 e IL-10, IL-6 también es capaz de inducir la síntesis de MIP-3 $\alpha$ <sup>288, 285</sup>. En este estudio, IL-6 se correlacionó positivamente con: TNF- $\alpha$  de forma moderada (total de pacientes y grupo de la combinación en 1T), fuerte (total de pacientes en 2T) y muy fuerte (grupo de la combinación en 2T), IL-1 $\beta$  de forma muy fuerte (total de pacientes y grupo de la combinación en 1T y 2T), IL-17A de forma moderada (total de pacientes y grupo de la combinación en 1T) y muy fuerte (total de pacientes y grupo de la combinación en 2T), con MCP-1 de forma positiva débil (total de pacientes y grupo de la combinación en 2T), con IL-10 de forma positiva muy fuerte (total de pacientes y grupo de la combinación en 1T y 2T) e IL-12 de forma muy fuerte (total de pacientes y grupo de la combinación en 1T y 2T).

Está involucrada en la estimulación de células progenitoras en la médula ósea, producción de anticuerpos y la proliferación de linfocitos T, maduración y activación de neutrófilos, diferenciación de células NK y linfocitos T-CD8<sup>+</sup> y macrófagos hacia el fenotipo M1 y en la producción de plaquetas<sup>339, 328</sup>. Asimismo, participa en la proliferación y supervivencia celular, así como en la mejora de las señales apoptóticas<sup>340</sup>.

En CPCNP, IL-6 es una citocina cuya expresión se ha asociado a una peor SG, a una proliferación celular y metástasis acelerada, a tabaquismo y a la existencia de mutaciones de EGFR. Con estos dos últimos factores IL-6 tuvo una asociación en este estudio, específicamente con el índice tabáquico  $\leq 20$  en el total de pacientes y ambos grupos de tratamiento en 1T, el índice tabáquico en general para el grupo de Docetaxel en 2T y con las mutaciones de EGFR en el total de pacientes y el grupo de Docetaxel en 2T<sup>337, 299, 341</sup>. Además, se ha demostrado su asociación con la polarización y frecuencia de linfocitos Th<sub>17</sub> y su papel proangiogénico a través de la regulación de la angiopoyetina-2 (Ang-2)<sup>342</sup>. Aunado a lo anterior, IL-6 también tiene participación en la EMT (incluyendo su secreción por parte de CAF), en la resistencia a quimioterapia e inmunoterapias<sup>343, 344, 345</sup>, en la activación y expansión de MDSC<sup>290</sup>, en la supresión de genes implicados en la apoptosis y en el hecho de que esta citocina puede actuar propiamente como un factor de crecimiento<sup>345</sup>. En pacientes con CPCNP estadios III y IV tratados con quimioterapia doble basada en platinos se encontró que aquellos que tuvieron enfermedad estable presentaron una disminución en la concentración de IL-6<sup>333</sup>, lo cual igualmente aconteció en este estudio tanto en el total de pacientes como en ambos grupos de tratamiento. Por otro lado, en modelos

celulares de CPCNP esta citocina ha demostrado actuar como un inhibidor del crecimiento<sup>334</sup> y en pacientes tratados con Pembrolizumab o Nivolumab en primera o segunda línea, el aumento de su concentración se asoció con una SG prolongada<sup>262</sup>.

Tanto en 1T como en 2T, los pacientes en el grupo de Pembrolizumab más Docetaxel tuvieron un beneficio significativamente mayor en SLP, en comparación con el grupo de Docetaxel, en las concentraciones por debajo y por arriba de la mediana de concentración de IL-6, por lo que la combinación de tratamientos probablemente potenció las funciones antitumorales y mermó las protumorales de esta citocina, pudiendo haber influido en esto su asociación con IL- $\beta$ , IL-17A, MCP-1 e incluso IL-10, ya que en este grupo tales correlaciones existieron o fueron más fuertes que en el grupo de Docetaxel. También pudo haber influido la asociación del grupo de la monoterapia con Docetaxel con el índice tabáquico, estando el tabaquismo asociado a un estado de inflamación crónica en vías respiratorias, hecho que no sucedió en el grupo de la combinación de tratamiento.

### IL-10

IL-10 es una citocina ampliamente conocida como de carácter anti-inflamatorio e inmunosupresor<sup>346</sup>.

Es producida por linfocitos T (incluyendo T-CD8<sup>+</sup>, Treg y todos los conjuntos Th de los T-CD4<sup>+</sup>), linfocitos B, células NK, monocitos, macrófagos (incluyendo M2), células dendríticas, neutrófilos, mastocitos y células epiteliales bronquiales<sup>259, 158, 338, 347</sup>. Su síntesis puede ser estimulada por IL-6 e IL-23<sup>338, 348</sup> y puede ser inhibida por IL-4, IL-12, IL-13 e IL-18 (así como por su propia autorregulación), siendo a la vez inhibitoria de GM-CSF, G-CSF, Eotaxin, TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-6, IL-8 e IL-12, las cuales en general poseen funciones proinflamatorias<sup>328, 259, 285, 338, 256, 268, 158</sup>. En este estudio, IL-10 tuvo correlaciones positivas con varias de estas citocinas, a pesar de las asociaciones negativas que dictan los antecedentes entre IL-10 con éstas. Con IL-1 $\beta$  las correlaciones fueron fuertes (grupo de Docetaxel en 1T) y muy fuertes (total de pacientes y grupo de la combinación en 1T y 2T), con IL-6 muy fuertes (total de pacientes y grupo de la combinación en 1T y 2T), con IL-12p70 moderada (grupo de Docetaxel 1T) y muy fuertes (total de pacientes y grupo de la combinación en 1T y 2T), con IL-12 moderada (grupo de Docetaxel en 1T) y muy fuertes (total de pacientes y grupo de la combinación en 1T y 2T), con IL-18 moderadas (total de pacientes y grupo de la combinación 2T, así como en este último grupo en 1T), con TNF- $\alpha$  moderadas (total de pacientes, grupo de la combinación y grupo de Docetaxel en 1T, así como en éste último grupo en 2T) y muy fuertes (total de pacientes y grupo de la combinación en 2T), con IL-23 de forma moderada (grupo de Docetaxel en 1T), fuerte (total de pacientes en 1T) y muy fuerte (total de pacientes y grupo de la combinación en 2T) y con IFN- $\gamma$  de forma fuerte (grupo de Docetaxel en 1T) y muy fuerte (total de pacientes y grupo de la combinación en 1T y 2T).

IL-10 puede promover la proliferación, diferenciación y secreción de anticuerpos en linfocitos B, suprimir la actividad de linfocitos T, monocitos y macrófagos (interrumpiendo así la lisis de células tumorales, incluyendo las del cáncer de pulmón)<sup>349, 346</sup>. También puede promover la proliferación mastocitos, actuar como coestimulador de crecimiento y factor diferenciador de timocitos inmaduro a linfocitos T-CD8<sup>+</sup> e inhibir la

proliferación de linfocitos Th<sub>1</sub>, mas no de Th<sub>2</sub><sup>259</sup>. Además, IL-10 puede regular negativamente la expresión general de MHC-I y la expresión de MHC-II en macrófagos, inhibe la maduración de células dendríticas derivadas de monocitos, regula la generación de Treg, promueve la inactivación o apoptosis de linfocitos T y la supervivencia de células tumorales de CPCNP<sup>158, 338, 289</sup>. Por otro lado, IL-10 está involucrada en la represión de los linfocitos Th<sub>17</sub>, en la disminución de la expresión de moléculas de adhesión celular<sup>158, 338</sup>.

En pacientes con CPCNP de estadios tempranos, la expresión de IL-10 se asoció a un mejor pronóstico<sup>350</sup>, mientras que lo contrario ocurrió en aquellos con estadios tardíos<sup>289</sup>.

En este estudio, el beneficio clínico en SLP 1T y 2T fue significativamente mayor en el grupo de la combinación de tratamiento con concentraciones de IL-10 por debajo y por arriba de la mediana de concentración de dicha citocina, por lo que la administración de Pembrolizumab más Docetaxel pudo haber promovido hacia un estado de mayor equilibrio las funciones anti-inflamatorias e inmunosupresoras de esta citocina. En SG el beneficio sólo fue significativamente mayor en el grupo de la combinación, en comparación con el grupo de la monoterapia, en los pacientes con concentraciones por debajo de la mediana de concentración de IL-10 en 1T, lo que guarda sentido con los antecedentes de esta citocina, siendo los sujetos en el estudio pacientes estadios tardíos, pero también demostrando que en este parámetro la combinación de tratamiento no logra superponer el beneficio clínico al desequilibrio inmunosupresor y antiinflamatorio que altas concentraciones de IL-10 pueden ocasionar en CPCNP.

### IL-12p70

IL-12 es una citocina heterodimérica compuesta por las subunidades p35 y p40. Puede ser producida por monocitos, macrófagos, células dendríticas, linfocitos B y linfocitos Th<sub>1</sub><sup>259, 351, 265, 334, 352</sup>.

Su síntesis puede ser estimulada por IL-18<sup>259</sup> y puede inhibir la producción de VEGF, FGF-β, TGF-β1, IL-6, IL-10 y MCP-1, así como promover la síntesis de IP-10, IL-1β, IL-15, IL-18 e IFN-γ (ésta última en células NK y linfocitos T periféricos, además de ser a su vez una inductora de la síntesis de IL-12)<sup>351, 334, 287, 306, 348, 259, 353, 255</sup>.

IL-12p70 tuvo correlaciones positivas en este estudio con MCP-1 de carácter moderado (total de pacientes y grupo de la combinación en 2T), con IL-1β de carácter muy fuerte (total de pacientes y grupo de la combinación en 1T y 2T), con IL-6 de carácter moderado (grupo de Docetaxel en 1T) y muy fuerte (total de pacientes y grupo de la combinación en 1T y 2T), con IL-10 de carácter muy fuerte (total de pacientes y grupo de la combinación en 1T y 2T), con IL-18 de carácter moderado (total de pacientes y grupo de la combinación en 2T, así como en este último grupo en 1T), con IL-23 de carácter moderado (grupo de Docetaxel en 2T), fuerte (total de pacientes en 1T) y muy fuerte (total de pacientes y grupo de la combinación en 2T, así como en este último grupo en 1T), con TNF-α de carácter moderado (total de pacientes y grupo de la combinación en 1T) y muy fuerte (total de pacientes y grupo de la combinación en 2T) y con IFN-γ de carácter moderado (grupo de Docetaxel en 1T y 2T) y muy fuerte (total de pacientes y grupo de la combinación en 1T y 2T).

Es un potente activador de células NK, estimula el crecimiento de éstas y de linfocitos T, participa en la selección del isotipo de anticuerpos, inhibe la proliferación de Treg, regula positiva y negativamente la expresión de MHC-I y PD-1 en células tumorales y linfocitos T-CD8<sup>+</sup>, facilitando de esta manera el reconocimiento de antígenos y la lisis tumoral, respectivamente<sup>259, 353, 348</sup>. Puede promover las actividades efectoras de linfocitos Th<sub>1</sub> (y la polarización de estos hacia dicho fenotipo), T-CD8<sup>+</sup> (actuando además como un factor antiapoptótico de estos) y macrófagos alveolares, además de que está involucrada en el deterioro de la vascularización tumoral. Se ha demostrado que IL-12 puede inhibir directamente el crecimiento del adenocarcinoma de CPCNP<sup>334, 352</sup>. En pacientes afroamericanos e italianos con CPCNP, la concentración de IL-12 se ha asociado con peores y mejores valores de supervivencia, respectivamente<sup>334</sup>. Por otro lado, la quimioterapia con platinos en pacientes estadios tardíos reduce significativamente la concentración de IL-12 y esto se ha asociado con una mejor respuesta al tratamiento, coincidiendo con lo obtenido en este estudio en el total de pacientes y el grupo de Docetaxel<sup>282, 334</sup>, sin embargo en este estudio el beneficio clínico sobre SLP fue significativamente mayor en el grupo de Pembrolizumab más Docetaxel en ambas tomas de muestra sanguínea (grupo donde no hubo una reducción significativa de la concentración de dicha citocina entre 1T y 2T), que en el grupo de Docetaxel, para los pacientes con concentraciones por debajo y por arriba de la mediana de concentración de IL-12p70, posiblemente mediante la potenciación de los roles antitumorales descritos de esta citocina.

### IL-17A

IL-17A es el miembro prototípico de IL-17 de los 6 miembros conocidos de esta familia (IL-17A – IL-17F). Es producida principalmente por linfocitos Th<sub>17</sub>, aunque también por monocitos, macrófagos, linfocitos T-CD8<sup>+</sup>, neutrófilos, células NK, eosinófilos fibroblastos, células epiteliales y endoteliales<sup>354, 259, 357</sup>. Su síntesis es inducida IL-23<sup>274</sup>, mientras que IL-17A puede inducir la síntesis de la prostaglandina E2 (PGE2), de GM-CSF, G-CSF, ENA-78, MIP-3 $\alpha$ , GRO $\alpha$ , IL-6, IL-8 e IL-18<sup>328, 259, 253, 254, 355, 274</sup>. En este estudio, IL-17 tuvo correlaciones positivas con IL-1 $\beta$  de carácter débil (total de pacientes en 1T), con IL-6 de carácter moderado (total de pacientes y grupo de la combinación en 1T) y muy fuerte (total de pacientes y grupo de la combinación en 2T), con IL-8 de carácter débil (total de pacientes en 1T), con IL-18 de carácter moderado (total de pacientes y grupo de la combinación en 2T, así como en este último grupo en 1T) y con IL-23 de carácter moderado (total de pacientes y grupo de la combinación en 1T) y muy fuerte (total de pacientes y grupo de la combinación en 2T).

