

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

**INMUNOTERAPIA EN CÁNCER DE PERROS Y GATOS:
ANTICUERPOS MONOCLONALES COMO TERAPIA
COMPLEMENTARIA: ESTUDIO DE REVISIÓN**

TESIS:

**PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
MÉDICA VETERINARIA ZOOTECNISTA**

PRESENTA:

ERIKA ARROYO LEÓN

ASESOR:

MVZ PhD ALEJANDRO CERVANTES ARIAS

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.

DEDICATORIA

-A mi tía Leticia León quien estuvo al pendiente de mí hasta el último día, me inculcó valor y deseo de superación y quien fuera la mayor inspiración para realizar este trabajo.

-A la Familia Zárraga, en especial a Consuelo León e Iliana Zárraga, muchas gracias por todo su amor, apoyo y dedicación día con día.

-A Paulina Macías, a quien agradezco con el corazón el haber coincidido en esta vida y quien me ha brindado su amor y apoyo incondicional, acompañándome de la mano en todo momento. Te agradezco con el alma el ser mi compañera de vida y el que me des fuerza todos los días para seguir adelante.

-A mi abuela Margarita Sánchez por ser la abuelita más comprensiva, amorosa, sabia y fuerte.

-A mi mamá Margarita León y a mis hermanas Brenda Álvarez y Daniela Álvarez que siempre están presentes.

AGRADECIMIENTOS

-A mi asesor el MVZ PhD Alejandro Cervantes Arias por creer desde un inicio en este proyecto, por ser tan paciente, tolerante, comprensivo y por compartir conmigo sus conocimientos y experiencias.

-A mi compañera de vida y MVZ Paulina Macías Hernández por ayudarme a concluir este trabajo realizando la modificación de las imágenes incluidas en el y sobre todo por siempre estar a mi lado apoyándome en los momentos en los que más la necesito.

-A la MVZ. Esp. Diana Sánchez Castro a quien admiro y estuvo al pendiente de la realización de este trabajo.

-A la MVZ. Esp. Angelina Gutiérrez Barroso quien me llevo a tener mi primer acercamiento con los pacientes oncológicos, quien ha compartido sus conocimientos conmigo y a quien admiro mucho.

-A “Mailo” el mejor perro del mundo, quien además de acompañarme día y noche, es mi motivo para continuar formándome profesionalmente.

CONTENIDO

GLOSARIO	1
RESUMEN	8
INTRODUCCIÓN	9
REVISIÓN SISTEMÁTICA	12
Capítulo 1. Biología y patogénesis del cáncer	13
1.1. Ciclo celular	13
1.2. Biología tumoral y metástasis	14
1.2.1. Carcinogénesis	15
1.2.2. Genes de reparación de ADN	20
1.2.3. Factores epigenéticos	22
1.3. Muerte celular programada o apoptosis	22
1.4. Etiología del cáncer	23
1.4.1. Síndromes hereditarios de cáncer	24
1.4.2. Factores químicos, físicos y hormonales	25
1.4.3. Virus carcinogénicos	27
1.5. Marcas distintivas del cáncer.....	27
1.5.1. Señalización proliferativa sostenida	29
1.5.2. Evasión de supresores de crecimiento	29
1.5.3. Evasión de la apoptosis	30
1.5.4. Potencial replicativo ilimitado (inmortalidad)	30
1.5.5. Inducción de angiogénesis.....	31

1.5.6. Invasión tisular y metástasis	32
1.5.7. Inestabilidad genómica y mutaciones	35
1.5.8. Inflamación promotora de tumores	36
1.5.9. Reprogramación en el metabolismo energético	39
1.5.10. Evitar destrucción por el sistema inmune.....	40
1.5.11. Contribuciones del microambiente tumoral	42
Capítulo 2. Respuesta inmunológica a tumores	44
2.1. Características de la respuesta inmunológica	44
2.2. Presentación de Antígeno - Complejo principal de histocompatibilidad (MHC)	45
2.3. Mecanismos de reconocimiento de daño	48
2.3.1. Patrones moleculares asociados a daño o DAMP (<i>Damage-associated molecular patterns</i>)	49
2.3.2. Receptores de reconocimiento de patrones o PRR	49
2.4. Inmunidad Adaptativa o específica.....	50
2.5. Activación de linfocitos T	52
Capítulo 3. Respuesta inmunológica a tumores	54
3.1. Inmunovigilancia e inmunoedición.....	54
3.1.1. Fase de eliminación	55
3.1.2. Fase de equilibrio.....	55
3.1.3. Fase de escape	56
3.2. Antígenos asociados a tumores y antígenos específicos de tumor	57
3.3 Mecanismos de evasión inmunitaria.....	60
3.3.1. Inducción de células T reguladoras por el tumor	61
3.3.2. Alteración de la activación y función de las células dendríticas	62
3.3.3. Producción de citocinas inmunosupresoras.....	55

3.3.4. Capacidad de las células tumorales para evadir el sistema inmune.....	68
3.4. Respuesta inmune innata frente a tumores	70
3.4.1. Linfocitos citolíticos o “asesinos” naturales (NK).....	71
3.4.2. Macrófagos	73
3.5. Respuesta inmune adaptativa frente a tumores	75
3.6. Linfocitos Treg	78
Capítulo 4: Inmunoterapia antitumoral.....	81
4.1. Antecedentes.....	82
4.2. Inmunoterapia no específica: Utilización de terapia recombinante con citocinas.....	86
4.2.1. Interleucina-2 (IL-2).....	87
4.2.2. Interleucina 12 (IL-12).....	88
4.2.3. Interleucina 15 (IL-15).....	90
4.2.4. Interferones (IFNs).....	91
4.3. Inmunoterapia no específica: utilización de modificadores de la respuesta biológica (BRM).....	94
4.3.1 Superantígenos (SAGs).....	97
4.3.2. Tripéptido de muramyl encapsulado en liposoma (L-MTP-PE).....	97
4.3.3 Virus oncolíticos.....	98
4.3.4. Complejos liposomas-ADN	99
4.3.5. Receptores tipo toll (TLR).....	99
4.4. Inmunoterapia específica basada en vacunas antitumorales y células dendríticas	99
4.4.1. Vacunas de células tumorales completas y lisados celulares.....	100
4.4.2. Vacunas con antígenos tumorales específicos.....	101
4.4.3. Inmunización contra antígenos tumorales usando ADN plasmídico ...	102

4.4.4. Vacunación mediante uso de vector viral.....	102
4.4.5. Vacunación mediante uso de células dendríticas	104
4.5. Inmunoterapia utilizando transferencia adoptiva de células T	106
4.6. Terapia celular adoptiva con células asesinas activadas por linfocina (T-LAK)	110
4.7. Inmunoterapia utilizando transferencia adoptiva de células NK	111
4.8. Inmunoterapia con linfocitos genéticamente modificados (Chimeric antigen receptor CAR).....	111
4.9. Inmunoterapia con anticuerpos monoclonales y anticuerpos monoclonales conjugados	116
4.9.1. Estructura de los anticuerpos.....	117
4.9.2. Regiones variables	117
4.9.3. Regiones constantes	118
4.9.4. Anticuerpos monoclonales (MAbs)	120
4.9.5. Quimerización y humanización de anticuerpos monoclonales murinos	121
4.9.6 Generación de anticuerpos monoclonales humanos	121
4.9.7. Mecanismos de acción de los anticuerpos monoclonales dependientes de Fc.....	122
4.9.8. Mecanismos de acción de los anticuerpos monoclonales independientes de Fc.....	123
4.9.9. Anticuerpos modificados para el desarrollo de nuevas funciones.....	123
4.9.10. Anticuerpos monoclonales antitumorales.....	125
4.10. Conclusión.....	129
Capítulo 5: Toxicidad y respuesta asociada a las inmunoterapias en humanos	132
5.1. Efectos adversos inespecíficos	133

5.2. Efectos adversos específicos	133
5.3. Síndrome de liberación de citocinas (CRS).....	133
5.3.1. Agentes causantes de CRS	135
5.4. Toxicidad asociada a inhibidores de puntos de control (checkpoints) CTLA-4, PD-1 y PD-2	135
5.5. Toxicidad asociada a inhibidores de la angiogénesis.....	138
5.6. Toxicidad asociada a terapia adoptiva con linfocitos CAR-T	139
5.7. Toxicidad asociada a CAR-T	139
5.7.1. Clasificación de efectos adversos.....	141
5.8. Toxicidad asociada a inmunoterapia con citocinas.....	145
5.9. Respuesta, sobrevida y calidad de vida asociada a la inmunoterapia.....	146
5.10. Inmunoterapias autorizadas por la FDA (Food and Drug Administration) y USDA (United States Department of Agriculture) en perros y gatos	151
5.11. Comparación de la respuesta a la inmunoterapia contra otras terapias oncológicas convencionales	155
5.12. Conclusión.....	157
REFERENCIAS	159

CUADROS

Cuadro 1.1. Síndromes hereditarios de cáncer	24
Cuadro 3.1. Antígenos tumorales	58
Cuadro 3.2. Actividades de la principales citocinas para la inmunoterapia tumoral	64
Cuadro 4.1. Inmunoterapia pasiva, activa, específica y no específica.	85
Cuadro 4.2. Modelos y sistemas de inmunoterapia de uso común	129
Cuadro 4.3. Terapias aprobadas para su uso en medicina veterinaria en EEUU	131