IL-17 aumenta la expresión de ICAM-1 en fibroblastos y células endoteliales y epiteliales, mantiene la proliferación de precursores hematopoyéticos y estimula la diferenciación de estos a neutrófilos<sup>259</sup>. Por otro lado, puede promover el reclutamiento de células dendríticas y linfocitos T-CD8<sup>+</sup><sup>357</sup>.

En CPCNP, está involucrada en el reclutamiento de neutrófilos, MDSC y macrófagos M2, en la inhibición de la apoptosis de células tumorales, en la EMT, crecimiento tumoral, migración e invasión de células tumorales, en la angiogénesis, neoangiogénesis y linfangiogénesis mediante la inducción de la síntesis de VEGF, FGF, HGF, MMP-2 y MMP-9, en la proliferación y maduración de vasos sanguíneos y migración de células endoteliales<sup>254</sup>.

<sup>314</sup>, por lo que su expresión en esta enfermedad está asociada a un mal pronóstico y a una peor SLP y SG<sup>314, 354, 355, 356, 357</sup>.

Los pacientes que tuvieron concentraciones por debajo y por arriba de la mediana de concentración de IL-17A en el grupo de Pembrolizumab más Docetaxel tuvieron un beneficio significativamente mayor que el grupo de Docetaxel en SLP 1T y 2T. La combinación de tratamientos pudo haber regulado a la baja las acciones protumorales de esta citocina y regulado a la alza las funciones antitumorales (como el reclutamiento de células dendríticas y linfocitos T-CD8<sup>+</sup>). De hecho, la suposición de una promoción de las funciones antitumorales de IL-17A por la combinación de tratamiento, en comparación con Docetaxel como monoterapia, adquiere mayor peso teniendo en cuenta que el grupo de Docetaxel mostró una disminución significativa de la concentración de IL-17A entre la 1T y 2T, mientras que en el grupo de la combinación esto no ocurrió. También pudo haber tenido influencia en este beneficio la correlación de IL-17A con IL-10 e IL-23, las cuales también mostraron mayor beneficio clínico en SLP en dicho grupo para los pacientes con concentraciones por debajo y por arriba de las medianas de concentración de cada una de éstas.

### IL-18

IL-18 es una citocina perteneciente a la familia de IL-1 que es producida por macrófagos, células dendríticas, queratinocitos, células de Kupffer, osteoblastos, células epiteliales intestinales y células pulmonares<sup>259, 358, 308</sup>.

Su síntesis puede ser estimulada por IL-12 e IL-17<sup>285, 356</sup>, mientras que IL-18 puede inducir la síntesis de MCP-1, MIP-1 $\beta$ , IL-1 $\beta$ , IL-8, IL-12 (y ésta la de IL-18), IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$  y GM-CSF e inhibir la de IL-4 e IL-10<sup>256, 259, 308, 359, 360, 361</sup>. En este estudio, IL-18 tuvo correlaciones positivas con: MCP-1 de forma débil (total de pacientes en 2T) y moderada (grupo de la combinación en 2T), MIP-1 $\beta$  de forma débil (total de pacientes en 2T) y moderada (grupo de la combinación en 2T), IL-8 de forma moderada (total de pacientes y grupo de la combinación en 1T), con IL-1 $\beta$ , IL-10, IL-12, IL-17A e IFN- $\gamma$  de forma moderada (total de pacientes y grupo de la combinación en 1T, así como en este último grupo en 2T), TNF- $\alpha$  de forma débil (total de pacientes en 2T) y moderada (grupo de la combinación en 1T y 2T).

IL-18 activa a las células NK y linfocitos T-CD8<sup>+</sup>, aumenta la expresión del ligando de Fas, induce apoptosis de células tumorales, inhibe la angiogénesis al estimular la producción de IFN- $\gamma$ , promueve la proliferación de linfocitos T-CD8<sup>+</sup> y T-CD4<sup>+</sup>, así como la polarización de estos últimos hacia Th<sub>1</sub> en cooperación con IL-12<sup>308, 259, 362</sup>. No obstante, la concentración de IL-18 ha mostrado asociarse de forma negativa con la SG en CPCNP. Algunas de sus funciones protumorales incluyen la polarización de los linfocitos T-CD4<sup>+</sup> a Th<sub>2</sub> o a Th<sub>17</sub>, en ausencia y presencia de IL-12 e IL-23, respectivamente y el promover la metástasis ósea<sup>358</sup>. Se ha demostrado que IL-18 posee la capacidad de inhibir el reconocimiento de células tumorales y aumenta la adherencia de estas a la pared microvascular, principalmente a través de la regulación a la alza de ICAM<sup>363, 308, 322</sup>.

Sólo los pacientes con concentraciones por debajo de la mediana de concentración en el grupo de Pembrolizumab más Docetaxel tuvieron una mayor beneficio en SLP que el grupo de Docetaxel en este estudio.

La combinación de tratamiento pudo haber controlado los efectos protumorales de esta citocina a bajas concentraciones plasmáticas, a pesar de que el grupo de Pembrolizumab más Docetaxel fue el único en presentar un aumento significativo en la concentración de IL-18 entre 1T y 2T. Dicho beneficio también pudo deberse a la asociación de esta citocina con la expresión de PD-L1 en el grupo Pembrolizumab más Docetaxel en 1T (aunque también existió asociación entre la concentración de IL-18 y el estado de expresión negativo de PD-L1 en el total de pacientes y ambos grupos de tratamiento en 1T y 2T).

### IL-23

IL-23 es parte de la familia de IL-6 / IL-12 y comparte la subunidad p40 con IL-12 (además de poseer la subunidad p19). Puede ser producida por células dendríticas, neutrófilos, monocitos y macrófagos<sup>364, 348</sup>. IL-23 es capaz de estimular la presentación de antígenos en células dendríticas y de inducir la síntesis de VEGF, TGF- $\beta$ , IL-1 $\beta$ , IL-10, IL-17A, TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$  y GM-CSF<sup>307, 322, 348, 365, 274</sup>. En este estudio existieron correlaciones positivas entre IL-23 e IL-1 $\beta$  de carácter débil (grupo de Docetaxel en 2T), fuerte (total de pacientes en 1T) y muy fuerte (total de pacientes y grupo de la combinación en 2T), IL-10 de carácter moderado (grupo de Docetaxel en 1T), fuerte (total de pacientes en 1T) y muy fuerte (total de pacientes y grupo de la combinación en 2T), IL-17A de carácter débil (total de pacientes en 1T), moderado (grupo de la combinación en 1T) y muy fuerte (total de pacientes y grupo de la combinación en 2T), TNF- $\alpha$  de carácter muy fuerte (total de pacientes y ambos grupos de tratamiento en 1T y 2T) e IFN- $\gamma$  de carácter muy fuerte (total de pacientes y ambos grupos de tratamiento en 1T y 2T).

IL-23 promueve la expansión y maduración de linfocitos Th<sub>17</sub><sup>158</sup>, la maduración y acción de Treg (aunque también puede regular negativamente su diferenciación), provoca una menor infiltración de linfocitos T-CD8<sup>+</sup> al tumor, promover la angiogénesis y neoangiogénesis, antagonizar los efectos de IL-12, regular positivamente de MMP-9, promover la formación de CAF, reclutar al tumor neutrófilos, macrófagos M2 y MDSC y permitir la supervivencia y proliferación de células tumorales de CPCNP. Su concentración está positivamente asociada a un peor pronóstico en esta enfermedad (aunque se ha obtenido que incrementos muy altos de concentración de IL-23 inhiben el crecimiento tumoral)<sup>364, 348, 366, 367, 274</sup>.

Los pacientes con una concentración por abajo y por arriba de la mediana de concentración de IL-23 obtuvieron significativamente un mayor beneficio en SLP en el grupo de Pembrolizumab más Docetaxel, que en el grupo de Docetaxel. En el total de pacientes y ambos grupos de tratamiento, la concentración de IL-23 disminuyó significativamente, por lo cual en este sentido no existe coincidencia con el antecedente que demostró una inhibición del crecimiento tumoral a niveles altos de esta citocina. Por lo cual, esta diferencia en el beneficio sobre SLP pudo deberse a que el grupo de Docetaxel e IL-23 se correlacionaron moderadamente con la concentración de linfocitos y dentro del contexto funcional de esta citocina, este conjunto celular pudo haberse compuesto de linfocitos Th<sub>17</sub> y Treg. Por otra parte, las correlaciones de IL-23 con TNF- $\alpha$  e IL-10 también pudieron haber participado en dicho beneficio, al ser más fuertes en este grupo que en el de Docetaxel y

encontrarse en la misma situación de beneficio en pacientes con concentraciones por debajo y por encima de la concentración de cada una.

### IL-33

IL-33 es una citocina (también puede actuar como un DAMP y como factor de transcripción) de la familia de IL-1, producida en fibroblastos, células dendríticas, células epiteliales, células endoteliales, adipocitos, células del músculo liso y macrófagos<sup>288, 368, 369</sup>. Su síntesis puede ser inducida por IL-1 $\beta$ <sup>312</sup>, mientras que IL-33 puede inducir la síntesis de IFN- $\gamma$ <sup>321</sup>. IL-33 tuvo correlaciones positivas con IL-1 $\beta$  de carácter moderado (grupo de Docetaxel en 1T) y muy fuerte (total de pacientes y grupo de la combinación en 1T y 2T) y con IFN- $\gamma$  de carácter muy fuerte (total de pacientes y grupo de la combinación en 1T y 2T).

Esta citocina favorece las funciones efectoras de linfocitos Th<sub>1</sub>, T-CD8<sup>+</sup>, células dendríticas y NK (además de promover el reclutamiento de estas tres últimas y de eosinófilos), puede estar involucrada en la inhibición de la metástasis y la concentración de IL-33 se ha asociado inversamente con la progresión tumoral y una peor SG en NSCLC<sup>321, 312</sup> (aunque también existe evidencia de lo contrario en pacientes con CPCNP estadios tempranos<sup>369, 370, 371</sup>). En pacientes con CPCNP varones con historial de tabaquismo, la concentración de IL-33 se redujo de estadios tempranos a estadios tardíos<sup>372</sup>. Siguiendo esta línea, los niveles de concentración bajos de IL-33 se han asociado con la progresión tumoral a través de macrófagos M2, MDSC y Treg (sobre los cuales también regula su estabilidad y expansión)<sup>321, 288</sup>, así como mediante la estimulación de la angiogénesis y la permeabilidad endotelial dependiente de óxido nítrico (NO) derivado del endotelio<sup>373, 369</sup>. Además, en CPCNP IL-33 también ha demostrado incrementar la glucólisis en las células tumorales, su invasividad y migración (relacionado a la promoción de la expresión de MMP-2 y MMP-9) y promueve la respuesta de linfocitos Th<sub>2</sub>, la acumulación intratumoral de MDSC, el reclutamiento de linfocitos Th<sub>2</sub><sup>312, 368, 369, 372</sup>. Por lo tanto, los efectos protumorales o antitumorales de IL-33 pueden ser modulados por el microambiente tumoral, fluctuando más allá del equilibrio existente con concentraciones ni tan bajas ni tan altas de esta citocina. Dentro de los antecedentes citados en torno a lo anterior, puede resultar coincidente lo obtenido en este estudio en términos de SLP con ambas condiciones, ya que por un lado, el grupo de Pembrolizumab más Docetaxel en 1T tuvo un mayor beneficio, en comparación con el grupo de Docetaxel, en los pacientes con concentraciones por debajo de la mediana de concentración de esta citocina. Pero por el otro lado, el grupo de Docetaxel tuvo una reducción significativa en la concentración de IL-33 hacia la 2T, lo que podría en parte explicar la razón de que los pacientes con una concentración por arriba de la mediana de concentración de IL-33 en el grupo de la combinación tuvieron una mayor SLP, de acuerdo a la relación directa encontrada en CPCNP de la concentración de IL-33 con un mejor pronóstico<sup>372</sup>.

Todas las suposiciones efectuadas en cada citocina, sobre todo en las comparaciones de SLP y SG entre grupos, son establecidas con los resultados obtenidos en el estudio y los antecedentes existentes (con especial

énfasis en CPCNP), sin dejar de tener en cuenta que cada una requiere futuros estudios para ser comprobadas y no deben tomarse mas que como meras especulaciones.

Todas las asociaciones y correlaciones que existieron en este estudio entre las citocinas y las características clínico-patológicas, las categorías de biometría hemática y entre las propias citocinas que no fueron mencionadas en este apartado, representan fenómenos totalmente nuevos o poco estudiados en el CPCNP. Por lo que los resultados de este estudio también pueden servir como una base para futuros trabajos.