Cuadro 5.1. Sistemas de clasificación CRS en terapia con CAR-T	142
--	-----

FIGURA

Figura 1.1. Capacidades adquiridas del cáncer	28
Figura 1.2. Características emergentes.	28
Figura 1.3. Proceso transición epitelial-mesenquimal (EMT)	33
Figura 1.4. Contribución del proceso transición epitelial-mesenquimal en la progresión del cáncer.....	33
Figura 1.5. Mecanismos genéticos y epigenéticos de la inestabilidad genética....	36
Figura 1.6. Vías que conectan la inflamación y el cáncer	38
Figura 2.1. Ruta endógena. Vía de presentación del antígeno de la clase I del MHC.....	46
Figura 2.2. Ruta exógena. Vía de presentación del antígeno de la clase II del MHC	47
Figura 2.3. Presentación cruzada de antígenos a los linfocitos T CD8+	48
Figura 4.1. Generación de una respuesta antitumoral con diferentes categorías de intervención terapéutica.	84
Figura 4.2. Vacunas de células dendríticas	106
Figura 4.3. Terapia adoptiva con linfocitos T	108
Figura 4.4. Estructuras que integran un CAR	113
Figura 4.5. Las tres generaciones de CAR	114
Figura 4.6. Estructura de una molécula de anticuerpo.....	120
Figura 4.7. Evolución de los Anticuerpos monoclonales	122

GLOSARIO

ABL	Protooncogen no receptor de tirosinaquinasa
ADN	Ácido Desoxirribonucleico
ADNp	Ácido Desoxirribonucleico plasmídico
ARN	Ácido Ribonucleico
ARNm	Ácido Ribonucleico mensajero
ATP	Adenosin Trifosfato
APC	Célula presentadora de antígeno
AP-1	Proteína de activación 1
ASCO	The American Society Of Clinical Oncology
Ac	Anticuerpo
ADCC	Antibody Dependent Cell-Mediated Cytotoxicity
ALT	Alanina Aminotransferasa
AST	Aspartato Aminotransferasa
ANG-2	Angiopoyetina 2
ARG-1	Arginasa 1
BCL-2	B-cell lymphoma 2
BCR	Receptor de Linfocito B
BER	Reparación de la escisión de bases
BHD	Birt-Hogg-Dube
BRM	Modificador de la respuesta biológica
BCG	Bacilo Calmette-Guérin
BsAbs	Anticuerpos Biespecíficos
BiTE	Bispecific T cell engager
bFGF	Factor de crecimiento fibroblástico básico
CD	Cluster o Cúmulo de diferenciación
CDK	Cinasas dependientes de ciclinas
CTVT	Tumor Venero Transmisible Canino
COX-2	Ciclooxigenasa 2
CAF	Fibroblastos asociados a tumor
CLIP	Péptido de la cadena invariante de clase II
CTL	Linfocito T citotóxico
CTLA-4	Antígeno 4 de linfocito T citotóxico

CCR5	Receptor de quimiocina 5
CCL1	Ligando de quimiocina 1
CAR	Receptor de antígeno quimérico
CAR-T	Receptor de antígeno quimérico de linfocito T
CpG ODN	Oligodesoxinucléotido
CDV	Virus de distemper canino
CLDC	Complejos catiónicos de liposomas-ADN
CHOP	Vincristina-Ciclofosfamida-Doxorrubicina- Prednisona
CG	Cancer-germline
CRISPR	Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats
CTAs	Cancer-testis antigen (CTAs)
CDR	Regiones determinantes de complementariedad
CRS	Síndrome de liberación de citocinas
CID	Coagulación intravascular determinada
CPK	Creatina fosfoquinasa
CTCAE	Common Terminology Criterial For Adverse Events
cRESIST	Canine Response Evaluation Criterial in Solid Tumors
cDNA	ADN complementario
DBS	Cortes de doble hebra de ADN
DAMP	Patrones moleculares asociados a daño
ER- β	Receptor de estrógeno beta
EGF	Factor de crecimiento epidérmico
EGFR	Receptor de factor de crecimiento epidérmico
EMT	Transición epitelial-mesenquimal
EEG	Electroencefalograma
EE	Enfermedad estable
FIV	Virus de inmunodeficiencia felina
FGF	Factor de crecimiento fibroblástico
FR-4	Receptor de folato 4
FOS	Protooncogen, subunidad del factor de transcripción AP-1
FDA	Food and Drug Administration

FeGM-CSF	Factor estimulador de colonias de granulocitos-macrófagos felinos
Fab	Fragment antigen-binding
Fc	Fragmento cristalizante
FoxP3	Forkhead Box P3
GFs	Factor de crecimiento mitogénico soluble
GF	Factor de crecimiento
GM-CSF	Factor estimulador de colonias de granulocitos-macrófagos
GITR	Proteína relacionada con TNFR inducida por glucocorticoides
GP100	Glicoproteína 100
GAGE	Gen de la familia de los antígenos cáncer/testículo (CTAs)
HSA	Hemangiosarcoma
HIF-1 α	Factor 1 alfa inducible por hipoxia
HER-2	Receptor epidérmico humano 2
HR	Reparación homóloga
hCG LD1 100	Gonadotropina coriónica humana
hGP100	Glicoproteína 100 humana
huTyr	Gen de tirosinasa humana
IM	Intramuscular
IV	Intravenoso
IGF	Factor de crecimiento similar a la insulina
IDO	Indolamina 2-3 dioxigenasa
ICOS	Coestimulador inducible de células T
ISPOR	Sociedad Internacional de Farmocoeconomía e Investigación de Resultados
Ig	Inmunoglobulina
irAE	Eventos adversos relacionados con el sistema inmune
iDC	Células dendríticas inmaduras
iNOS	Especies de óxido nítrico sintasa inducible

JUN	Protooncogen, subunidad del factor de transcripción AP-1
KRAS	Protooncogen GTPasa
LPS	Lipopolisacárido
LCR	Líquido cefaloraquideo
LAG-3	Gen activador de linfocitos 3
LeVF	Virus de leucemia felina
MART-1/MELAN-A	Antígeno de diferenciación de melanocitos
MAGE-A3	Antígeno 3 asociado a melanoma
MAGE-A12	Antígeno 12 asociado a melanoma
MYC	Protooncogen, factor de transcripción BHLH
MEN -1	Gen codificador de proteína menina
MMR	Reparación de errores de emparejamiento
MAC	Molécula de adhesión celular
MMP	Metaloproteinasa de matriz
MDSCS	Células supresoras derivadas de mieloides
MHC	Complejo mayor de histocompatibilidad
MHC-I	Complejo mayor de histocompatibilidad tipo I
MHC-II	Complejo mayor de histocompatibilidad tipo II
MaT	Microambiente tumoral
MEC	Matriz extracelular
M1	Macrófago tipo 1
M2	Macrófago tipo 2
MIC-A	Proteína de secuencia A relacionada con polipéptidos de MHC de clase I
MIC-B	Proteína de secuencia B relacionada con polipéptidos de MHC de clase I
MUC-16	Proteína de superficie celular asociada a mucina 16
MAb	Anticuerpo monoclonal
MAS	Síndrome de activación de macrófagos
MDP	Dipéptido de muramil
MTP-PE	Tripéptido de muramil fosfatidiletalonamina
miRNA	MicroARN
NF1	Proteína neurofibromina 1

NF2	Proteína neurofibromina 2
NER	Reparación de la escisión de nucleótidos
NHEJ	Reparación no homologa
NDV	Virus de Newcastle
NF-Kb	Nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of B cells
NY-ESO-1	New York esophageal squamous cell carcinoma 1, cancer-testis antigen (CTAs)
NHS-IL12	Proteína reguladora de remodelación de actina
NE	No evaluable
NO	Óxido nítrico
OSA	Osteosarcoma
PDGF	Factor de crecimiento derivado de plaquetas
PDGFR	Receptor de factor de crecimiento derivado de plaquetas
PET-CT	Tomografía computarizada por emisión de positrones
PAMP	Patrones moleculares asociados a patógeno
PRR	Receptores de reconocimiento de patrón
PD-1	Proteína de muerte celular programada 1
PD-L1	Ligando de proteína de muerte celular programada 1
PBMC	Células mononucleares de sangre periférica
PTT	Tiempo parcial de tromboplastina
PT	Tiempo de protombina
PE	Progresión de la enfermedad
PMEG	2-fosfonilmetoxetil guanina
RB1	Gen de retinoblastoma 1
RAF	Protooncogen, Serina/Treonina cinasa
RAS	Gen activador de GTPasa
RESIST	Response Evaluation Criterial in Solid Tumors
RCND	Cistoadenocarcinoma renal y dermatofibrosis nodular
RC	Respuesta completa
RP	Respuesta parcial
ROS	Especies reactivas de oxígeno
RoC	Reporte de carcinógenos
RE	Retículo endoplasmico

RM	Resonancia Magnética
RORyT	Factor de transcripción miembro de la familia de receptores para el ácido retinoico
STAT3	Transductor de señal y activador de transcripción 3
STAT1	Transductor de señal y activador de transcripción 1
SISECM	Matriz extracelular de la submucosa de intestino delgado de porcino
STS	Sarcoma de tejidos blandos
SIDA	Síndrome de inmunodeficiencia adquirida
S100A9	Proteína fijadora de calcio A9
SRC	Protooncogen, no receptor de tirosina cinasa
SC	Subcutáneo
SOCS2	Proteína supresora de citocina 2
SNC	Sistema nervioso central
SAGs	Superantígenos
scFv	Fragmento variable de la cadena sencilla de anticuerpo
TP53	Gen supresor de tumores/gen de la proteína tumoral p53
TC	Tomografía Computarizada
TTS	Superantígenos dirigidos a tumor
TGF- β	Factor de crecimiento transformante beta
TNF	Factor de necrosis tumoral
TNF- α	Factor de necrosis tumoral alfa
TPS-1	Trombospondina 1
TAM	Macrófagos asociados a tumor
TCR	Receptor de linfocito T
TLR	Receptor tipo Toll
TAA	Antígenos asociados a tumor
TSA	Antígenos específicos de tumor
T-LAK	Células asesinas activadas por linfocinas
TALEN	Transcription Activator-like Effector Nucleases
TNFSF15	Miembro 15 de la superfamilia del factor de necrosis tumoral

TrAbs	Anticuerpos trispecifico
TCDD	Tetraclorodibenzo-p-dioxina diclorofenoxiacético
UV	Ultra violeta
USDA	United States Department of Agriculture
VSV	Virus de la estomatitis vesicular
VPH	Virus de papiloma humano
VEGF	Factor de crecimiento vascular endotelial
VIH	Virus de inmunodeficiencia humana
VHL	Gen supresor de tumores de Von Hippel-Lindau
ViH	Value in Health
vWF	Factor de Von Willebrand
WT1	Antígeno 1 de tumor de Wilms

RESUMEN

ARROYO LEÓN ERIKA. Inmunoterapia en cáncer de perros y gatos: Anticuerpos monoclonales como terapia complementaria: Estudio de revisión (Bajo la dirección de MVZ PhD Alejandro Cervantes Arias).

El presente estudio de revisión tiene como objetivo compilar información científica actualizada, sintetizada y organizada, de fuentes médicas especializadas, para dar a conocer los diferentes tipos de inmunoterapias existentes en humanos y aquellas que se están llevando a cabo en pequeñas especies, para que en un futuro en México pueda implementarse esta modalidad de tratamiento complementario en nuestros pacientes oncológicos.

El avance científico y el desarrollo de protocolos inmunoterapéuticos en animales de compañía con cáncer, están en auge hoy en día en otros países, resultando en un mayor tiempo de supervivencia y lo que es mejor, de calidad de vida. Si México lo implementara podría proporcionarse a estos pacientes que se consideran un miembro más de la familia.

Actualmente, el cáncer en animales de compañía es más frecuente, ya sea en animales jóvenes, adultos o gerontes, por lo que el diagnóstico y tratamiento individualizado de cada paciente oncológico se está convirtiendo en una práctica fundamental en la clínica de pequeñas especies. Las neoplasias son de gran interés para el médico veterinario, los clínicos, patólogos e investigadores, ya que, los humanos responsables de estos pacientes se preocupan más por sus animales de compañía y muestran gran interés en que reciban un tratamiento curativo o que mejore su expectativa de vida, y no simplemente lo que se realizaba anteriormente, como cirugía radical o eutanasia. Además, los pacientes oncológicos pueden ser excelentes modelos animales de estudio que proporcionan conocimientos importantes con relación a la causa y los tratamientos del cáncer en humanos.

INTRODUCCIÓN

La inmunoterapia oncológica está basada principalmente en el aprovechamiento del propio sistema inmune del paciente, para ayudar a rechazar la presencia de un tumor maligno (Linette & Carreno, 2016).

Un artículo publicado en el año 2007 por Biller B. describe cómo un médico cirujano de los años 1800s crea una “vacuna” que ayudaría a que los pacientes oncológicos tuvieran una mayor sobrevivencia después de provocarles una infección secundaria. A continuación un extracto del artículo original:

“A finales de 1800s, el cirujano y médico William Coley, observó que los pacientes con cáncer y que desarrollan infecciones bacterianas secundarias, sobreviven mayor tiempo que los que no presentan infección. Razonando que la estimulación del sistema inmune podía retardar el crecimiento tumoral, Coley desarrolló una “vacuna” bacteriana consistente en colonias muertas de *Streptococcus pyogenes* y *Serratia marcescens* (“Toxina de Coley”) que usó para tratar personas con sarcomas de tejidos blandos y hueso.

A pesar de un notable éxito en muchos pacientes, incluyendo remisiones completas y duraderas, la frecuente aparición de efectos secundarios y el considerable escepticismo de otros médicos, provocaron la interrupción de este enfoque. El trabajo de Coley, sin embargo, sentó las bases para la modulación no específica de la respuesta inmune como un enfoque para el tratamiento del cáncer. El objetivo de la inmunoterapia es involucrar a las armas de la respuesta inmune innata y adaptativa en el reconocimiento y ataque de las células malignas.” (Biller, 2007).

El tema es de gran relevancia debido a que todo ser vivo cuenta con sistema inmune de suma importancia para evitar el deterioro de la salud; proporciona las herramientas necesarias para continuar con un buen funcionamiento y retomar su estado de homeostasis.

Es importante saber que el cuerpo humano y animal funciona como una sociedad o ecosistema, son organismos pluricelulares en donde los miembros individuales son células que se reproducen mediante división celular y se organizan en conjuntos colaborativos llamados tejidos, que constituyen una comunidad. Sin

embargo, esta sociedad o ecosistema cuenta con una regla muy peculiar, el “suicidio”, en donde todos los linajes de células somáticas están comprometidos a morir (Alberts et al., 2015a).

Para coordinar el buen funcionamiento y comportamiento, las células envían reciben, interpretan y elaboran un conjunto de señales que sirven como controles sociales, como resultado cada célula se comporta de manera socialmente responsable: descansando, creciendo, dividiéndose, diferenciándose, proliferando o muriendo, según sea la necesidad de esa sociedad, con lo cual se logra el desarrollo en el equilibrio del cuerpo (Alberts et al., 2015a; Biller, 2007). Cuando este equilibrio se rompe, las alteraciones moleculares perturban esta armonía y significan grandes problemas para la sociedad multicelular (Alberts et al., 2015a). El resultado de este desequilibrio producirá un desorden social que puede dar paso a la generación de células malignas o cancerosas.

Las **características** de las células malignas o cancerosas que les permiten producir y mantenerse como tumores, son las siguientes:

1. Señalización proliferativa sostenida
2. Evasión de supresores de crecimiento
3. Evasión de la apoptosis
4. Potencial replicativo ilimitado (inmortalidad)
5. Inducción de angiogénesis
6. Activación de la invasión tisular y metástasis
7. Inestabilidad genómica y mutaciones
8. Inflamación promotora de tumores
9. Reprogramación en el metabolismo energético
10. Evitar destrucción por el sistema inmune
11. Contribuciones del microambiente tumoral

(Hanahan & Weinberg, 2000, 2011; Modiano & Hyuk Kim, 2020).

Estas características, conocidas en inglés como *hallmarks del cáncer*, provocan que los tratamientos de elección como cirugía, quimioterapia y radiación no siempre sean efectivos cuando se implementan individualmente; por ello, la

inmunoterapia puede ser utilizada como terapia complementaria para mejorar el pronóstico, supervivencia y calidad de vida de los pacientes oncológicos (Hanahan & Weinberg, 2011).

Todo esto ha hecho que el médico veterinario se vea en la necesidad de actualizarse continuamente en esta área.

REVISIÓN SISTEMÁTICA

Se llevó a cabo una búsqueda exhaustiva de información que fue obtenida y recopilada de literatura publicada a partir del año 1956 hasta la fecha. Las fuentes de información incluyen libros, artículos científicos y revistas médicas arbitradas disponibles en internet, recabados de los buscadores “Google Scholar”, “Science Direct”, “Elsevier”, “PubMed”, “Veterinary Clinics of North America”, “Springer”, “Frontiers in Oncology”, “Wiley Online Library” y “British Small Animal Veterinary Association (BSAVA)” entre otras. Algunas de las palabras clave utilizadas fueron: “Immunotherapy” (inmunoterapia), “Dog” (perro), “Cat” (gato), “Oncology” (oncología), “Cancer” (cáncer), “Immune related adverse effects” (efectos adversos relacionados con el sistema inmune), “Interleukin” (interleucina), “Cancer vaccine” (vacuna contra el cáncer), “Immunosurveillance” (inmunovigilancia), “Cancer immunoediting” (inmunoección del cáncer), “Monoclonal antibodies” (anticuerpos monoclonales), “Carcinogens” (carcinógenos), “Hallmarks” (sellos), entre otras. En el último capítulo se mencionan y describen las inmunoterapias actualmente disponibles y aprobadas para el uso en pequeñas especies.

Capítulo 1. Biología y patogénesis del cáncer

“La razón por la que la investigación sobre el cáncer es un área tan atractiva es que para poder comprender cómo todo sale mal en el cáncer, primero tienes que entender cómo todo sale bien casi la mayor parte del tiempo”.

Gerard Evan

1.1. Ciclo celular

El ciclo celular es un proceso de fases ordenadas, que tiene como objetivo duplicar el ADN de los cromosomas y posteriormente segregar las copias para producir dos células hijas genéticamente idénticas; además de duplicar su genoma, la mayoría de las células también duplican sus orgánulos y macromoléculas (Alberts et al., 2015b).