### **Análisis por minería de datos (figuras 17-22 y 23-34 y tablas 27 a 30)**

Si bien este estudio proporciona evidencia particular de cada una de las 24 citocinas analizadas y su poca, nula o gran influencia en el CPCNP de acuerdo a las características clínico-patológicas, los valores de biometría hemática y al resto de citocinas analizadas, existen muchas más variables y factores en el microambiente tumoral que determinan las funciones específicas de cada una de estas glucoproteínas. Por ello, el análisis de lo anterior como fenómenos aislados o individuales, aunque otorga resultados importantes para potenciar el progreso hacia el entendimiento de esta enfermedad, dista mucho de representar de forma aproximada la realidad, ya que se está tratando con una red dinámica compleja de interacciones que en conjunto determinan un desenlace de los pacientes, muchas veces distinto al que se podría esperar mediante la interpretación individual de cada interacción. Por ello, se optó por analizar las concentraciones de las 24 citocinas en ambas tomas de muestra sanguínea y por grupo de tratamiento a través de la minería de datos, ya que puede identificar patrones de comportamiento en conjuntos de datos y agruparlos de acuerdo a sus características (en este caso, agrupar a los pacientes con concentraciones específicas de una o varias citocinas). El análisis generó dos grupos naturales o clústers (Clúster 0 y Clúster 1), los cuales tuvieron reglas de asociación únicas para cada grupo de tratamiento y toma de muestra sanguínea (figuras 17 a 22). En el caso de las características clínico-patológicas, en 1T no existieron diferencias significativas entre los clústers en cada subcategoría (tabla 27), pero en 2T lo anterior sí ocurrió en el caso de las histologías “adenocarcinoma” y “otros” (tabla 28), por lo que de inicio dichas subcategorías podrían haber tenido una mayor o menor influencia sobre los resultados obtenidos en los análisis posteriores para cada clúster en la segunda toma de muestra sanguínea. Con base en lo anterior y si bien el tamaño de muestra en este estudio podría no ser lo suficientemente grande, cabe la posibilidad de proponer que en esta enfermedad es necesario hacer especial énfasis en la determinación exacta de la influencia de cada tipo histológico en el conjunto de pacientes (especialmente una vez administrado la inmunoterapia y/o quimioterapia) a analizar mediante minería de datos en futuros estudios. En el único antecedente existente que realizó un análisis por minería de datos con las concentraciones de citocinas en CPCNP y las asoció con las características clínico-patológicas, los valores de biometría hemática y los de supervivencia, no se encontraron diferencias significativas entre los 3 clústers generados sobre las características clínico-patológicas, aunque en este estudio se incluyeron 110 pacientes que no habían recibido tratamiento al momento de la única toma de muestra sanguínea y 25 sujetos sanos como control, además de

que se cuantificaron 14 citocinas de las cuales se diferencian IL-2, IL-4, IL-27 e IL-31 de las analizadas en este estudio, el resto son coincidentes (IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8, IL-10, IL-12p70, IL-17A, IL-29, IL-33, TNF- $\alpha$  e IFN- $\gamma$ ).

Con respecto a los valores de biometría hemática, los clústers generados con los valores de concentración de las citocinas en 1T (tabla 29) mostraron diferencias significativas entre las concentraciones en 1T y 2T de monocitos para los pacientes asignados al Clúster 1, así como en la de albúmina entre 1T y 2T en cada uno de los clústers. El valor de RNL en 2T fue el único parámetro significativamente diferente entre los dos clústers. Por su parte, los clústers generados con los valores de concentración de las citocinas en 2T (tabla 30) presentaron las mismas diferencias significativas en monocitos y albúmina, así como entre la concentración en 1T y 2T de eosinófilos en el Clúster 0. En comparación con el antecedente previamente mencionado que realizó un análisis por minería de datos con las concentraciones de citocinas en CPCNP, también se hallaron diferencias significativas en las concentraciones de albúmina entre los 3 clústers generados por su análisis (Clúster 1 Vs. Clúster 3 y Clúster 2 Vs. Clúster 3).

El análisis de supervivencia para los pacientes asignados a cada uno de los dos clústers (figuras 23 a 34) mostró una única diferencia significativa entre el Clúster 0 y Clúster 1 en los valores obtenidos de SLP por el grupo de Docetaxel en 2T, con una media y mediana mayor en el Clúster 1 (3.04 Vs. 5.99 meses y 2.07 Vs. 4.27 meses, respectivamente). En el antecedente previamente citado sobre análisis de minería de datos en CPCNP se encontraron diferencias significativas en SG entre los 3 Clústers generados en dicho estudio (aunque los pacientes incluidos en el Clúster 1 presentaron valores NR de dicho parámetro), mientras que no se realizó algún análisis de asociación entre clústers y la SLP.

En este sentido, los resultados obtenidos por minería de datos para los pacientes incluidos en cada uno de los dos clústers para los análisis de asociación con las características clínico-patológicas, los valores de biometría hemática y los valores de SLP y SG fueron sustancialmente diferentes, en tipo y cantidad, a los obtenidos en los análisis previos por concentración individual de citocina, lo cual demuestra los cambios que pueden existir en la evaluación de la enfermedad con base en la concentración de citocinas cuando la aproximación se realiza de forma individual o de forma conjunta.

Algunos de los resultados obtenidos en este estudio en los análisis individuales con las concentraciones de citocinas fueron contrastantes con los citados en la literatura, mientras que con aquellos obtenidos de forma conjunta mediante minería de datos las comparaciones son complicadas debido a la falta de estudios similares en esta enfermedad. Por ello, se espera que este trabajo sirva como base y motivación para la realización de futuros estudios similares que amplíen la baraja de posibilidades en términos de comparación, con el fin de acercarse eventualmente a un consenso sobre qué método de evaluación de la enfermedad, con base a la concentración de citocinas para el CPCNP o el cáncer en general, es el que otorga los resultados que representan de forma más precisa la realidad.

## Conclusiones

---

El total de pacientes incluidos en el estudio tuvo una media y mediana de SLP de 7.76 y 5.09 meses y de SG de 50.48 y 33.47 meses, respectivamente. El tratamiento con Pembrolizumab más Docetaxel mostró significativamente una mayor eficacia en términos de SLP que el tratamiento con Docetaxel como monoterapia independientemente de la expresión de PD-L1. Este último grupo de tratamiento obtuvo una mayor media de SG que el grupo de la combinación, aunque dicha diferencia no fue significativa, además de que el grupo de la monoterapia no alcanzó un valor de mediana de SG.

Se determinaron una amplia variedad de asociaciones y correlaciones, tanto positivas como negativas e incluyendo algunas previamente desconocidas en CPCNP, entre las concentraciones plasmáticas de las 24 citocinas analizadas y las características clínico-patológicas, los valores de biometría hemática y los valores de SLP y SG, así como entre las propias citocinas. Los pacientes asignados al grupo de la combinación de tratamiento tuvieron significativamente una mayor SLP asociada a las diferentes categorías de biometría hemática y concentraciones de citocinas y viceversa en SG para el grupo de Docetaxel, aunque en este último caso existieron una cantidad considerable de valores NR que dificultan la comparación y por lo tanto, dichos resultados podrían no representar fielmente la realidad de las asociaciones.

El análisis por minería de datos efectuado con las concentraciones plasmáticas de las citocinas por toma de muestra sanguínea y grupo de tratamiento generó dos grupos naturales o clústers a través de una serie de distintas reglas de asociación, los cuales mostraron asociaciones con las características clínico-patológicas, los valores de biometría hemática y los de SLP, incluyendo asociaciones diferentes a las obtenidas en los análisis con las concentraciones individuales de cada citocina.

Las concentraciones de citocinas asociadas a procesos pro y anti tumorales, así como su análisis de manera conjunta por minería de datos, son alternativas seguras, prácticas y relativamente de bajo costo, con resultados confiables para la evaluación de la enfermedad, sobre todo si son tomadas en cuenta las características clínicas y de laboratorio de los pacientes como se ha probado en este estudio, cuyos resultados pueden formar parte en la elaboración y estandarización de un modelo o perfil múltiple de expresión en CPCNP con parámetros clínicos obtenidos de rutina que optimice la asignación y evaluación del tratamiento con mayor precisión y anticipación.

## Referencias

1. Owen, J. A., Punt, J., Stranford, S. A. & Jones, P. P. (2013). *Kuby Inmunología* (7ª ed.). McGraw Hill Interamericana.
2. Chistiakov, D. A. et al. (2014). Plasmacytoid dendritic cells: development, functions, and role in atherosclerotic inflammation. *Frontiers in physiology*, 5, 279.
3. Janeway, C. A., Travers, P., Walport, M. & Shlomchik, M. J. (2001). *Immunobiology: The Immune System in Health and Disease* (5ª ed.). Garland Science.
4. Turgeon, M. L. (2005). *Clinical Hematology: Theory and Procedures* (4ª ed.). Lippincott Williams & Wilkins.
5. Maton, A., Hopkins, J., McLaughlin, C. W., Johnson, S., Warner, M. Q., LaHart, D. & Wright, J. D. (1993). *Human Biology and Health*. Englewood Cliffs. Prentice Hall.
6. Jenne, C. N., Urrutia, R. & Kubes, P. (2013). Platelets: bridging hemostasis, inflammation and immunity. *International Journal of Laboratory Hematology*, 35(3), 254–261.
7. Lewis, S. M., Bain, B. J., Bates, I., Dacie, J. V. & Dacie, J. V. (2006). *Dacie and Lewis practical haematology*. Livingstone/Elsevier.
8. Ross, M. H. & Pawlina, W. (2007). *Histología: Texto y Atlas* (5ª ed.). Editorial Panamericana.
9. Alberts, B., Johnson, A., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K., Walters, P. (2002). *Molecular Biology of the Cell* (4a ed.). Garland Science.
10. Delves, P., Martin, S., Burton, D. & Roitt, I. (2014). *Inmunología Fundamentos* (12ª ed.). Editorial Panamericana.
11. Palomo, I., Ferreira, A., Sepúlveda, C., Roseblatt, S. & Vergara, C. (2002). *Fundamentos de Inmunología Básica y Clínica*. Editorial Universidad de Talca.
12. Dahlin, J. S. & Hallgren, J. (2015). Mast cell progenitors: Origin, development and migration to tissues. *Molecular Immunology*, 63(1), 9–17.
13. Jakubzick, C. V., Randolph, G. J. & Henson, P. M. (2017). Monocyte differentiation and antigen-presenting functions. *Nature Reviews Immunology*, 17(6), 349–362.
14. Dumortier, H. et al. (2005). Antigen presentation by an immature myeloid dendritic cell line does not cause CTL deletion in vivo, but generates CD8+ central memory-like T cells that can be rescued for full effector function. *J. Immunol.* 175(2), 855–863. PubMed ID16002683.
15. Banchereau, J. & Steinman, R. M. (1998). Dendritic cells and the control of immunity. *Nature*, 392(6673), 245–252.
16. van Nierop, K. & de Groot, C. (2002). Human follicular dendritic cells: function, origin and development. *Seminars in immunology*, 14(4), 251–257.
17. Murphy, K. & Weaver, C. (2019). *Janeway's Immunology* (Traducción por Palacios-Martínez, J.R., Sánchez Barbosa, S. y Tovar-Sosa, M.A) (1ª ed.). Editorial El Manual Moderno S.A. de C.V. Originalmente publicado en 2017.
18. Rojo-León, V. et al. (2012) Participación de los patrones moleculares asociados al daño en el tratamiento convencional del cáncer. *Rev Investig Clínica*, 64, 284-293.
19. Schroeder H., W. & Cavacini, L. (2010). Structure and function of immunoglobulins. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 125(2), 41–52.
20. Xu, Y. et al. (2017). Dynamics of Natural Killer Cells Cytotoxicity in Microwell Arrays with Connecting Channels. *Frontiers in Immunology*, 8, 998.
21. Bots, M. & Medema, J.P. (2006). Granzymes at a glance. *Journal of Cell Science*, 119 (24). doi:10.1242/jcs.03239.
22. Lodoen, M.B. & Lanier, L.L. (2005). Viral modulation of NK cell immunity. *Nature Reviews Microbiology*, 3(1), 59–69.
23. Orange, J. S. (2008). Formation and function of the lytic NK-cell immunological synapse. *Nature reviews Immunology*, 8(9), 713–725.
24. Vivier, E. & Anfossi, N. (2004). Inhibitory NK-cell receptors on T cells: witness of the past, actors of the future. *Nature Reviews Immunology*, 4(3), 190–198.
25. Mak, T. W., Saunders, M. E. & Jett B. D. (2014). *Primer to The Immune Response* (2ª ed). Academic Cell.
26. Hogquist, K. A. et al. (2015). T Cell Adolescence: Maturation Events Beyond Positive Selection. *Journal of immunology* 195(4), 1351–1357.
27. Starr, T. K., Jameson, S. C. & Hogquist, K. A. (2003). Positive and negative selection of T cells. *Annual Review of Immunology*, 21(1), 139–176.
28. Yu, Y. et al. (2018). Recent advances in CD8+ regulatory T cell research. *Oncology letters*, 15(6), 8187–8194.
29. Koretzky, G. A. (2010). Multiple roles of CD4 and CD8 in T cell activation. *Journal of Immunology*, 185(5), 2643–2644.
30. Sammiceli, S. et al. (2012). IL-7 modulates B cells survival and activation by inducing BAFF and CD70 expression in T cells. *Journal of autoimmunity*, 38(4), 304–314.

31. Pelanda, R. & Torres, R. M. (2012) Central B-cell tolerance: where selection begins. *Cold Spring Harbor perspectives in biology*, 4(4).
32. Crotty, S. (2015). A brief history of T cell help to B cells. *Nature reviews Immunology*, 15(3), 185–189.
33. Heath, W. et al. (2019). Antigen presentation by dendritic cells for B cell activation. *Curr. Op. in Immunology*, 58, 44–52.
34. Abbas, A. K. & Lichtman, A. H. (2009). *Basic Immunology: Functions and Disorders of the Immune System*. Elsevier.
35. Chen, L. et al. (2017). Inflammatory responses and inflammation-associated diseases in organs. *Oncotarget*, 9(6), 7204–7218.
36. Kumar, V., Abbas, A., Fausto, N. & Aster, J. (2009). *Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease* (8<sup>a</sup> ed.). Elsevier.
37. Ramesh, A. (2017). Cytokines. *Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 9(5), 719-721.
38. Ray, A. & Joshi, J. (2016). Cytokines and their Role in Health and Disease: A Brief Overview. *MOJ Immunology*, 4(2). 10.15406/moji.2016.04.00121 (Cohen, M. C. & Cohen, S. (1996). Cytokine function: a study in biologic diversity. *American journal of clinical pathology*, 105(5), 589–598.
39. Kryger, M. H., Roth, T. & Dement, W. (2010). *Principles and Practice of Sleep Medicine: Expert Consult Premium Edition* (5<sup>a</sup> ed.). Elsevier Health Sciences.
40. Ozaki, K. & Leonard, W. J. (2002). Cytokine and Cytokine Receptor Pleiotropy and Redundancy. *Journal of Biological Chemistry*, 277(33), 29355–29358.
41. Meyer, F. A., Yaron, I. & Yaron, M. (1990). Synergistic, additive, and antagonistic effects of interleukin-1 $\beta$ , tumor necrosis factor  $\alpha$ , and  $\gamma$ -interferon on prostaglandin e, hyaluronic acid, and collagenase production by cultured synovial fibroblasts. *Arthritis & Rheumatism*, 33(10), 1518–25.
42. Scapigliati, G., Buonocore, F. & Mazzini, M. (2006). Biological Activity of Cytokines: An Evolutionary Perspective. *Current pharmaceutical design*, 12, 3071-81.
43. Holdsworth, S. & Can, P. (2015). Cytokines: Names and numbers you should care about. *Clin J Am Soc Nephrol.*, 10(12), 2243-54. doi:10.2215/CJN.07590714.
44. Lins, F. V. & et al. (2018). Cytokines and Interferons: Types and Functions. *Wahid Ali Khan, IntechOpen*.
45. Akdis, M. et al. (2016) Interleukins (from IL-1 to IL-38), interferons, transforming growth factor  $\beta$ , and TNF- $\alpha$ : Receptors, functions, and roles in diseases. *The Journal of allergy and clinical immunology*, 138(4), 984–1010.
46. Aaronson, S. (1991). Growth factors and cancer. *Science*, 254(5035), 1146–1153. doi:10.1126/science.1659742.
47. Vilček, J. (2003). Novel interferons. *Nature Immuno*, 4(1), 8–9.
48. Lolis, E. & Murphy, J. (2007). The Structural Biology of Chemokines. En Harrison, J. K. & Lukacs, N. W. *The Chemokine Receptors* (9-30). Springer.
49. Hanahan, D. & Weinberg, R. A. (2011) Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell*, 144(5), 646-74.
50. Witsch, E., Sela, M. & Yarden, Y. (2010). Roles for growth factors in cancer progression. *Physiology* 25, 85–101.
51. Fedi, P., Tronick, S.R. & Aaronson, S.A. (1997). Growth factors. In *Cancer Medicine*, J.F. Holland, R.C. Bast, D.L. Morton, E. Frei, D.W. Kufe, and R.R. Weichselbaum, eds. (Baltimore, MD: Williams and Wilkins), 41–64.
52. Amit, I. et al. (2007). A module of negative feedback regulators defines growth factor signaling. *Nat. Genet.* 39(4), 503–512.
53. Chen, Z, et al. (2005). Crucial role of p53-dependent cellular senescence in suppression of Pten-deficient tumorigenesis. *Nature*, 436(7051), 725–30.
54. Beganoyic, S. (2009). Clinical significance of the kras mutation. *Bosnian Journal of Basic Medical Sciences*, 9, 17–20.
55. Korenjak, M. & Brehm, A. (2005). E2F-Rb complexes regulating transcription of genes important for differentiation and development. *Curr. Opin. Genet. Dev.* 15(5).
56. Datto, M.B. et al. (1997). The viral oncoprotein E1A blocks transforming growth factor  $\beta$ -mediated induction of p21/WAF1/Cip1 and p15/INK4B. *Mol. Cell. Biol.* 17(4), 2030–2037. doi: 10.1128/MCB.17.4.2030.
57. Zuo, L. et al. (1996). Germline mutations in the p16INK4A binding domain of CDK4 in familial melanoma. *Nat. Genet.* 12(1), 97–99. doi: 10.1038/ng0196-97.
58. Foley, K. P. & Eisenman, R. N. (1999). Two MAD tails: what the recent knockouts of Mad1 and Mx1 tell us about the MYC/MAX/ MAD network. *Biochim. Biophys.* 1423(3), 37–47.
59. Stracquadanio, G. et al. (2016). The importance of p53 pathway genetics in inherited and somatic cancer genomes. *Nat Rev Cancer*, 16(4), 251-265.
60. Curto, M. et al. (2007). Contact-dependent inhibition of EGFR signaling by Nf2/Merlin. *J. Cell Biol.* 177(5), 893–903.
61. Kierszenbaum, A. (2012). *Histología y biología celular: una introducción a la patología*. Elsevier Saunders.
62. Butt, A. J., Firth, S. M. & Baxter, R. C. (1999). The IGF axis and programmed cell death. *Immunol. Cell Biol.* 77(3), 256–262), (Lowe, S. W., Cepero, E. & Evan, G. (2004). Intrinsic tumour suppression. *Nature* 432(7015), 307–315.
63. Weinberg, R. (2007). *The Biology of Cancer*. Garland Science.

64. Antonsson, B. (2004) Mitochondria and the Bcl-2 family proteins in apoptosis signaling pathways. *Mol Cell Biochem*, 256, 141–155
65. Pan, G., O'Rourke, K. & Dixit, V. M. (1998). Caspase-9, Bcl-XL and Apaf-1 form a ternary complex. *The Journal of Biological Chemistry*, 273(10) 5841–5845.
66. Shi, Y. (2004). Caspase Activation. *Cell*, 117(7), 855–858.
67. Saleh, M. et al. (2004). Differential modulation of endotoxin responsiveness by human caspase-12 polymorphisms. *Nature*, 429 (6987), 75–79.
68. Yuste, V. J. et al. (2005). The contribution of apoptosis-inducing factor, caspase-activated DNase, and inhibitor of caspase-activated DNase to the nuclear phenotype and DNA degradation during apoptosis. *The Journal of Biological Chemistry*, 280(42), 35670–35683.
69. Singh, R., Pervin, S & Chaudhuri, G. (2002). Caspase-8-mediated BID cleavage and release of mitochondrial cytochrome c during Nomega-hydroxy-L-arginine-induced apoptosis in MDA-MB-468 cells. Antagonistic effects of L-ornithine. *J. Biol. Chem.*, 277(40), 37630–37636.
70. Kihlmark, M., Imreh, G. & Hallberg, E. (2001). Sequential degradation of proteins from the nuclear envelope during apoptosis. *Journal of Cell Science*, 114(20), 3643–3653.
71. Hankins, H. M. et al. (2015). Roll of flippases, scramblases and transfer proteins in phosphatidylserine subcellular distribution. *Traffic*, 16(1), 35–47. doi:10.1111/tra.12233.
72. Vandivier, R. W., Henson, P. M. & Douglas, I. S. (2006). Burying the dead: the impact of failed apoptotic cell removal (efferocytosis) on chronic inflammatory lung disease. *Chest*, 129(6), 1673–82.
73. Harris, C. C. (1996). p53 tumor suppressor gene: from the basic research laboratory to the clinican abridged historical perspective. *Carcinogenesis* 17, 1187–1198.
74. Ho, J. S. et al. (2005). p53-Dependent Transcriptional Repression of c-myc Is Required for G1 Cell Cycle Arrest. *Molecular and Cellular Biology*, 25(17), 7423–7431.
75. Yip, K. & Reed, J. (2008) Bcl-2 family proteins and cancer. *Oncogene* 27(50), 6398–6406.
76. Cantley, L. C. & Neel, B. G. (1999). New insights into tumor suppression: PTEN suppresses tumor formation by restraining the phosphoinositide 3-kinase/AKT pathway. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 96(8), 4240–4245.) (Evan, G., and Littlewood, T. (1998). A matter of life and cell death. *Science* 281, 1317–1322.
77. Pitti, R. M. et al. (1998). Genomic amplification of a decoy receptor for Fas ligand in lung and colon cancer. *Nature*, 396(6712), 699–700. doi: 10.1038/25387.
78. Shirley, S. & Micheau O. (2010) Targeting c-FLIP in cancer. *Cancer Lett*, 333(2), 141-150.
79. Amaravadi, R. K. & Thompson, C. B. (2007). The Roles of Therapy-Induced Autophagy and Necrosis in Cancer Treatment. *Clinical Cancer Research*, 13(24), 7271–7279.
80. Tekirdag K. & Cuervo, A. M. (2017). Chaperone-mediated autophagy and endosomal microautophagy: joint by a chaperone. *Journal of Biological Chemistry*, 293(15), 5414–24.
81. Bandyopadhyay, U. et al. (2008). The Chaperone-Mediated Autophagy Receptor Organizes in Dynamic Protein Complexes at the Lysosomal Membrane. *Molecular and Cellular Biology*, 28(18), 5747–5763.
82. Uttenweiler, A., Schwarz, H. & Mayer, A. (2005). Microautophagic vacuole invagination requires calmodulin in a Ca<sup>2+</sup> Independent function. *J Biol Chem* 280(39), 33289–297.
83. Rivero-Ríos, P. et al. (2016) Targeting the autophagy/lysosomal degradation pathway in Parkinson's disease. *Curr. Neuroparmacology*, 14(3), 238-249.
84. Levine, B. (2007). Autophagy and cancer. *Nature*, 446(7137), 745–747. doi:10.1038/446745.
85. Lu, Z. et al. (2008). The tumor suppressor gene ARHI regulates autophagy and tumor dormancy in human ovarian cancer cells. *J Clin Invest*, 118(12) 3917–29.
86. Edinger, A. L. & Thompson, C. B. (2004). Death by design: apoptosis, necrosis and autophagy. *Current Opinion in Cell Biology*, 16(6), 663–669.
87. Chaabane, W. et al. (2012). Autophagy, Apoptosis, Mitoptosis and Necrosis: Interdependence Between Those Pathways and Effects on Cancer. *Archivum Immunologiae et Therapiae Experimentalis*, 61(1), 43–58.
88. Van Herreweghe, F. et al. (2010). Tumor necrosis factor-mediated cell death: to break or to burst, that's the question. *Cell Mol Life Sci*, 67(10), 1567–1579.
89. Grivennikov, S. I., Greten, F. R. & Karin, M. (2010). Immunity, inflammation and cancer. *Cell*, 140(6), 883–899.
90. Haferkamp, S. et al. (2009). The relative contributions of the p53 and pRb pathways in oncogene-induced melanocyte senescence. *Aging*, 1(6), 542–556.
91. Reddel, R. R. (2014). Telomere maintenance mechanisms in cancer: clinical implications. *Current pharmaceutical design*, 20(41), 6361–6374.

92. Counter, C. M. et al. (1992). Telomere shortening associated with chromosome instability is arrested in immortal cells which express telomerase activity. *EMBO J.* 11(5), 1921–1929.
93. Wright, W. E. et al. (1989). Reversible cellular senescence: implications for immortalization of normal human diploid fibroblasts. *Mol. Cell. Biol.* 9(7), 3088–3092.
94. Bryan, T. M. & Cech, T. R. (1999). Telomerase and the maintenance of chromosome ends. *Cell Biol.* 11(3), 318–324.
95. Reddel, R. (2000). The role of senescence and immortalization in carcinogenesis. *Carcinogenesis*, 21(3), 477–484.
96. Chin, K. et al. (2004). In situ analyses of genome instability in breast cancer. *Nat. Genet.* 36, 984–988.
97. Rhim, J. S. (1993). Neoplastic transformation of human cells in vitro. *Crit. Rev. Oncogenesis*, 4(3), 313–335.
98. Rodríguez-Núñez, I. et al. (2015). Biología del Desarrollo Vascular: Mecanismos en Condiciones Fisiológicas y Estrés Flujo. *International Journal of Morphology*, 33(4), 1348-1354.
99. Chappell, J. C. & Bautch, V. L. (2010) Vascular development: genetic mechanisms and links to vascular disease. *Curr. Top. Dev. Biol.*, 90, 43-72.
100. Ferrara, N. (2002) Role of vascular endothelial growth factor in physiologic and pathologic angiogenesis: therapeutic implications. *Semin Oncol*, 29(6 Suppl 16), 10-14.
101. Zhu, Z. & Witte, L. (1999). Inhibition of tumor growth and metastasis by targeting tumor-associated angiogenesis with antagonists to the receptors of vascular endothelial growth factor. *Invest New Drugs*, 17(3), 195-212.
102. Holmes, K. et al. (2007). Vascular endothelial growth factor receptor-2: structure, function, intracellular signalling and therapeutic inhibition. *Cell Signal*, 19(10), 2003-2012. PMID 17658244.
103. Martínez-Ezquerro, J. D. y Herrera, L. A. (2006). Angiogénesis: VEGF/VEGFRs como blancos terapéuticos en el tratamiento contra el cáncer. *Cancerología*, 1, 83-96.
104. Augustin, H. G. et al. (2009) Control of vascular morphogenesis and homeostasis through the angiopoietin-Tie system. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, 10(3), 165-77. doi: 10.1038/nrm2639.
105. Potente, M., Gerhardt, H. & Carmeliet, P. (2011). Basic and therapeutic aspects of angiogenesis. *Cell*, 146(6), 873-87.
106. Rak, J. et al. (1995). Oncogenes as inducers of tumor angiogenesis. *Cancer Metastasis Rev.* 14(4), 263–277. doi: 10.1007/BF00690598) (Maxwell, P. H. et al. (1999). The tumor suppressor protein VHL targets hypoxia-inducible factors for oxygen-dependent proteolysis. *Nature*, 399(6733), 271–275.
107. Baeriswyl, V. & Christofori, G. (2009). The angiogenic switch in carcinogenesis. *Semin. Cancer Biol.*, 19(5), 329–337.
108. Sorbera, L. A. & Bayes, M. (2005). ABT-510: oncolytic angiogenesis inhibitor. *Drugs of the Future. Prous Science.*, 30(11), 1081–1086.
109. Nagy, J. A. et al. (2010). Heterogeneity of the tumor vasculature. *Semin. Thromb. Hemost.*, 36(3), 321–331.
110. Sidaway, P. (2019). Immunoediting defines prognosis. *Nature Reviews Clinical Oncology*, 16, 271.
111. Dunn, G. P., Old, L. J. & Schreiber, R. D. (2004). The three Es of cancer immunoediting. *Annu. Rev. Immunol.*, 22, 329-360.
112. Yang, L., Pang, et al. (2010). TGF-beta and immune cells: an important regulatory axis in the tumor microenvironment and progression. *Trends Immunol.* 31(6), 220–227.
113. Ostrand-Rosenberg, S. & Sinha, P. (2009). Myeloid-derived suppressor cells: linking inflammation and cancer. *J. Immunol.* 182(8), 4499–4506.
114. Coffelt, S. B. et al. (2010). Elusive identities and overlapping phenotypes of proangiogenic myeloid cells in tumors. *Am. J. Pathol.* 176(4), 1564–1576.
115. Murdoch, C. et al. (2008). The role of myeloid cells in the promotion of tumor angiogenesis. *Nat. Rev. Can.*, 8(8), 618–31.
116. Mantovani, A. (2010). Molecular pathways linking inflammation and cancer. *Curr. Mol. Med.* 10(4), 369–373.
117. Houghton, A. M., et al. (2010) Neutrophil elastase-mediated degradation of IRS-1 accelerates lung tumor growth. *Nat Med*, 16(2), 219–23. doi: 10.1038/nm.2084.
118. Gregory, A. D. & McGarry-Houghton, A. (2011). Tumor-Associated Neutrophils: New Targets for Cancer Therapy. *Cancer Research*, 71(7), 2411–2416.
119. Chao, M. P. et al. (2010). Anti-CD47 antibody synergizes with rituximab to promote phagocytosis and eradicate non-Hodgkin lymphoma. *Cell*, 142(5), 699–713.
120. Pandya, P. H. et al. (2016). The Immune System in Cancer Pathogenesis: Potential Therapeutic Approaches. *Journal of Immunology Research*, 1, 13.
121. Ocío, E. M. & Mateos, M. V. (2015). Inmunoterapia y Checkpoints inmunes en el tratamiento del mieloma múltiple. *Sociedad Argentina de Hematología*, 19(2), 155-158.
122. Fernández-Ponce, C., Hernández-Martínez, J. D. & Silvera-Redondo, C. (2006). CTLA-4, una molécula que inhibe la activación de los linfocitos T. *Salud Uninorte*, 22(2), 168-181.
123. Fraser, J. H. et al. (1999) CTLA4 ligation attenuates AP-1, NFAT and NF-κB activity in activated T cells. *Eur. J. Immunol.*, 29(3), 838-44.
124. Dolan, D. E. & Gupta, S. (2014). PD-1 pathway inhibitors: changing the landscape of cancer immunotherapy. *Cancer Control*, 21(3), 231-237.