El ciclo celular incluye las fases:

- G0: en donde las células quiescentes o en estado inactivo no han entrado en el ciclo celular. La mayoría de las células del cuerpo se encuentra en este estado, hasta que son estimuladas en respuesta a factores externos como factores de crecimiento y a moléculas de adhesión celular para iniciar entonces el ciclo celular, entrando en la fase G1.
- G1 (fase GAP1/ Presintética): durante esta fase la célula crece, sintetiza proteínas y energía en forma de ATP necesarias en preparación para la síntesis de ADN. Una vez que la célula ha progresado hasta el punto definitivo o punto de restricción, entonces la transición del ciclo celular se vuelve autónoma.
- Fase S (Síntesis): que es caracterizada por la replicación del ADN, requiere de 10 a 12 horas.
- G2 (fase GAP2/Premitótica): la célula crece, sintetiza proteínas y energía en forma de ATP, preparándose para la mitosis.

La suma de estas fases es conocida como periodo de preparación o interfase.

Las fases G1 (transición G1/S) y G2 (transición G2/M) son puntos de control (checkpoints) en el ciclo, en los cuales la célula evalúa si es apta para continuar o si es necesario efectuar correcciones necesarias.

Cada fase del ciclo celular depende de la activación adecuada y la culminación de la fase previa y el ciclo se detendrá en los lugares en los que exista falla en la función de algún gen esencial (Alberts et al., 2015b; Jorgensen & Haken, 2013; Kumar & Stricker, 2010; Maldonado Laguna & Meléndez Zajgla, 2013; Sodhi et al., 2008; Valdespino Gómez & Ortiz Muñiz, 2014).

- Fase M (Mitosis): es el periodo en donde existe la división nuclear, durante la cual los cromosomas copiados se distribuyen en un par de núcleos hijos y finalmente la división citoplasmática o citocinesis que produce dos células idénticas. Esta fase está dividida en cinco subetapas: profase, metafase, anafase, telofase y citocinesis.

El último punto de control M se presenta en esta fase de mitosis, durante la metafase, aquí la célula revisa si la repartición de cromosomas se hizo adecuadamente.

La progresión a lo largo del ciclo celular como los puntos de revisión están controlados por diferentes proteínas llamadas cinasas dependientes de ciclinas CDKs (Argyle et al., 2020; Jorgensen & Haken, 2013; Kumar & Stricker, 2010; Maldonado Laguna & Meléndez Zajgla, 2013; Sodhi et al., 2008; Valdespino Gómez & Ortiz Muñiz, 2014).

1.2. Biología tumoral y metástasis

Una característica común de la patogénesis del cáncer es el daño al genoma celular o alteración en la expresión de los genes que desregulan la estructura y función del gen; por esta razón se dice que el cáncer es una enfermedad del genoma (Cullen & Breen, 2017). En ciertos casos una sola mutación en un par de bases es suficiente para alterar un aminoácido, teniendo como consecuencia la alteración en la función de una proteína y aumentando de esa manera el riesgo para la transformación neoplásica. Mutaciones como: deleciones, inserciones o duplicación de segmentos del gen, así como cambio en la estructura del cromosoma, son causa de carcinogénesis (Cullen & Breen, 2017).

El cáncer se desarrolla cuando una célula evita o escapa a los mecanismos de control de crecimiento, proliferación y muerte, y como consecuencia la célula prolifera anormalmente, dando lugar a múltiples células alteradas que en el futuro conformaran un tumor.

Estas células transformadas no responden a las señales que, en condiciones normales, conducirían a su muerte después de cierto número de divisiones, por lo que adquieren característica de inmortalidad. Al mismo tiempo pierden su dependencia de los factores de crecimiento y con ello adquieren autonomía, multiplicándose sin sujeción a señales externas. También dejan de estar subordinadas a localización, desarrollan movilidad y desplazamiento; invadiendo tejidos circundantes, pudiendo alcanzar vasos sanguíneos y linfáticos. La habilidad que presentan estas células de dividirse sin control y su inmortalidad, le permiten aumentar sus posibilidades de transformarse en maligna. Migrando se establecen en distintas partes del cuerpo donde darán lugar a la formación de un nuevo tumor, llamado metástasis (Argyle et al., 2020; Herrera & Andonegui, 2013).

1.2.1. Carcinogénesis

Un tumor puede ser reconocido fenotípicamente ya que sus células muestran patrones de crecimiento anormales que ya no están bajo el control de mecanismos normales del crecimiento homeostático (Argyle et al., 2020).

La carcinogénesis es un proceso de varios pasos mediante el cual las células afectadas van acumulando cambios genéticos que finalmente las conducen a la expresión de su fenotipo maligno.

El cáncer es un conjunto de eventos causados por la interacción de múltiples factores físicos, químicos y biológicos, por lo que el proceso de carcinogénesis no es sencillo de comprender.

Este proceso presenta tres fases principales: inicio, promoción y progresión.

1. **Iniciación:** es un evento rápido que afecta el material genético de la célula en donde una o más mutaciones conducirán a que la célula escape del control homeostático del crecimiento. Si la célula no repara este daño, entonces los factores de promoción pueden hacer progresar a la célula hacia un fenotipo maligno (Argyle et al., 2020; Grant, 2013; Herrera

Montalvo & Santibañez, 2008; Kumar & Stricker, 2010; Moolgavkar & Luebeck, 2003; Valdespino Gómez, 2014a).

2. Promoción: es la expansión clonal de una célula iniciada como consecuencia de eventos que alteran la expresión génica. Es un proceso lento mediante el cual se acumulan otras alteraciones genéticas y que probable que nunca se manifiesten en la vida del individuo (Argyle et al., 2020; Grant, 2013; Herrera Montalvo & Santibañez, 2008; Kumar & Stricker, 2010; Moolgavkar & Luebeck, 2003; Valdespino Gómez, 2014a).
3. Progresión: en donde las células genéticamente alteradas continúan creciendo y proliferando, conduciendo así a la diseminación del tumor a sitios adyacentes y distales, concluyendo en metastatizar otras partes del cuerpo.

Durante esta etapa las células tumorales están sometidas a presiones de selección inmunológica y no inmunológica. Las células que son demasiado antigénicas serán destruidas por las células de defensa del individuo, mientras que las que tienen requerimientos reducidos de factor de crecimiento serán seleccionadas positivamente (Argyle et al., 2020; Grant, 2013; Herrera Montalvo & Santibañez, 2008; Kumar & Stricker, 2010; Moolgavkar & Luebeck, 2003; Valdespino Gómez, 2014a).

Las células normales con daño genético mueren, las células cancerosas con daño genético no mueren.

Cada etapa de la carcinogénesis resulta en la acumulación de cambios en el genoma celular que dará como resultado una ventaja de selección que impulsará la progresión hasta transformar de forma maligna a la célula (Argyle et al., 2020; Grant, 2013; Herrera Montalvo & Santibañez, 2008; Kumar & Stricker, 2010; Moolgavkar & Luebeck, 2003; Valdespino Gómez, 2014a).

Estos cambios que se presentan en la célula son causados por funcionamiento inadecuado de algunos grupos de genes llamados: oncogenes, genes supresores de tumores y genes de reparación del ADN, los cuales son culpables del daño genético.

Los protooncogenes (genes normales o genes de tipo salvaje) son componentes de la maquinaria de señalización que participan en funciones celulares relacionadas con el crecimiento, proliferación, diferenciación celular y apoptosis.

Se describieron como oncogenes celulares que no cuentan con el potencial transformador para causar tumores en su estado salvaje pero que pueden llegar a ser alterados para guiar a una neoplasia maligna (Argyle et al., 2020).

Sus productos codifican proteínas incluyendo citocinas y factores de crecimiento extracelular, receptores transmembranales de factores de crecimiento, cinasas citoplásmicas, y proteínas nucleares que intervienen en el control de la replicación del ADN. Estos productos pueden funcionar como factores de crecimiento o sus receptores, transductores de señales, factores de transcripción o como componentes del ciclo celular (Chastain & Pfeifer, 2016; Valdespino Gómez, 2014a).

Los protooncogenes presentan frecuentemente mutaciones y reordenamientos cromosómicos que los convierte en oncogenes como mutaciones puntuales por cambio de alguna base, traslocación u otro reordenamiento cromosómico, amplificación de una región específica del cromosoma, pérdida de material cromosómico por delección de secuencias o fragmentos de ADN, inserción de ADN exógeno y por expansión de secuencias repetitivas de nucleótidos debido a defectos en la reparación del ADN (Chastain & Pfeifer, 2016; Cullen & Breen, 2017; García Carrancá, 2013; Kumar & Stricker, 2010; Valdespino Gómez, 2014a).

Los oncogenes son homólogos celulares mutados de los protooncogenes y son los causantes del crecimiento celular autónomo en células cancerosas, se caracterizan por su capacidad de promover el crecimiento celular en ausencia de señales promotoras de crecimiento normales. Sus productos llamados oncoproteínas, son similares a los productos normales de los protooncogenes, excepto porque las oncoproteínas frecuentemente no presentan elementos reguladores internos importantes y su producción en células transformadas no depende de factores de crecimiento ni de otras señales externas. De esta manera el crecimiento celular se hace autónomo, libre de puntos de control y de la dependencia de señales externas.