125. Lim, T. S. et al. (2015). PD-1 expression on dendritic cells suppresses CD8+ T cell function and antitumor immunity. *Oncoimmunology*, 5(3), 231-237.
126. Vargas-Rojas, M. et al. (2008). PD-1 y sus ligandos como reguladores de la respuesta inmune. *Revista del Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias.*, 21(4). 235-240.
127. Oiseth, S. J. & Aziz, M. S. (2017). Cancer immunotherapy: a brief review of the history, possibilities and challenges ahead. *Journal Cancer Metastasis Treat.*, 3, 250-261.
128. Ok, C. Y. & Young, K. H. (2017). Targeting the programmed death-1 pathway in lymphoid neoplasms. *Cancer treatment reviews*, 54, 99–109.
129. Pinedo-Donelli, S. & Ball-de-Picón, E. (2018). PD-1 y sus ligandos: importancia en dermatología. *Medicina Cutánea Ibero-Latino-Americana*, 46(1), 30-37.
130. Francisco, L. M. et al. (2010). The PD-1 pathway in tolerance and autoimmunity. *Immunological Reviews*, 236(1), 219–242.
131. Chen, L. & Han, X. (2015). Anti-PD-1/PD-L1 therapy of human cancer: past, present, and future. *Journal of Clinical Investigation*, 125(9), 3384–3391.
132. Warburg, O. H. (1930). The Metabolism of Tumors: Investigations from the Kaiser Wilhelm Institute for Biology, Berlin-Dahlem.
133. DeBerardinis, R. J. et al. (2008). The biology of cancer: Metabolic reprogramming fuels cell growth and proliferation. *Cell Metab.*, 7(1), 11–20.
134. Semenza, G. L. (2010). Defining the role of hypoxia-inducible factor 1 in cancer biology and therapeutics. *Oncogene*, 29(5), 625–634. doi: 10.1038/onc.2009.441.
135. Feron, O. (2009). Pyruvate into lactate and back: from the Warburg effect to symbiotic energy fuel exchange in cancer cells. *Radiother. Oncol.*, 92(3), 329– 333.
136. Lodish, H. F. et al. (2007) Molecular Cell Biology. Sexta edición. W. H. Freeman and Company., 803.
137. Talmadge, J. E. & Fidler, I. J. (2010). AACR centennial series: the biology of cancer metastasis: historical perspective. *Cancer Res.* 70(14), 5649–5669.
138. Thiery, J.P. et al. (2009). Epithelial- mesenchymal transitions in development and disease. *Cell* 139(5), 871–890.
139. Jiang, W. G. et al. (2015). Tissue invasion and metastasis: Molecular, biological and clinical perspectives. *Seminars in Cancer Biology*, 35, S244–S275.
140. Hugo, H. et al. (2007). Epithelial—mesenchymal and mesenchymal—epithelial transitions in carcinoma progression. *J. Cell. Physiol.* 213(2), 374–383.
141. Madsen, C. D. & Sahai, E. (2010). Cancer Dissemination—Lessons from Leukocytes. *Developmental Cell*, 19(1), 13–26.
142. Kessenbrock, K., Plaks, V. & Werb, Z. (2010). Matrix metalloproteinases: Regulators of the tumor microenvironment. *Cell* 141(1), 52–67.
143. Varner, J. A. & Cheresch, D. A. (1996). Integrins and cancer. *Curr. Opin. Cell Biol.* 8(5), 724–730.
144. Werb, Z. (1997). ECM and cell surface proteolysis: regulating cellular ecology. *Cell* 91(4), 439–442.
145. Aguirre-Ghiso, J. A. (2007). Models, mechanisms and clinical evidence for cancer dormancy. *Nat. Rev. Can.*, 7(11), 834–846.
146. Kim, R., Emi, M. & Tanabe, K. (2007). Cancer immunoediting from immune surveillance to immune escape. *Immunology* 121(1), 1–14.
147. Davidson, M. R., Gazdar, A. F. & Clarke, B. E. (2013) The pivotal role of pathology in the management of lung cancer. *J Thorac Dis*, 5(5) 463-478.
148. Rich, R. R. et al. (2008). *Clinical Immunology*. Clinical Immunology. Elsevier.
149. Adamo, M., Dickie, L. & Ruhl, J. (2018) *SEER Program Coding and Staging Manual 2018*. National Cancer Institute.
150. International Agency for Research on Cancer (2020). *Cancer today*. Global Cancer Observatory (GLOBOCAN). Revisado el 4 de octubre de 2021. [https://gco.iarc.fr/today/online-analysis-map?v=2020&mode=population&mode\\_population=continents&population=900&populations=900&key=asr&sex=0&cancer=39&type=0&statistic=5&prevalence=0&population\\_group=0&ages\\_group%5B%5D=0&ages\\_group%5B%5D=17&nb\\_items=10&group\\_cancer=0&include\\_nmssc=1&include\\_nmssc\\_other=1&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=asr&sex=0&cancer=39&type=0&statistic=5&prevalence=0&population_group=0&ages_group%5B%5D=0&ages_group%5B%5D=17&nb_items=10&group_cancer=0&include_nmssc=1&include_nmssc_other=1&projection=natural-earth&color_palette=default&map_scale=quantile&map_nb_colors=5&continent=0&show_ranking=0&rotate=%255B10%252C0%255D).
151. International Agency for Research on Cancer (2018). *Latest Global Cancer Data: Cancer Burden Rises to 18.1 Million New Cases and 9.6 Million Cancer Deaths in 2018*. Consultado el 23 de septiembre de 2019. URL: <http://gco.iarc.fr/>.
152. Inamura, K. (2017). Lung Cancer: Understanding Its Molecular Pathology and the 2015 WHO Classification. *Front Oncol.*, 7(193). doi: 10.3389/fonc.2017.00193.
153. Araujo, L. H. et al. (2020). Cancer of the Lung: Non-small cell lung cancer and small cell lung cancer. En Niederhuber, J. E. et al. *Abeloff's Clinical Oncology* (6ª ed.). Elsevier.

154. Jiménez-Massa, A. E. (2011). Cáncer de pulmón y citocinas: variantes clínicas y genéticas [Tesis doctoral, Universidad de Salamanca].
155. Arrieta-Rodríguez, O. G. & Guzmán-de-Alba, E. (2011). *Cáncer de Pulmón de Células No Pequeñas* (1ª ed.). PyDESA.
156. Mustafa, M. et al. (2016) Lung Cancer: Risk Factors, Management and Prognosis. *IOSR Journal of Dental and Medical Sciences*. 15(10), 94-101.
157. Lababede, O., & Meziane, M. A. (2018). The Eighth Edition of TNM Staging of Lung Cancer: Reference Chart and Diagrams. *The oncologist*, 23(7), 844–848.
158. Ramachandran, S. et al. (2021). Role of cytokines and chemokines in NSCLC immune navigation and proliferation. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2021, 5563746.
159. Alberg, A. J., Ford, J. G. & Samet, J. M. (2007). Epidemiology of lung cancer: ACCP evidence-based clinical practice guidelines. *Chest*, 132(3), 29-55.
160. Parkin, D. M., Bray, F., Ferlay, J. & Pisani, P. (2005). Global Cancer Statistics, 2002. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 55(2), 74–108. doi:10.3322/canjclin.55.2.74.
161. Kim, C. H. et al. (2014). Exposure to secondhand tobacco smoke and lung cancer by histological type: A pooled analysis of the International Lung Cancer Consortium (ILCCO). *International Journal of Cancer*, 135(8), 1918–1930.
162. Molina, J. R. et al. (2008). Non-small cell lung cancer: epidemiology, risk factors, treatment, and survivorship. *Mayo Clinic proceedings*, 83(5), 584–594.
163. United States Environmental Protection Agency. (2019). *El humo de la leña y su salud*. Consultado el 23 de septiembre de 2019. URL: <https://espanol.epa.gov/espanol/el-humo-de-la-leña-y-su-salud>.
164. Banderrey, M. I. et al. (2001) Frecuencia y riesgo de neoplasia broncopulmonar relacionada con el asbesto. *Med Clin (Barc)*, 117, 1-6.
165. van Zandwijk, N. (2001). Aetiology and prevention of lung cancer. *Eur Respir Mon.*, 17, 13-33.
166. Varella-García, M. (2019). Chromosomal and genomic changes in lung cancer. *Cell Adh Migr.*, 4(1), 100–106.
167. Chen, T. et al. (2019). Age at diagnosis is a heterogeneous factor for non-small cell lung cancer patients. *Journal of thoracic disease*, 11(6), 2251–2266.
168. Pao, W. & Girard, N. (2011). New driver mutations in non-small-cell lung cancer. *Lancet Oncol.*, 12(2), 175-80.
169. Freudenheim J. L. et al. (2005). Alcohol consumption and risk of lung cancer: a pooled analysis of cohort studies. *Am J Clin Nutr*, 82(3), 657–667.
170. Cajaraville, G. et al. (2004). *Oncología*. Libro de Farmacia Hospitalaria.
171. Díaz-Rubio, E. & García-Conde, J. (2000). *Oncología Clínica Básica*. Arán Ediciones.
172. National Cancer Institute (s/f). *NCI Dictionary of Cancer Terms*. Consultado el 7 de mayo de 2020. URL: <https://www.cancer.gov/publications/dictionaries/cancer-terms>
173. Fundación Instituto Roche (s/f). *Glosario de Términos*. Consultado el 7 de mayo de 2020. URL: [https://www.institutoroche.es/jornadas/static/jornadas/archivos/Glosario\\_EECC\\_seminario\\_FIR-ANIS.pdf](https://www.institutoroche.es/jornadas/static/jornadas/archivos/Glosario_EECC_seminario_FIR-ANIS.pdf)
174. Eguino-Villegas, A. et al. (2005). *Cáncer de Pulmón: Una Guía Práctica* (1ª ed.). Asociación Española Contra el Cáncer.
175. European Lung Foundation (2016). *Lung cancer*. Consultado el 2 de mayo de 2020. URL: [https://www.europeanlung.org/assets/files/en/publication/s/lung-cancer-factsheet\\_web.pdf](https://www.europeanlung.org/assets/files/en/publication/s/lung-cancer-factsheet_web.pdf).
176. Arriagada, R., Goldstraw, P. & Le Chevalier, T. (2002). *Oxford Textbook of Oncology* (2ª ed.). Oxford University Press.
177. Cancer Council (2018). *Understanding Lung Cancer* (6ª ed.). Cancer Council Australia.
178. DeVita, V. T., Rosenberg, S. A. & Hellman, S. (2000). *Cancer, principles and practice of oncology* (6ª ed.). Lippincott Williams & Wilkins.
179. Instituto de Técnicas Avanzadas contra el Cáncer (2016). *Quimioterapia neoadyuvante, adyuvante y concomitante, ¿qué son?*. Consultado el 2 de mayo de 2020. URL: <https://itaccancer.es/es/noticias/quimioterapia-neoadyuvante-adyuvante-y-concomitante-que-son/>.
180. Hirsch, F. R. et al. (2017). Lung cancer: current therapies and new targeted treatments. *Lancet*, 21, 299-311.
181. Rowinsky, E. K. (1997). The development and clinical utility of the taxane class of antimicrotubule chemotherapy agents. *Annual Review of Medicine*, 48(1), 353–374.
182. Bissery, M.C. et al. (1995). Docetaxel (Taxotere): a review of preclinical and clinical experience. Part I: Preclinical experience. *Anti-Cancer Drugs* 6(3), 339–355.
183. Díaz J. F. & Andreu, J. M. (1993). Assembly of purified GDP-tubulin into microtubules induced by taxol and taxotere: reversibility, ligand stoichiometry and competition. *Biochemistry*, 32(11), 2747–2755.
184. Ringel, I. & Horwitz, S. B. (1991). Studies with RP56976 (Taxotere): a semisynthetic analogue of taxol. *J. Natl. Can. Inst.*, 83(4), 288–91. doi: 10.1093/jnci/83.4.288.

185. Ojima, I. et al. (2015). Taxane anticancer agents: A patent perspective. *Expert Op on Therapeutic Patents.*, 26(1), 1-20.
186. Food And Drug Administration (2012). *Taxotere (Docetaxel) Label*. Consultado el 6 de mayo de 2020. URL: [https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda\\_docs/label/2012/201525s002lbl.pdf](https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2012/201525s002lbl.pdf).
187. Arrieta-Rodríguez, O. G. et al. (2013). Consenso de Cáncer de Pulmón. *Rev Invest Clin.* 65(Supl.1), s5-s84.
188. Polovich, M., Olsen, M. M. & LeFebvre, K. B. (2014). *Chemotherapy and biotherapy guidelines and recommendations for practice* (4ª ed.). The Oncology Nursing Society.
189. Lu, M., & Su, Y. (2019). Immunotherapy in non-small cell lung cancer: The past, the present, and the future. *Thoracic cancer*, 10(4), 585–586.
190. Mayor, M. et al. (2015). Immunotherapy for non-small cell lung cancer: Current concepts and clinical trials. *European Journal of Cardio-Thoracic Surgery.*, 49(5), 1324-1333.
191. Tomasini, P. et al. (2012). Ipilimumab: its potential in non-small cell lung cancer. *Therapeutic advances in medical oncology*, 4(2), 43–50.
192. Food And Drug Administration (2020). *Hematology/Oncology (Cancer) Approvals & Safety Notifications*. Consultado el 6 de mayo de 2020. URL: <https://www.fda.gov/drugs/resources-information-approved-drugs/hematologyoncology-cancer-approvals-safety-notifications>.
193. Peters, S., Kerr, K. & Stahel, R. (2017). PD-1 blockade in advanced NSCLC: A focus on pembrolizumab. *Cancer Treatment Reviews.*, 62, 39-49.
194. Food And Drug Administration (2019). *Keytruda (pembrolizumab) Label*. Consultado el 6 de mayo de 2020. URL: [https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda\\_docs/label/2019/125514s040lbl.pdf](https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2019/125514s040lbl.pdf).
195. Herbst, R. S. et al. (2016). Pembrolizumab versus docetaxel for previously treated, PD-L1-positive, advanced non-small-cell lung cancer (KEYNOTE-010): A randomized controlled trial. *Lancet.*, 387(10027), 1540-1550.
196. Barrera, L. et al. (2015). Cytokine profile determined by data-mining analysis set into clusters of non-small-cell lung cancer patients according to prognosis. *Ann Oncol.*, 26(2), 428-435. doi:10.1093/annonc/mdu549.
197. Arrieta-Rodríguez, O. G. et al. (2020). Efficacy and Safety of Pembrolizumab Plus Docetaxel vs Docetaxel Alone in Patients With Previously Treated Advanced Non-Small Cell Lung Cancer. *JAMA Oncology*, 6(6), 856-864.
198. Guerin, J. S. et al. (2010). Molecular Medicine Ireland Guidelines for Standardized Biobanking. *Biopreservation & Biobanking.*, 8(1), 3-63. doi: 10.1089/bio.2010.8101.
199. Marieb, E. N. & Hoehn, K. (2013). *Human Anatomy and Physiology* (9ª ed.). Pearson.
200. BioLegend (2003) *Immunology Handbook*. Online Version. Consultado el 26 de junio de 2020. URL: [https://www.biolegend.com/Files/Images/BioLegend/literature/images/02-0015-01\\_immunobiology\\_handbook.pdf](https://www.biolegend.com/Files/Images/BioLegend/literature/images/02-0015-01_immunobiology_handbook.pdf).
201. Padilla, O. (2019). *Pruebas de sangre: valores normales*. Consultado el 25 de julio de 2021. URL: [https://www.merckmanuals.com/es-pr/professional/recursos/valores-normales-de-laboratorio/pruebas-de-sangre-valores-normales#v8508814\\_es](https://www.merckmanuals.com/es-pr/professional/recursos/valores-normales-de-laboratorio/pruebas-de-sangre-valores-normales#v8508814_es).
202. Etikan, I., Bukirova, K. & Yuvali, M. (2018). Choosing statistical tests for survival analysis. *Biom Biostat Int J.*, 7(5), 477-481.
203. Riquelme, J. C., Ruiz, R. & Gilbert, K. (2006). Minería de Datos: Conceptos y Tendencias. Inteligencia Artificial. *Revista Iberoamericana de Inteligencia Artificial*, 10(29), 11-18.
204. Witten, I. H., et al. (2011). *Data Mining: Practical Machine Learning Tools and Techniques* (3ª ed.). Elsevier.
205. Mishra, A. K. & Ratha, B. K. (2016). Study of Random Tree and Random Forest Data Mining Algorithms for Microarray Data Analysis. *International Journal on Advanced Electrical and Computer Engineering (IJAEE)*, 3(4), 5-7. ISSN: 2349-9338.
206. Pacheco, J. M. et al. (2019). A Changing of the Guard: Immune Checkpoint Inhibitors With and Without Chemotherapy as First Line Treatment for Metastatic Non-small Cell Lung Cancer. *Frontiers in oncology*, 9, 195.
207. Arrieta-Rodríguez, O. G. et al. (2015). Updated Frequency of EGFR and KRAS Mutations in NonSmall-Cell Lung Cancer in Latin America: The Latin-American Consortium for the Investigation of Lung Cancer (CLICaP). *J Thorac Oncol.*, (5), 838-843.
208. El-Osta, H., & Jafri, S. (2019). Predictors for clinical benefit of immune checkpoint inhibitors in advanced non-small-cell lung cancer: a meta-analysis. *Immunotherapy*, 11(3), 189-189–199.
209. Arrieta-Rodríguez, O. G. et al. (2015). Different mutation profiles and clinical characteristics among Hispanic patients with non-small cell lung cancer could explain the "Hispanic paradox". *Lung Cancer.*, 90(2), 161-6.
210. Wu, Y. et al. (2017). The effectiveness of PD-1 inhibitors in non-small cell lung cancer (NSCLC) patients of different ages. *Oncotarget*, 9(8), 7942–7948.

211. Arrieta-Rodríguez, O. G. et al. (2008). Wood-smoke exposure as a response and survival predictor in erlotinib-treated non-small cell lung cancer patients: an open label phase II study. *Journal of thoracic oncology: official publication of the IASLC*, 3(8), 887–93.
212. Inomata, M. et al. (2018). Clinical Parameters for Predicting the Survival in Patients with Squamous and Non-squamous-cell NSCLC Receiving PD-1 Inhibitor Therapy. *Pathology Oncology Research : POR*, , 1-7.
213. Macedo-Pérez, E. O. et al. (2014). Long progression-free survival with first-line paclitaxel plus platinum is associated with improved response and progression-free survival with second-line docetaxel in advanced non-small-cell lung cancer. *Cancer Chemotherapy and Pharmacology*, 74(4), 681-90.
214. Kinoshita, T. et al. (2012). Chemotherapy for non-small cell lung cancer complicated by idiopathic interstitial pneumonia. *Oncology Letters*, 4(3), 477.
215. Campos-Parra, A. D., Cruz-Rico, G. & Arrieta-Rodríguez, O. G. (2012). Genotipificación en cáncer de pulmón de células no pequeñas. *GAMO*, 11(1), 35-44.
216. Borghaei, H. et al. (2015). Nivolumab versus Docetaxel in Advanced Nonsquamous Non-Small-Cell Lung Cancer. *The New England journal of medicine*, 373(17), 1627–1639.
217. Indini, A., Rijavec, E. & Grossi, F. (2021). Circulating Biomarkers of Response and Toxicity of Immunotherapy in Advanced Non-Small Cell Lung Cancer (NSCLC): A Comprehensive Review. *Cancers*, 13(8), 1794.
218. Sun, J. M. et al. (2016). Prognostic Significance of PD-L1 in Patients with Non-Small Cell Lung Cancer: A Large Cohort Study of Surgically Resected Cases. *J Thorac Oncol.*, 11(7), 1003-11.
219. Brogden, K. A. et al. (2018). Genomics of NSCLC patients both affirm PD-L1 expression and predict their clinical responses to anti-PD-1 immunotherapy. *BMC Cancer*, 18(225).
220. Tian, Y. et al. (2021). Clinical outcomes of immune checkpoint blockades and the underlying immune escape mechanisms in squamous and adenocarcinoma NSCLC. *Cancer Medicine*, 10(1), 3-14.
221. Wang, Z. et al. (2018). High Platelet Levels Attenuate the Efficacy of Platinum-Based Treatment in Non-Small Cell Lung Cancer. *Cellular Physiology and Biochemistry*, 48(6), 2456-69.
222. Yu, D. et al. (2013). Platelet count predicts prognosis in operable non-small cell lung cancer. *Experimental and Therapeutic Medicine*, 5(5), 1351.
223. Carus, A. et al. (2013). Impact of baseline and nadir neutrophil index in non-small cell lung cancer and ovarian cancer patients: Assessment of chemotherapy for resolution of unfavorable neutrophilia. *J Transl Med*, 11, 189.
224. Dou, A. (2021). Heterogeneous myeloid cells in tumors. *Cancers*, 13(15), 3772.
225. Cukic, V. (2016). Neutrophil/Lymphocyte Ratio and Platelet/Lymphocyte Ratio in Patients with NSCLC. *Materia Socio-Medica*, 28(5), 378-381.
226. Schernberg, A. et al. (2018). Neutrophilia as prognostic biomarker in locally advanced stage III lung cancer. *PLoS One*, 13(10).
227. Karger, A. et al. (2021). Hidden treasures: Macrophage long non-coding RNAs in lung cancer progression. *Cancers*, 13(16), 4127.
228. Yu, B. et al. (2017). Cytokine-induced killer cell therapy for modulating regulatory T cells in patients with non-small cell lung cancer. *Experimental and Therapeutic Medicine*, 14(1), 831-840. doi:10.3892/etm.2017.4562.
229. Cen, Y. et al. (2020). The characteristic of tumor immune microenvironment in pulmonary carcinosarcoma. *Immunotherapy*, 12(5), 323-323–331.
230. Botta, C. et al. (2013). Systemic inflammatory status at baseline predicts bevacizumab benefit in advanced non-small cell lung cancer patients. *Cancer biology & therapy*, 14(6), 469–475.
231. Chen, J. J. et al. (2003). Up-regulation of tumor interleukin-8 expression by infiltrating macrophages: its correlation with tumor angiogenesis and patient survival in non-small cell lung cancer. *Clin Cancer Res.*, 9(2), 729-37.
232. Raman, D. et al. (2007). Role of chemokines in tumor growth. *Cancer Letters*, 256(2), 137-65.
233. Nonaka, K. et al. (2021). Th1 polarization in the tumor microenvironment upregulates the myeloid-derived suppressor-like function of macrophages. *Cellular immunology*, 369, 104437.
234. Fridlender, Z. et al. (2011). Monocyte chemoattractant protein-1 blockade inhibits lung cancer tumor growth by altering macrophage phenotype and activating CD8+ cells. *American J of Respiratory Cell and Molecular Biology*, 44(2), 230-37.
235. Rivas-Fuentes, S. et al. (2015). Role of Chemokines in Non-Small Cell Lung Cancer: Angiogenesis and Inflammation. *Journal of Cancer*, 6(10), 938–952.
236. Alves, A. et al. (2021). Peripheral blood eosinophilia may be a prognostic biomarker in non-small cell lung cancer patients treated with immunotherapy. *Journal of Thoracic Disease*, 13(5), 2716-2727.
237. Okauchi, S. et al. (2021). Association between peripheral eosinophils and clinical outcomes in patients with non-small