Los productos de los oncogenes se agrupan en 2 grupos generales:

Un grupo induce proliferación celular continua y no regulada mediante inactivación de señales inhibitoras de crecimiento o por activación de genes que promueven el crecimiento, factores de crecimiento, vías de señalización intracelular u oncoproteínas nucleares (Chastain & Pfeifer, 2016; Cullen & Breen, 2017; García Carrancá, 2013; Kumar & Stricker, 2010; Valdespino Gómez, 2014a).

El otro grupo es aquel que inmortaliza las células rescatándolas de la senescencia y la apoptosis.

Otra clasificación divide a los productos de los oncogenes en cinco categorías basadas en el tipo de oncoproteína que codifican:

1. Transductores de señalización intracelular: ABL, RAF, RAS y SRC.
2. Factores de crecimiento como: factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF).
3. Receptores de factores de crecimiento: ER- β .
4. Factores de transcripción: MYC, JUN y FOS
5. Las ciclinas son una serie de proteínas que regulan la progresión a través del ciclo celular, sobre todo en la transición G1/S. Estas ciclinas están asociadas a enzimas denominadas cinasas dependientes de ciclinas (CDK).

Algunos de los oncogenes que más figuran son aquellos que codifican factores de crecimiento o sus receptores como: PDGF, PDGFR, EGF y EGFR; proteínas G como: KRAS, proteína-cinasas citoplasmáticas como: RAF y SRC o productos que afectan la apoptosis como: BCL-2.

Existe evidencia que indica que la mutación de un solo oncogén es insuficiente para la adquisición de un fenotipo maligno, totalmente transformado. La mayoría de las mutaciones de oncogenes son somáticas y por lo tanto es asociado a neoplasias esporádicas. En cambio algunos síndromes neoplásicos heredables se deben a mutaciones de la línea germinal en oncogenes (Chastain & Pfeifer, 2016; Cullen & Breen, 2017; García Carrancá, 2013; Kumar & Stricker, 2010; Valdespino Gómez, 2014a).

Los **genes supresores de tumores o antioncogénes** cumplen funciones celulares normales muy diversas, entre ellas la regulación o inhibición del ciclo

celular, la diferenciación celular, el mantenimiento de la integridad genómica y la muerte celular programada o apoptosis. Se ha hecho evidente que las proteínas supresoras de tumores forman una red de puntos de control (*checkpoints*) que impiden el crecimiento incontrolado y como consecuencia en la pérdida de las funciones inhibitorias asociada a esta clase de genes esta la formación del tumor. Los genes supresores tumorales se han dividido en dos clases:

- I. **Vigilantes (gatekeepers):** este grupo de genes es el encargado de regular directamente el crecimiento celular al inhibir la proliferación celular o promover la apoptosis, ejemplo de ellos están los productos de RB1, TP53, APC, NF1, NF2, WY1, MEN1 y VHL. Estas proteínas son de limitación de la velocidad del crecimiento celular, los tumores se desarrollan sólo cuando están inactivadas ambas copias del gen. Las personas o animales con un síndrome autosómico dominante con predisposición a la presencia de neoplasias heredan solo una copia dañada, por lo que únicamente necesitan una mutación somática para inactivar el alelo de tipo normal o salvaje restante, e iniciar la formación tumoral (Argyle et al., 2020; Chastain & Pfeifer, 2016; Cullen & Breen, 2017; García Carrancá, 2013; Kumar & Stricker, 2010; Valdespino Gómez, 2014a).

El gen p53 localizado en el cromosoma 17p13.1 se ha descrito como el “guardián del genoma”, en virtud de su capacidad de inducir a las células a la detención o a la apoptosis dependiendo el grado de daño al ADN. Una de sus funciones principales es llevar a cabo el control del ciclo celular, la falla en esta función dará como resultado final el crecimiento anormal e incontrolado de la célula causando una transformación tumorigénica, así como detectar tensión celular como daño al ADN, telómeros acortados e hipoxia. Este gen es el más frecuentemente inactivado en las neoplasias humanas y animales, su pérdida de funcionalidad es comúnmente causada por mutaciones sin sentido, pérdidas, y en sitios de unión, pérdida de alelos, reordenamientos y supresiones adquiridas en células somáticas (Argyle et al., 2020; Chastain & Pfeifer, 2016; Cullen & Breen, 2017; García Carrancá, 2013; Kumar & Stricker, 2010; Valdespino Gómez, 2014a).

Los autores Thomas P. Stricker y Vinay Kumar mencionan que:

“p53 frustra la transformación neoplásica mediante tres mecanismos entrelazados: Activación de la detención transitoria del ciclo celular (quiescencia), inducción de una detención permanente del ciclo celular (senescencia) o desencadenamiento de la muerte celular programada (apoptosis)” (Kumar & Stricker, 2010).

Una vez que p53 ha perdido su función, el daño existente en el ADN queda sin reparar, las mutaciones se acumulan en las células que se están dividiendo, por lo tanto la célula continuara un camino hacia la transformación maligna.

Los tratamientos basados en quimioterapia y radiación están fundamentados en producir un daño en el ADN, provocando posteriormente apoptosis. Los tumores que mantienen p53 sin ninguna alteración, tendrán mayores probabilidades de responder a ese tratamiento que aquellos tumores que presentan alelos mutados del gen.

En perros se ha detectado frecuentemente mutación en el gen p53 en osteosarcoma, melanoma, carcinomas de glándula mamaria y mastocitoma, así como gatos y perros en carcinoma de células escamosas (Argyle et al., 2020; Cullen & Breen, 2017; Hanahan & Weinberg, 2000, 2011; Kumar & Stricker, 2010).

- II. **Cuidadores (caretakers):** estos son los responsables de la reparación del ADN y del mantenimiento genómico. Las proteínas que interviene en la reparación de ADN son: MSH2, MLH1, PMS1, ATM, entre otros (Chastain & Pfeifer, 2016).

1.2.2. Genes de reparación de ADN

La inestabilidad genómica se produce cuando se pierden ambas copias del gen de reparación de ADN. *“Los propios genes de reparación del ADN no son oncógenos, pero sus anomalías permiten mutaciones de otros genes durante el proceso de la división celular normal”* (Kumar & Stricker, 2010).

Es importante distinguir los 2 principales tipos de errores que puede presentar el ADN: en primer lugar están las mutaciones y en segundo lugar está el daño que es una anomalía física del ADN; estas alteraciones pueden ser reparadas mediante sistemas enzimáticos si el cromosoma homólogo o la cadena complementaria de ADN no están dañados.

Al día pueden existir hasta 105 lesiones de la cadena de ADN en una sola célula, estas lesiones pueden ser mutagénicas, citotóxicas o citostáticas (Harding et al., 2013; Hoeijmakers, 2009; Maldonado Laguna & Ruiz Godoy Rivera, 2008; Valdespino Gómez, 2014b).

Cuando se presenta un daño en el ADN existen dos eventos principales: el primero es la detección mediante proteínas sensoras, que determinarán el tipo de daño sufrido y detendrán a la célula en determinada fase del ciclo celular, así se permite el segundo evento el cual activa el sistema de reparación. Si la reparación tuvo éxito, la célula seguirá en el ciclo, pero si el daño es muy severo la célula se dirigirá a apoptosis (Maldonado Laguna & Ruiz Godoy Rivera, 2008).

Existen varios sistemas de reparación de ADN que se llevan a cabo dependiendo del tipo de daño existente. En cada sistema está involucrada una serie de enzimas y proteínas específicas.

Existen por lo menos cinco tipos de sistemas de reparación de ADN: reparación directa, reparación de errores de emparejamiento (MMR), reparación de la escisión de nucleótidos (NER), reparación por escisión de bases (BER), cortes de doble hebra del ADN (DBS) en la que se incluye reparación no homóloga (NHEJ) y reparación homóloga (HR) (Chastain & Pfeifer, 2016; Harding et al., 2013; Hoeijmakers, 2009; Maldonado Laguna & Ruiz Godoy Rivera, 2008; Valdespino Gómez, 2014b).

Existen varios agentes además del fallo en la replicación y reparación del ADN que conducen a la formación tumoral. Algunos de los agentes incluyen: factores físicos, factores químicos y virus, entre otros.

Las mutaciones en la secuenciación del ADN no son la única causa para desarrollar una neoplasia; la exposición a agentes carcinogénicos y los factores epigenéticos juegan también papel importante en el desarrollo. Los tres principales mecanismos epigenéticos incluyen: expresión de miRNA, metilación de ADN y modificación de histonas; estos factores suelen ser reversibles (Cullen & Breen, 2017).

1.2.3. Factores epigenéticos

Un cambio epigenético es un cambio en el fenotipo celular sobre la base de otros factores que no sean genéticos, o bien, un cambio reversible y hereditario en la expresión génica, que es el resultado de modificaciones en la estructura de la cromatina sin mutación o sin que exista ningún cambio en la secuencia de ADN.

Estos cambios se producen durante el desarrollo normal y son responsables de la estabilidad del estado diferenciado, de la inactivación del cromosoma X y la impresión genómica; implican modificaciones postraducción de las histonas y metilación del ADN, que afectan a la expresión génica (Alberts et al., 2015a; Easwaran et al., 2014; Kumar & Stricker, 2010).

A lo largo de los años, la epigenética ha sido definida de varias maneras, hoy en día, en el siglo XXI, la epigenética se refiere al estudio de todos los factores no genéticos que intervienen en el desarrollo de un organismo, y de las interacciones entre los genes y el medio ambiente. El “epi” en epigenética de basa en un fenómeno que va “más allá” de los genes (De la Peña & Loyola, 2017).

1.3. Muerte celular programada o apoptosis

La apoptosis es una vía de muerte celular inducida por medio de un programa de suicidio regulado en el que las células destinadas a morir activan una serie de enzimas responsables de degradar ADN nuclear, proteínas nucleares y citoplasmáticas propias; también permite eliminar células no deseadas, células viejas o potencialmente dañinas (Alberts et al., 2015c; Kumar & Stricker, 2010).

Las células tumorales regulan de forma anormal su programa apoptótico mediante la sobreexpresión de la proteína BCL-2 (B cell lymphoma) que inhibe la apoptosis, prolongando así la supervivencia de los linfocitos y aumentando su número; también disminuye la sensibilidad de las células a los fármacos antitumorales.

Asimismo, como se menciono anteriormente, la ausencia de función del gen p53 hace posible que las células cancerosas sobrevivan y proliferen, acumulando mutaciones (Alberts et al., 2015c).

El inicio de la apoptosis tiene lugar gracias a señales precedentes de dos vías principales: la vía intrínseca o mitocondrial y la vía extrínseca o iniciada por los

receptores de muerte, ambas culminan en la activación de las caspasas (Alberts et al., 2015c; Argyle et al., 2020; Kumar et al., 2015b).

1.4. Etiología del cáncer

El cáncer es universalmente conocido como una enfermedad genética, sin embargo no siempre es heredable (Modiano & Hyuk Kim, 2020).

Los tumores son el producto de la acumulación de mutaciones que eliminan las limitaciones normales de proliferación e integridad genética en una célula somática, promoviendo su immortalización y la capacidad de modificar y mantener un nicho de apoyo para su supervivencia y expansión (Modiano & Hyuk Kim, 2020).

Esto se puede dar por distintas alteraciones como son: cromosomas heredables, exposición a rayos gamma y ultravioleta, exposición a sustancias químicas y físicas carcinogénicas, factores hormonales y algunos tipos de virus DNA y RNA.

Los cambios en la incidencia del cáncer tanto en humanos como en animales a lo largo del siglo XX enfatiza la influencia significativa que el medio ambiente puede ejercer en la composición genética de los individuos. Algunos efectos que reflejan este aumento en la incidencia pueden ser reflejados por patrones de comportamiento, enfermedades infecciosas, urbanización o cambios en la dieta, sin embargo no podemos suponer que este medio ambiente es totalmente responsable (Modiano & Hyuk Kim, 2020).

En un cuerpo cada vez que una célula se divide, muy probablemente cada célula hija lleve una cantidad variable de mutaciones en su ADN.

“La mayoría de las mutaciones, ya sean causadas por factores extrínsecos o intrínsecos, son silenciosas y no obstaculizan la capacidad de la célula para funcionar; sin embargo, otros pueden desactivar los genes supresores de tumores o activar protooncogenes, que respectivamente inhiben o promueven la división celular y la supervivencia. Por lo tanto, se puede decir que “simplemente estar vivo es el mayor factor de riesgo para el cáncer” (Modiano & Hyuk Kim, 2020).

Una mutación puede proporcionarle ventaja selectiva a una célula permitiéndole dividirse, crecer y sobrevivir más fácilmente que sus vecinas y de esta manera convertirse en el importante fundador de un clon mutante en desarrollo. Una

mutación que promueve ese comportamiento egoísta por parte de miembros individuales de la comunidad puede poner en riesgo el futuro de todo el ecosistema. A medida que el clon crece, se desarrolla y propaga puede destruir a toda la sociedad celular (Alberts et al., 2015a; Modiano & Hyuk Kim, 2020).

1.4.1. Síndromes hereditarios de cáncer

Actualmente se sabe que aproximadamente 5-10% de todos los cánceres en humanos son heredables, de los cuales la mayoría se asocian a genes autosómicos dominantes con penetrancia incompleta (Nagy et al., 2004).

Existen algunas características que se describen para decir que un cáncer es heredable como: varias generaciones afectadas por un mismo cáncer, aparición de cáncer en dos o más miembros de una familia, edad más temprana de presentación (Nagy et al., 2004), tienden a originarse en tejidos y localizaciones específicas, presentan un marcador fenotípico específico y penetrancia incompleta como expresividad variable (Kumar & Stricker, 2010); sin embargo, muchas familias pueden no cumplir con estos criterios (Nagy et al., 2004).

Otra proporción se clasifica como familiares no hereditarios, los cuales incluyen factores ambientales con los que la familia tiene un vínculo en común; estos representan del 15-20% (Gallardo, 2013).

Aunque la herencia es recesiva, estos síndromes muestran patrones dominantes de herencia, con lo cual muchos presentan alta (Nagy et al., 2004).

En el cuadro 1.1 se muestran los ejemplos más comunes de predisposición hereditaria al cáncer en humanos.

Cuadro 1.1. Síndromes hereditarios de cáncer (Modificada de: Kumar & Stricker, 2010).

Síndromes hereditarios de cáncer (Autosómicos dominantes)	
Predisposición hereditaria	Gen
Retinoblastoma	RB
Síndrome de Li-Fraumeni (varios tumores)	p53
Melanoma	p16/INK 4 ^a
Poliposis adenomatosa familiar/cáncer de colon	APC
Neurofibromatosis 1 y 2	NF1, NF2
Tumores de mama y ovario	BRCA1, BRCA2
Neoplasia endócrina múltiple 1 y 2	MEN1, RET

Cáncer de colon no polipósico hereditario	MSH2, MLH1, MSH6
Síndrome de carcinoma de células basales nevoide	PTCH
Síndrome de Cowden (cánceres epiteliales)	PTEN
Síndrome de Peutz-Jeghers (cánceres epiteliales)	LKB1
Carcinomas de células renales	VHL
Síndromes recesivos autosómicos hereditarios de reparación defectuosa del ADN	
Xerodermia pigmentaria	
Ataxia-telangiectasia	
Síndrome de Bloom	
Anemia de Fanconi	
Cánceres Familiares	
Cáncer de mama	
Cáncer de ovario	
Cáncer pancreático	

En medicina veterinaria se ha descrito un síndrome heredable llamado carcinoma renal o cistadenocarcinoma renal y dermatofibrosis nodular (RCND) en perros de raza Pastor Alemán.

En humanos existe un síndrome semejante llamado Birt-Hogg-Dube (BHD) correspondiente al cromosoma HSA. La apariencia histológica de ambos tumores es similar (Lingaas et al., 2003).

1.4.2. Factores químicos, físicos y hormonales

El congreso de los Estados Unidos de América (EUA) en el año 1978 ordenó el desarrollo del 1er reporte de carcinógenos (RoC), este documento fue creado para mostrar a la población y profesionales de la salud sobre los riesgos potenciales de cáncer. En 2016 el reporte de carcinógenos dio a conocer una lista de 248 carcinógenos potenciales, dentro de ellos 61 se categorizaron como *conocidos como carcinógenos humanos* y 186 como *razonablemente anticipado como carcinógeno humano*. Cinco de los carcinógenos adicionales son virus: virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) tipo 1, virus linfotrófico de células T humanas tipo 1, virus de Epstein-Barr, herpesvirus asociado al sarcoma de Kaposi y el poliomavirus de células de Merkel. No existe una lista oficial de carcinógenos en animales de compañía, pero se podría suponer que habría una superposición

considerable entre los posibles carcinógenos que se encuentran en el RoC (Henry & Flesner, 2020).

A continuación se muestra una lista de los diferentes factores que se han relacionado con el desarrollo de cáncer en humanos y animales:

- Factores químicos: Humo de tabaco, desechos tóxicos (2,3,7,8-Tetraclorodibenzo-p-dioxina TCDD), herbicidas (2,4 diclorofenoxiacético), insecticidas y ciclofosfamida
- Factores físicos: rayos UV-B, traumatismo, inflamación crónica radiación, campos electromagnéticos, implantes y asbesto.

Mediadores de la inflamación como: prostaglandinas, citocinas, especies reactivas de oxígeno, nitrógeno y factores de crecimiento, entre otros, son capaces de iniciar mutaciones. Muchas células con mutaciones menores sobreviven ya que el ADN es reparado; o si el nivel de daño es incompatible con la vida se da una señal para morir mediante apoptosis. Para que el cáncer se desarrolle el daño en el ADN debe persistir y sobrevivir a los múltiples procesos de reparación del ADN.

El resultado final normal de la inflamación es que cualquier tipo de tejido dañado se repara, la respuesta inflamatoria es disminuida y mejora tiene lugar. Sin embargo durante la inflamación activa el microambiente celular es altamente reactivo e inestable. La respuesta de células inmunes innatas como, mastocitos, macrófagos, células dendríticas (DC) y células asesinas naturales (NK), son la primera línea de defensa que provocan esta respuesta inflamatoria, liberando así sus mediadores de la inflamación que conducen a la destrucción del agente patógeno y a la reparación del daño tisular. Al mismo tiempo esta respuesta inmune puede provocar inflamación crónica y generar un microambiente favorecedor de la iniciación y progresión del cáncer. Entre más tiempo persiste la inflamación, la probabilidad de la inestabilidad genómica es mayor (Morrison, 2012). Algunos ejemplos que son responsables de producir inflamación crónica son: exposición a rayos UV-B, humo de cigarro y asbesto, cuerpos extraños, bacterias, virus, parásitos, enfermedad inflamatoria intestinal, quemaduras, administración de medicamentos y vacunas por vía intramuscular (IM) y

subcutánea (SC) en gatos, implantes, suturas, traumatismo, ciclofosfamida, entre otros (Morrison, 2012).