- cell lung cancer treated with immune checkpoint inhibitors. Polish archives of internal medicine, 131(2), 152–160.
238. Lee, J. J. & Rosenberg, H. F. (2013). Eosinophils in Health and Disease. Elsevier.
  239. De Zutter, A. & Jo, V. D. (2021). The Role of Post-Translational Modifications of Chemokines by CD26 in Cancer. *Cancers*, 13(17), 4247.
  240. Jia, H. et al. (2016). Evaluation of 29 indicators for the prognosis of advanced non-small cell lung cancer with cytokine-induced killer cell therapy combined with chemotherapy. *Experimental and Therapeutic Medicine*, 11(5), 1601.
  241. Li, Y. et al. (2019). Prognostic effect of a risk index model in postoperative non-small-cell lung cancer patients. *Future Oncology*, 15(24), 2829–2840.
  242. Marone, G. et al. (2020). Is There a Role for Basophils in Cancer? *Frontiers in immunology*, 11, 2103.
  243. Kartolo, A. et al. (2020). Serum neutrophil-to-lymphocyte ratio and platelet-to-lymphocyte ratio in prognosticating immunotherapy efficacy. *Immunotherapy*, 12(11), 785–798.
  244. Cedrés, S. et al. (2012). Neutrophil to lymphocyte ratio (NLR) as an indicator of poor prognosis in stage IV non-small cell lung cancer. *Clin Transl Oncol.*, 14(11), 864–869.
  245. Derman, B. A. et al. (2017). Relationships between longitudinal neutrophil to lymphocyte ratios, body weight changes, and overall survival in patients with NSCLC. *BMC Cancer*, 17, 141.
  246. Suh, K. J. et al. (2017). Post-treatment neutrophil-to-lymphocyte ratio at week 6 is prognostic in patients with advanced non-small cell lung cancers treated with anti-PD-1 antibody. *Cancer Immunology*, 67(3), 459–470.
  247. Sánchez-Lara, K. et al. (2012). Association of Nutrition Parameters Including Bioelectrical Impedance and Systemic Inflammatory Response With Quality of Life and Prognosis in Patients With Advanced Non-Small-Cell Lung Cancer: A Prospective Study. *Nutrition and Cancer*, 64(4), 526–534.
  248. Sun, H. et al. (2015). Albumin and neutrophil combined prognostic grade as a new prognostic factor in non-small cell lung cancer: Results from a large consecutive cohort. *PLoS One*, 10(12).
  249. Wang, X. et al. (2014). Prognostic significance of preoperative serum carcinoembryonic antigen in non-small cell lung cancer: a meta-analysis. *Tumor Biology*, 35(10), 10105–10110.
  250. Kozu, Y. et al. (2013). Prognostic significance of postoperative serum carcinoembryonic antigen levels in patients with completely resected pathological-stage I non-small cell lung cancer. *Journal of Cardiothoracic Surgery*, 8, 106.
  251. Arrieta-Rodríguez, O. G., et al. (2013). Usefulness of Serum Carcinoembryonic Antigen (CEA) in evaluating response to chemotherapy in patients with advanced Non-Small-cell lung cancer: a prospective cohort study. *BMC Cancer*, 13, 254.
  252. Lee, D. et al. (2012). The relevance of serum carcinoembryonic antigen as an indicator of brain metastasis detection in advanced non-small cell lung cancer. *Tumor Biology*, 33(4), 1065–73.
  253. Liu, Q. et al. (2016). The CXCL8-CXCR1/2 pathways in cancer. *Cytokine & Growth Factor Reviews*, 31, 61–71.
  254. Wu, F., X. et al. (2016). The Role of Interleukin-17 in Lung Cancer. *Mediators of inflammation*, 2016, 8494079.
  255. Dell'Agnola, C. & Biragyn, A. (2007). Clinical utilization of chemokines to combat cancer: the double-edged sword. *Expert review of vaccines*, 6(2), 267–283.
  256. Lu, J. et al. (2008). EGF-IL-18 fusion protein as a potential anti-tumor reagent by induction of immune response and apoptosis in cancer cells. *Cancer Letters*, 260(1-2), 187–197.
  257. Pine, S. R. et al. (2011). Increased levels of circulating interleukin 6, interleukin 8, C-reactive protein, and risk of lung cancer. *J. Natl. Cancer Inst.*, 103, 1112–1122.
  258. Carpagnano, G. E. et al. (2011). Neutrophilic airways inflammation in lung cancer: the role of exhaled LTB-4 and IL-8. *BMC Cancer*, 11(1), 226–234.
  259. Varella, P. & Neves, W. (2001). Cytokines: a review. *Revista Brasileira Alergia e Imunopatologia.*, 24(4), 146–154.
  260. Raftafi, A. et al. (2013). Association of IL-8 gene polymorphisms with Non-Small Cell Lung Cancer in Tunisia: A case control study. *Hum Immunol.*, 74(10), 1368–74.
  261. Schalper, K. A. et al. (2020). Elevated serum interleukin-8 is associated with enhanced intratumor neutrophils and reduced clinical benefit of immune-checkpoint inhibitors. *Nature Medicine*, 26(5), 688–692.
  262. Boutsikou, E. et al. (2018). Tumor necrosis factor, interferon-gamma and interleukins as predictive markers of antiprogrammed cell-death protein-1 treatment in advanced non-small cell lung cancer: a pragmatic approach in clinical practice. *Therapeutic advances in medical oncology*, 10.
  263. Zhu, Q. et al. (2012). The role of CXC chemokines and their receptors in the progression and treatment of tumors. *J Mol Histol.*, 43(6), 699–713.
  264. Luster, A. D. & Leder, P. (1993). IP-10, a -C-X-C- chemokine, elicits a potent thymus-dependent antitumor response in vivo. *Journal of Experimental Medicine*, 178(3), 1057–1065.

265. Sgadari, C., Angiolillo, A. L. & Tosato, G. (1996). Inhibition of angiogenesis by interleukin-12 is mediated by the interferon-inducible protein 10. *Blood.*, 87(9), 3877-3882.
266. Mohit, E. & Rafati, S. (2012). Chemokine-based immunotherapy: delivery systems and combination therapies. *Immunotherapy*, 4(8), 807-40.
267. Cao, Y. et al. (2017). The Inflammatory CXC Chemokines, GRO $\alpha$ high, IP-10low, and MIGlow, in Tumor Microenvironment Can Be Used as New Indicators for Non-small Cell Lung Cancer Progression. *Immunol Invest.*, 46(4), 361-374.
268. Salcedo, R. et al. (2001). Eotaxin (CCL11) Induces In Vivo Angiogenic Responses by Human CCR3+ Endothelial Cells. *The Journal of Immunology*, 166(12), 7571–7578.
269. Guo, R. et al. (2001). Regulatory Effects of Eotaxin on Acute Lung Inflammatory Injury. *J of Immuno*, 166, 5208-18.
270. Lin, S. et al. (2021). Myeloid-derived suppressor cells promote lung cancer metastasis by CCL11 to activate ERK and AKT signaling and induce epithelial-mesenchymal transition in tumor cells. *Oncogene.*, 40(8), 1476-1489.
271. Arenberg, D. A. et al. (1998). Epithelial-neutrophil activating peptide (ENA-78) is an important angiogenic factor in non-small cell lung cancer. *The Journal of clinical investigation*, 102(3), 465–472.
272. Saeki, H. & Tamaki, K. (2006). Thymus and activation regulated chemokine (TARC)/CCL17 and skin diseases. *Journal of Dermatological Science*, 43(2), 75–84.
273. Kiefer, F. & Siekmann, A. (2011). The role of chemokines and their receptors in angiogenesis. *Cell Mol Life Sci.*, 68(17), 2811-30.
274. Joerger, M. et al. (2016). The IL-17-Th1/Th17 pathway: an attractive target for lung cancer therapy? *Expert Opinion on Therapeutic Targets*, 20(11), 1339–1356.
275. Xie, M., Wei, J. & Xu, J. (2020). Inducers, Attractors and Modulators of CD4+ Treg Cells in Non-Small-Cell Lung Cancer. *Front Immunol.*, 11, 676.
276. Li, Y. et al. (2021). Systematic expression analysis of the CELSR family reveals the importance of CELSR3 in human lung adenocarcinoma. *Journal of Cellular and Molecular Medicine (Online)*, 25(9), 4349-4362.
277. Korbecki, J. (2020). CC Chemokines in a Tumor: A Review of Pro-Cancer and Anti-Cancer Properties of the Ligands of Receptors CCR1, CCR2, CCR3, and CCR4. *International journal of molecular sciences*, 21(21), 8412.
278. Amrita, B. et al. (2019) *Immunotherapy in breast cancer: Current status and future directions*. Academic Press, 143, 295-349.
279. Yamaki, M. et al. (2010). Epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitors induce CCL2 and CCL5 via reduction in IL-1R2 in keratinocytes. *Experimental Dermatology*, 19(8), 730–735.
280. Chen, W. et al. (2015). The CCL2/CCR2 axis enhances IL-6-induced epithelial-mesenchymal transition by cooperatively activating STAT3-Twist signaling. *Tumor Biology*, 36(2), 973-981.
281. Yang, L. et al. (2015). Relationship between genetic polymorphisms in MCP-1, CCR-2, and non-small-cell lung cancer in the Han nationality of Northern China. *Genet. Mol. Res.*, 14(2), 3745-3752.
282. Hanrahan, E. O. et al. (2010). Distinct patterns of cytokine and angiogenic factor modulation and markers of benefit for vandetanib and/or chemotherapy in patients with non-small-cell lung cancer. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology*, 28(2), 193–201.
283. Korbecki, J. et al. (2020). Hypoxia alters the expression of CC chemokines and CC chemokine receptors in a Tumor—A literature review. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(16), 5647.
284. Li, L., Y. D. et al. (2018). High levels of CCL2 or CCL4 in the tumor microenvironment predict unfavorable survival in lung adenocarcinoma. *Thoracic Cancer*, 9(7), 775-784.
285. Airoidi, I. et al. (2009). IL-12 Can Target Human Lung Adenocarcinoma Cells and Normal Bronchial Epithelial Cells Surrounding Tumor Lesions. *PLoS One*, 4(7).
286. Galland, S. et al. (2020). Attenuation of the pro-inflammatory signature of lung cancer-derived mesenchymal stromal cells by statins. *Cancer Lett.*, 1(484), 50-64.
287. Zhang, X. et al. (2012). Expression of monocyte chemoattractant protein-1 and CC chemokine receptor 2 in non-small cell lung cancer and its significance. *Cancer Immunology, Immunotherapy*, 62(3), 563–570.
288. Cinier, J. et al. (2021). Recruitment and expansion of Tregs cells in the tumor Environment—How to target them? *Cancers*, 13(8), 1850.
289. Umekawa, K. et al. (2013). Plasma RANTES, IL-10, and IL-8 levels in non-small-cell lung cancer patients treated with EGFR-TKIs. *BMC Research Notes*, 6, 139.
290. Yamauchi, Y. et al. (2018). Circulating and Tumor Myeloid-derived Suppressor Cells in Resectable Non–Small Cell Lung Cancer. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 198(6), 777-787.
291. Sun, X. & Chen, Z. (2021). Cancer-associated fibroblast-derived CCL5 contributes to cisplatin resistance in A549

- NSCLC cells partially through upregulation of lncRNA HOTAIR expression. *Oncology Letters*, 22(4), 696.
292. Ohri, C. M. et al. (2010). Chemokine receptor expression in tumor islets and stroma in non-small cell lung cancer. *BMC Cancer*, 10, 172.
  293. da Silva, J. M. et al. (2017). Relevance of CCL3/CCR5 axis in oral carcinogenesis. *Oncotarget*, 8(31), 51024–51036.
  294. Franzén, B. et al. (2021). Multiplex immune protein profiling of fine-needle aspirates from patients with non-small-cell lung cancer reveals signatures associated with PD-L1 expression and tumor stage. *Molecular Oncology*.
  295. Fulkerson, P. C. et al. (2004). Negative regulation of eosinophil recruitment to the lung by the chemokine monokine induced by IFN-gamma (Mig, CXCL9). *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, 101(7), 1987–1992.
  296. Tokunaga, R. et al. (2018). CXCL9, CXCL10, CXCL11/CXCR3 axis for immune activation - A target for novel cancer therapy. *Cancer Treatment Reviews*., 63, 40–47.
  297. Wu, K., et al. (2017). The clinical significance of CXCL5 in non-small cell lung cancer. *OncoTargets and Therapy*, 10, 5561-73.
  298. Kirshberg, S. et al. (2011). Involvement of CCR6/CCL20/IL-17 Axis in NSCLC Disease Progression. *PLoS One*, 6(9).
  299. Wang, G. et al. (2015). Tobacco smoke induces production of chemokine CCL20 to promote lung cancer. *Cancer Letters*, 363(1), 60-70.
  300. Zhang, C. et al. (2015). The role of CCL20/CCR6 axis in recruiting Treg cells to tumor sites of NSCLC patients. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 69, 242–248.
  301. Lo, H. et al. (2013). Vascular Endothelial Growth Factor Induces CXCL1 Chemokine Release via JNK and PI-3K-Dependent Pathways in Human Lung Carcinoma Epithelial Cells. *International Journal of Molecular Sciences*, 14(5), 10090-10106.
  302. Wang, P. (2010). Integrating individual functional moieties of CXCL10 and CXCL11 into a novel chimeric chemokine leads to synergistic antitumor effects: a strategy for chemokine-based multi-target-directed cancer therapy. *Cancer Immunology, Immunotherapy*, 59(11), 1715-26.
  303. Gao, Q., & Zhang, Y. (2021). CXCL11 Signaling in the Tumor Microenvironment. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 1302, 41-50.
  304. Gao, Q. et al. (2019). Cancer-cell-secreted CXCL11 promoted CD8<sup>+</sup> T cells infiltration through docetaxel-induced-release of HMGB1 in NSCLC. *Journal for Immunotherapy of Cancer*, 7.
  305. Arenberg, D. A. et al. (2000). Macrophage infiltration in human non-small-cell lung cancer: the role of CC chemokines. *Cancer Immunol. Immunother.*, 49(2), 63-70.
  306. Dinarello, C. (1989). Biologic basis for interleukin-1 in disease. *Blood Journal*, 87 (6), 2095-2147.
  307. Duvallet, E. et al. (2011). Interleukin-23: A key cytokine in inflammatory diseases. *Annals of Medicine*, 43(7), 503–511. doi:10.3109/07853890.2011.577093.
  308. Okamoto, M. et al. (2009). Correlation of Decreased Survival and IL-18 in Bone Metastasis. *Internal Medicine (Tokyo, 1992)*, 48(10), 763-773.
  309. De Maeyer, E. & De Maeyer-Guignard, J. (1992). Interferon- $\gamma$ . *Curr. Opin. Immunol.*, 4, 321-326.
  310. Lewis, A. M. et al. (2006). IL-1 and cancer progression: the emerging role of interleukin-1 receptor antagonist as a novel therapeutic agent in cancer treatment. *J Transl Med* 4, 48.
  311. Kong, H. et al. (2015). Differential expression of inflammasomes in lung cancer cell lines and tissues. *Tumor Biology*, 36(10), 7501–7513.
  312. Casciaro, M. et al. (2019). IL-33 Involvement in Non-Small Cell Lung Carcinomas: An Update. *Biomolecules*, 9(5), 203.
  313. Heinrich, E. L. (2011). IL-1 $\beta$  downregulates E-cadherin in non-small cell lung cancer via Fra-1 activation (Order No. 3472621) [Tesis de doctorado, University of California]. Available from ProQuest Dissertations & Theses Global; ProQuest One Academic. (892712702).
  314. Barrera, L. et al. (2018). Levels of peripheral blood polymorphonuclear myeloid-derived suppressor cells and selected cytokines are potentially prognostic of disease progression for patients with non-small cell lung cancer. *Cancer Immunology, Immunotherapy*, 9, 1393-1406.
  315. Apte, R. N. et al. (2006). The involvement of IL-1 in tumorigenesis, tumor invasiveness, metastasis and tumor-host interactions. *Cancer and Metastasis Reviews*, 25(3), 387–408.
  316. Petrella, B. L., Armstrong, D. A. & Vincenti, M. P. (2012). Interleukin-1  $\beta$  and transforming growth factor- $\beta$  3 cooperate to activate matrix metalloproteinase expression and invasiveness in A549 lung adenocarcinoma cells. *Cancer Letters*, 325(2), 220-226.
  317. Antoniou, K. M., Ferdoutsis, E., & Bouros, D. (2003). Interferons and Their Application in the Diseases of the Lung. *Chest*, 123(1), 209–216.
  318. Mailliard, R. B. et al. (2003). Dendritic cells mediate NK cell help for Th1 and CTL responses: two-signal requirement for the induction of NK cell helper function. *J Immunol*, 171(5), 2366-73.