Recientemente se han realizado estudios en los que se comprueba la eficacia de agentes antiinflamatorios como tratamiento y prevención del cáncer (Cruz & Balkwill, 2015).

- Factores hormonales: progesterona, estrógenos, andrógenos y testosterona

1.4.3. Virus carcinogénicos

Actualmente se sabe que los virus que contienen tanto ADN como ARN son causa de cáncer. Una célula normal presenta transformación maligna por la integración de una parte (copia de ADN o ARN retroviral) o todo el ADN viral en el genoma de la célula huésped, a través de esto reprimen o mejoran la expresión de genes celulares normales produciendo crecimiento descontrolado o transformación celular. También, en ciertos virus se han identificado genes virales específicos (oncogenes) que causan transformación maligna cuando son expresados en células normales (Macy, 2020). Estos virus son: Papilomavirus (humanos y animales), Virus de inmunodeficiencia felina (FIV), Virus de leucemia felina (LeVF) y Virus de sarcoma felino.

1.5. Marcas distintivas del cáncer

Existe evidencia que indica que el proceso de tumorigenesis conlleva varias tapas en donde se reflejan alteraciones genéticas y epigenéticas que impulsan la transformación progresiva de células normales en derivados malignos.

Las células cancerosas presentan defectos en circuitos reguladores que gobiernan la homeostasis celular.

Los autores Hanahan y Weinberg mencionan varias características esenciales de células malignas las cuales se muestran en las figuras 1.1 y 1.2.

1. Señalización proliferativa sostenida
2. Evasión de supresores de crecimiento
3. Evasión de la apoptosis
4. Potencial replicativo ilimitado (inmortalidad)
5. Inducción de angiogénesis

6. Activación de la invasión tisular y metástasis
 7. Inestabilidad genómica y mutaciones
 8. Inflamación promotora de tumores
 9. Reprogramación en el metabolismo energético
 10. Evitar destrucción por el sistema inmune
 11. Contribuciones del microambiente tumoral
- (Hanahan & Weinberg, 2000, 2011; Modiano & Hyuk Kim, 2020).

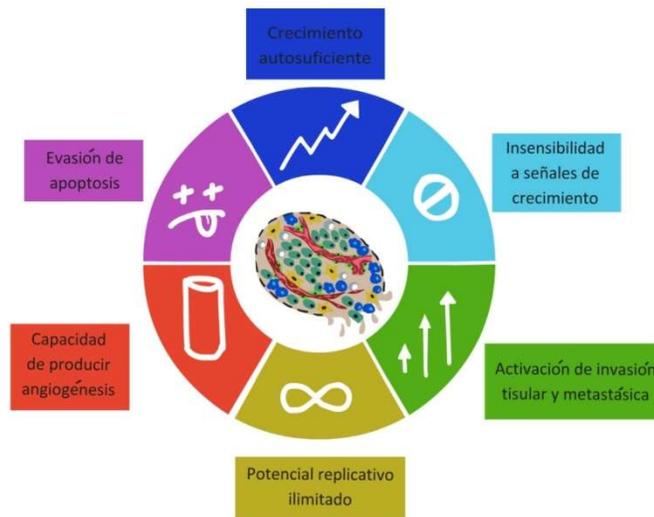


Figura 1.1. Capacidades adquiridas del cáncer (Modificado de: Hanahan & Weinberg, 2000).

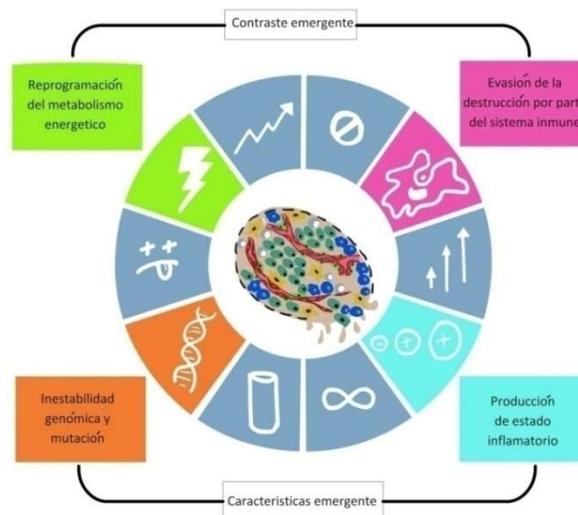


Figura 1.2. Características emergentes (Modificado de: Hanahan & Weinberg, 2011).

1.5.1. Señalización proliferativa sostenida

Las células cancerosas tienen la capacidad de proliferar sin que ningún estímulo externo esté implicado, principalmente asociado con los oncogenes. De esta manera, el crecimiento se convierte en autónomo, libre de puntos de control (Checkpoints) y de la dependencia de señales externas.

Muchas células cancerosas adquieren la capacidad de sintetizar factores de crecimiento mitogénicos solubles (GFs) a las que responden. Los receptores de GF, a menudo presentan una actividad de tirosina cinasa los cuales emiten señales por vía intracelular regulando la progresión en el ciclo celular, por lo tanto se ha evidenciado la sobreexpresión de estos en muchos tipos de cáncer.

Las células cancerosas adquieren la capacidad de sintetizar los mismos factores a los que responden, generando un ciclo autocrino.

Los factores de crecimiento también pueden fomentar la supervivencia celular, el movimiento, la contractilidad, la diferenciación y la angiogénesis, actividades tan importantes como los inductores de crecimiento.

Entre los factores de crecimiento más importantes se encuentran: el factor de crecimiento epidérmico (EGF), factor de crecimiento transformante β (TGF β), factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF), factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) y el factor de crecimiento fibroblástico (FGF)

(Hanahan & Weinberg, 2000, 2011; Kumar & Stricker, 2010; Modiano & Hyuk Kim, 2020).

1.5.2. Evasión de supresores de crecimiento

Cuando los genes supresores tumorales son inactivados, las células pierden la capacidad de regular el control de la proliferación. Una única copia funcional del gen supresor es suficiente para mantener el control de la proliferación, cuando ambos alelos se pierden o están dañados la célula se ve afectada teniendo un alto riesgo de producir una transformación neoplásica.

RB y TP53, descritos anteriormente, son parte de esta red reguladora que reconoce la tensión genotóxica de cualquier origen y responden clausurando la proliferación. Otros inhibidores de la proliferación celular son: TGF- β y NF2

(Hanahan & Weinberg, 2000, 2011; Kumar & Stricker, 2010; Modiano & Hyuk Kim, 2020).

1.5.3. Evasión de la apoptosis

El proceso de apoptosis en cáncer puede verse frustrado por mutaciones directas a las proteínas componentes o por la pérdida o mutación de detectores de la integridad genómica como p53 (Cullen & Breen, 2017; Hanahan & Weinberg, 2000, 2011; Kumar & Stricker, 2010; Modiano & Hyuk Kim, 2020).

Pero que las células cancerosas presenten evasión de la apoptosis no significa que no mueran. Al contrario, en el interior de los grandes tumores sólidos, la muerte celular suele generarse a gran escala puesto que las condiciones de vida son difíciles, ya que existe una fuerte competencia entre las células tumorales por los nutrientes y el oxígeno.

Muchas células mueren, pero más por necrosis que por apoptosis (Alberts et al., 2015a).

En contraste con la apoptosis, la necrosis tiene propiedades proinflamatorias que pueden ser activamente promotores tumorales (Hanahan & Weinberg, 2011; Kumar & Stricker, 2010).

1.5.4. Potencial replicativo ilimitado (inmortalidad)

Las células normales están capacitadas para realizar un número limitado de divisiones (60 a 70), proceso conocido como *Hayflick limit*. Una vez que han llegado a ese límite pierden su capacidad para dividirse, los puntos de control (checkpoints) se activan y entran en senescencia no replicativa. Esto provocado por acortamiento progresivo de los telómeros localizados en los extremos de los cromosomas. Los telómeros cortos son reconocidos por la maquinaria de reparación de ADN como roturas de ADN de doble cadena lo que provocará que p53 y RB detengan el ciclo celular.

El acortamiento o desgaste telomérico se da progresivamente mediante las divisiones celulares, entre más división, más corto será el telómero, este proceso está relacionado con la senescencia y el envejecimiento.

Si durante una crisis la célula consigue reactivar la telomerasa, los ciclos puente-fusión-rotura cesan, la longitud del telómero se estabiliza y la célula logra evitar la muerte, lo que le confiere la característica de inmortalización.

El 85-90% de los tumores en humanos presentan actividad de telomerasa.