319. Krejčová, D. et al. (2009). Modulation of cell proliferation and differentiation of human lung carcinoma cells by the interferon- $\alpha$ . *General Physiology and Biophysics*, 28(3), 294–301.
320. Vila-del Sol, V., Punzón, C., & Fresno, M. (2008). IFN- $\gamma$ -induced TNF- $\alpha$  expression is regulated by interferon regulatory factors 1 and 8 in mouse macrophages. *Journal of immunology*, 181(7), 4461–4470.
321. Yang, M. et al. (2018). Lower expression level of IL-33 is associated with poor prognosis of pulmonary adenocarcinoma. *PLoS One*, 13(3).
322. Aggarwal, S. et al. (2002). IL-23 Promotes a Distinct CD4 T Cell Activation State Characterized by the Production of Interleukin-17. *Journal of Biological Chemistry*, 278(3), 1910–14.
323. Zaidi, M. R., & Merlino, G. (2011). The two faces of interferon- $\gamma$  in cancer. *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research*, 17(19), 6118–24.
324. Karachaliou, N. et al. (2018). Interferon gamma, an important marker of response to immune checkpoint blockade in non-small cell lung cancer and melanoma patients. *Therapeutic advances in medical oncology*, 10, 1758834017749748.
325. Fehrenbacher, L. et al. (2016). Atezolizumab versus docetaxel for patients with previously treated non-small-cell lung cancer (POPLAR): a multicenter, open-label, phase 2 randomized controlled trial. *The Lancet*, 387(10030), 1837–1846.
326. Miranda, O. J. (2018). Modulating ER and PPAR Pathways in Tumor Cells: The Effect on Macrophage Activation State and Pro- Tumor Function (Orden No. 10826001) [Tesis de maestría, Faculty of the Graduate School of the University of Minnesota]. Disponible en ProQuest Dissertations & Theses Global; ProQuest One Academic. (2109012971).
327. Bihl, M. et al. (1998). Proliferation of Human Non-Small-Cell Lung Cancer Cell Lines: Role of IL-6. *American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology*, 19(4), 606–12.
328. De Oliveira, C. M. et al. (2011). Citocinas y dolor. *Rev. Bras. Anesthesiol.*, 61(2), 138-142.
329. Derin, D. et al. (2008). Serum levels of apoptosis biomarkers, surviving and TNF- $\alpha$  in non-small cell lung cancer. *Lung Cancer*, 59(2), 240–245.
330. Gong, K. et al. (2018). TNF-driven adaptive response mediates resistance to EGFR inhibition in lung cancer. *Journal of Clinical Investigation*, 128(6), 2500-2518.
331. Sui, X. et al. (2020). Prediction of clinical outcome in locally advanced non-small cell lung cancer patients treated with chemoradiotherapy by plasma markers. *Frontiers in Oncology*, 10, 625911.
332. Boldrini, L. et al. (2000). Tumor necrosis factor- [alpha] and transforming growth factor- [beta] are significantly associated with better prognosis in non-small cell lung carcinoma: putative relation with BCL -2-mediated neovascularization. *The British Journal of Cancer*, 83(4), 480-6.
333. Su, C. et al. (2011). Serum cytokine levels in patients with advanced non-small cell lung cancer: correlation with treatment response and survival. *Medical Oncology*, 28(4), 1453-1457.
334. Koufos, N. et al. (2013). Modulation of peripheral immune responses by paclitaxel-ifosfamide-cisplatin chemotherapy in advanced non-small-cell lung cancer. *Journal of Cancer Research & Clinical Oncology*, 139(12), 1995-2003.
335. Sautès-fridman, C. et al. (2011). Tumor microenvironment is multifaceted. *Cancer and Metastasis Reviews*, 30(1), 13-25.
336. Shang, G. S., Liu, L. & Qin, Y. W. (2017). IL-6 and TNF- $\alpha$  promote metastasis of lung cancer by inducing epithelial-mesenchymal transition. *Oncology letters*, 13(6), 4657–4660.
337. Tang, H. et al. (2018). Clinical significance of combined detection of interleukin-6 and tumor markers in lung cancer. *Autoimmunity*, 51(4), 1–8.
338. Sato, T. et al. (2011). Interleukin 10 in the tumor microenvironment: a target for anticancer immunotherapy. *Immunol Res.*, 51(2-3), 170-82. doi: 10.1007/s12026-011-8262-6.) (De Oliveira, C. M. et al. (2011). Citocinas y dolor. *Rev. Bras. Anesthesiol.*, 61(2), 138-142.
339. Kishimoto, T. et al. (1992). Interleukin-6 and its receptor: a paradigm for cytokines. *Science*, 258(5082), 593–97.
340. Hodge, D. R., Hurt, E. M. & Farrar, W. L. (2005). The role of IL-6 and STAT3 in inflammation and cancer. *European Journal of Cancer*, 41(16), 2502–2512.
341. Sizhi, P. G. et al. (2007). Mutations in the EGFR kinase domain mediate STAT3 activation via IL-6 production in human lung adenocarcinomas. *J Clin Invest.*, 117(12), 3846-3856.
342. Bichsel, C. A. et al. (2017). Increased PD-L1 expression and IL-6 secretion characterize human lung tumor-derived perivascular-like cells that promote vascular leakage in a perfusable microvasculature model. *Scien Rep*, 7(1), 10636.
343. De Vita, F. et al. (1998). Serum levels of interleukin-6 as a prognostic factor in advanced non-small cell lung cancer. *Oncol Rep.*, 5(3), 649-652. PMID: 9538169.
344. Shintani, Y. et al. (2016). IL-6 Secreted from Cancer-Associated Fibroblasts Mediates Chemoresistance in NSCLC by Increasing Epithelial-Mesenchymal Transition Signaling. *Journal of Thoracic Oncology*, 11(9), 1482-1492.

345. Silva, E. M. et al. (2017). High systemic IL-6 is associated with worse prognosis in patients with non-small cell lung cancer. *PloS one*, 12(7), e0181125.
346. Lan, X., Lan, T. & Faxiang, Q. (2015). Interleukin-10 promoter polymorphism and susceptibility to lung cancer: a systematic review and meta-analysis. *International journal of clinical and experimental medicine*, 8(9), 15317–15328. PMID: 26629021.
347. Vahl, J. M. et al. (2017). Interleukin-10-regulated tumour tolerance in non-small cell lung cancer. *The British Journal of Cancer*, 117(11), 1644-1655.
348. Mirlekar, B., & Pylayeva-Gupta, Y. (2021). IL-12 Family Cytokines in Cancer and Immunotherapy. *Cancers*, 13(2), 167.
349. Kelm, N. E. et al. (2016). The role of IL-29 in immunity and cancer. *Critical reviews in oncology/hematology*, 106, 91–98.
350. Kaminska, J. et al. (2006). Pretreatment Serum Levels of Cytokines and Cytokine Receptors in Patients with Non-Small Cell Lung Cancer, and Correlations with Clinicopathological Features and Prognosis. *Oncology*, 70(2), 115–125.
351. Homey, B., Müller, A. & Zlotnik, A. (2002). Chemokines: agents for the immunotherapy of cancer? *Nat Immunol*, 2(3), 175-84.
352. Langrish, C. L. et al. (2004). IL-12 and IL-23: master regulators of innate and adaptive immunity. *Immunological Reviews*, 202(1), 96–105.
353. Nguyen, T., Urban, J., & Kalinski, P. (2014). Therapeutic cancer vaccines and combination immunotherapies involving vaccination. *ImmunoTargets and Therapy*, 3, 135-150.
354. Zhang, X. et al. (2014). Prognostic significance of interleukin 17 in cancer: a meta-analysis. *International journal of clinical and experimental medicine*, 7(10), 3258–3269.
355. Migdalska-Sęk, M. et al. (2020). Evaluation of the relationship between the IL-17A gene expression level and regulatory miRNA-9 in relation to tumor progression in patients with non-small cell lung cancer: a pilot study. *Molecular Biology Reports*, 47(1), 583-592.
356. Pan, B. et al. (2015). Interleukin-17 levels correlate with poor prognosis and vascular endothelial growth factor concentration in the serum of patients with non-small cell lung cancer. *Biomarkers*, 20(4), 232–239.
357. Wu, Z. et al. (2019). IL-17A/IL-17RA promotes invasion and activates MMP-2 and MMP-9 expression via p38 MAPK signaling pathway in non-small cell lung cancer. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 455(1-2), 195-206.
358. Rovina, N. et al. (2011). VEGF and IL-18 in induced sputum of lung cancer patients. *Cytokine*, 54(3), 277–281.
359. Zhang, W. et al. (2019). Genetic polymorphisms of IL-10, IL-18 and IL12B are associated with risk of non-small cell lung cancer in a Chinese Han population. *International Immunopharmacology*, 77, 105938.
360. Jia, Y. et al. (2016). The interleukin-18 gene promoter -607 A/C polymorphism contributes to non-small-cell lung cancer risk in a Chinese population. *OncoTargets and Therapy*, 9, 1715-19.
361. Xiong, D. et al. (2019). Antitumor activity of interleukin-18 on A549 human lung cancer cell line. *Journal of Cancer Research and Therapeutics*, 15(7), 1635-1641.
362. Timperi, E. et al. (2017). IL-18 receptor marks functional CD8+ T cells in non-small cell lung cancer. *Oncolmmunology*, 6(7).
363. Lasithiotaki, I. et al. (2018). NLRP3/Caspase-1 inflammasome activation is decreased in alveolar macrophages in patients with lung cancer. *PLoS One*, 13(10).
364. Baird, A. M. et al. (2013). IL-23 is pro-proliferative, epigenetically regulated and modulated by chemotherapy in non-small cell lung cancer. *Lung Cancer*, 79(1), 83-90.
365. Lankford, C. S. R. (2003). A unique role for IL-23 in promoting cellular immunity. *Journal of Leukocyte Biology*, 73(1), 49–56.
366. Langowski, J. et al. (2006). IL-23 promotes tumour incidence and growth. *Nature*, 442(7101), 461–465.
367. Liu, D. et al. (2020). Prognostic value of serum soluble interleukin-23 receptor and related T-helper 17 cell cytokines in non-small cell lung carcinoma. *Canc Scien*, 111(4), 1093-1102.
368. Sun, M. et al. (2018). Gram-negative bacteria facilitate tumor progression through TLR4/IL-33 pathway in patients with non-small-cell lung cancer. *Oncotarget*, 9(17), 13462–13473.
369. Larsen, K. et al. (2018). The Role of IL-33/ST2 Pathway in Tumorigenesis. *Intern. Jour. of Mol. Scien*. 19(9).
370. Feng, Y. et al. (2016). Expression and clinical significance of IL-33 in patients with non-small cell lung cancer. *Chinese Journal of Cellular and Molecular Immunology*, 32(6), 808-811.
371. Wang, K. et al. (2017). IL-33 blockade suppresses tumor growth of human lung cancer through direct and indirect pathways in a preclinical model. *Oncotarget*, 8(40), 68571–82.
372. Yang, Z. et al. (2018). Interleukin-33 enhanced the migration and invasiveness of human lung cancer cells. *OncoTargets and Therapy*, 11, 843-849.
373. Hu, L. et al. (2013). Serum IL-33 as a diagnostic and prognostic marker in non- small cell lung cancer. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 14(4), 2563-2566.