En oncología veterinaria la telomerasa no ha sido estudiada extensamente, sin embargo, existe un estudio realizado en 2006 en la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad de Glasgow en donde se buscó la actividad de la telomerasa en linfonodos de 30 perros diagnosticados con linfoma, en donde observaron la presencia de actividad de telomerasa en 29 de 30 pacientes (97%). Con lo que concluyeron que la telomerasa es detectable en la mayoría de los linfomas caninos (Hanahan & Weinberg, 2011; Kumar & Stricker, 2010; Modiano & Hyuk Kim, 2020; Pang & Argyle, 2009; Renwick et al., 2006; Shay & Wright, 2011; Strachan & Read, 2011).

1.5.5. Inducción de angiogénesis

La progresión tumoral hacia la metástasis requiere de la formación de nuevos vasos sanguíneos provenientes de células endoteliales progenitoras, lo que se conoce como vasculogénesis, ó de vasos sanguíneos existentes conocido como angiogénesis.

Estos nuevos vasos son anormales, están fenestrados, dilatados y tienen un patrón de conexión caótico. Esta neovascularización tiene dos funciones principales en las células tumorales: la perfusión de nutrientes y oxígeno y la estimulación del crecimiento de células tumorales adyacentes mediante la secreción de factores de crecimiento como: factor de crecimiento vascular endotelial (VEGF), factor de crecimiento fibroblástico básico (bFGF), factor de crecimiento similar a la insulina (IGF), factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF) y el factor estimulante de colonias de granulocitos-macrófagos (GM-CSF), producidos por las células endoteliales neoformadas. La falta relativa de oxígeno o hipoxia activa la angiogénesis, estimulando el factor 1 α inducible por hipoxia (HIF-1 α).

Existe evidencia de agentes inhibidores endógenos de angiogénesis como son Trombospondina 1 (TPS-1), angiostatina y endostatina. P53 regula positivamente

los niveles de TPS-1, por lo que una pérdida de la función normal de p53 reducirá la señal antiangiogénica (Hanahan & Weinberg, 2011; Kumar & Stricker, 2010; Limón Rodríguez et al., 2013; Modiano & Hyuk Kim, 2020; Valdespino Gómez & Bologna Molina, 2014).

1.5.6. Invasión tisular y metástasis

Esta invasión y producción de metástasis, es la principal causa de morbilidad y mortalidad relacionada con el cáncer.

Al igual que el proceso de formación tumoral primaria, la invasión exitosa y la metástasis dependerán de las características distintivas anteriormente mencionadas.

En tumores epiteliales un paso inicial común para la invasión es la pérdida de adhesión intracelular, debido a una alteración en la actividad de los factores de adhesión celular como las E-cadherinas. Un aumento en su expresión establecería un proceso antagonista de la invasión y metástasis, mientras que una disminución en su expresión potenciaría la progresión de estos procesos.

Las células normales están cuidadosamente pegadas entre sí y a sus alrededores por variedad de moléculas de adhesión. Esta interacción esta mediada por la familia de glucoproteínas transmembranales de la cadherina. Estas cadherinas forman parte de las proteínas de adherencia celular llamadas MAC (moléculas de adhesión celular) (Hanahan & Weinberg, 2000, 2011; Kumar & Stricker, 2010; Modiano & Hyuk Kim, 2020).

Otro paso importante para continuar la invasión es la degradación local de la membrana basal y el tejido conectivo intersticial, en donde las células tumorales secretan enzimas proteolíticas por sí mismas, o bien induciendo a células estromales como: fibroblastos y células inflamatorias para que elaboren proteasas, metaloproteinasas de la matriz (MMP), catepsina D y el activador del plasminógeno urocinasa (Kalluri & Weinberg, 2009; Valdespino Gómez & Bologna Molina, 2014).

Un tercer paso para la invasión representa cambios en la fijación de las células tumorales a las proteínas de la matriz extracelular.

La locomoción es el paso final del proceso de invasión, las células tumorales se impulsan a través de las membranas celulares degradadas y zonas de proteólisis de la matriz. Este movimiento está dirigido por citocinas derivadas de la célula tumoral, como factores de motilidad autocrinos.

Esta migración le permite infiltrarse en el estroma y penetrar vasos sanguíneos y linfáticos, lo que se conoce como intravasación, que sólo es posible después de que la célula tumoral rebasó la membrana basal, eliminando esta barrera.

Lo antes descrito es un programa regulador de la invasión y metástasis conocido como: transición epitelial-mesénquimal (EMT) (Kalluri & Weinberg, 2009) que se muestra en la figura 1.3.

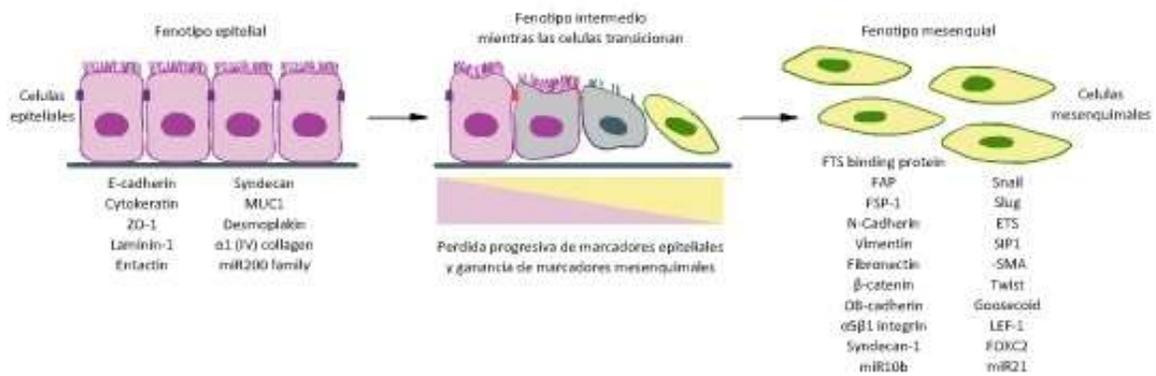


Figura 1.3. Proceso transición epitelial-mesénquimal (EMT) (Modificado de: Kalluri & Weinberg, 2009).

Cuando el epitelio tumoral se encuentra en estado mesenquimatoso, desarrolla la habilidad de invasividad, migración e intravasación (Figura 1.4).

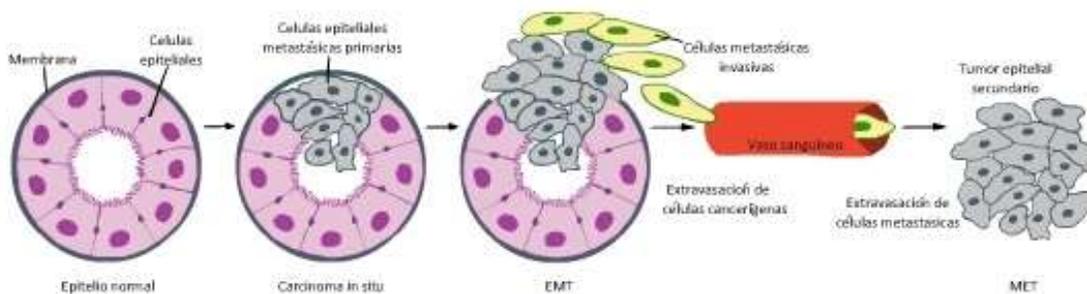


Figura 1.4. Contribución del proceso transición epitelial-mesénquimal en la progresión del cáncer (Modificado de: Kalluri & Weinberg, 2009).

El proceso de EMT regula un tipo particular de invasividad que se ha denominado mesenquimal, en donde las proteasas de matriz y las metaloproteasas (MMP) segregadas por los macrófagos se creen necesarias para el fenotipo invasivo, ya que degradan la matriz extracelular, fomentando así la invasión local; pero existen otros dos tipos de invasión: ameboide y colectiva (Kalluri & Weinberg, 2009).

La intravasación termina entonces cuando las células tumorales ingresan al torrente sanguíneo y linfático; una vez estando en circulación estas células son vulnerables a la destrucción por distintos mecanismos incluyendo: apoptosis estimulada por pérdida de adhesión (anoikis) y células de defensa del sistema inmune innato y adaptativo.

La metástasis se define como la diseminación de células neoplásicas hacia un tejido secundario en donde se formará una masa macroscópica; este proceso puede dividirse en dos fases principales: la primera en la cual se lleva a cabo la diseminación física de células neoplásicas del tumor primario a tejidos distantes y la segunda es la adaptación de estas células al microambiente de estos tejidos, teniendo como resultado una colonización exitosa, es decir la producción de micrometastasis.

Para que esto ocurra, las células deben dejar el sitio del tumor primario, pasar a través de la membrana basal del tumor y luego a través o entre las células endoteliales para así poder ingresar a la circulación y de este modo llevar a cabo la migración.

La salida de las células del torrente sanguíneo es denominada extravasación que es facilitada por el aumento en la permeabilidad de los nuevos pero anormales vasos sanguíneos (Cullen & Breen, 2017; Kumar & Stricker, 2010).

Existen tres caminos principales para la producción de metástasis: metástasis linfática, metástasis hematológica y metástasis por extensión directa (Cullen & Breen, 2017; Kumar & Stricker, 2010).

Además, también puede ocurrir transferencia mecánica mediante la contaminación de instrumental quirúrgico o por punciones con aguja delgada.

En animales existen sólo dos tumores que pueden ser transmitidos naturalmente mediante contacto directo como el coito, lamido, olfateo o mordida; el primero de ellos es el tumor venéreo transmisible canino (CTVT) y el segundo es el tumor facial del demonio de Tasmania (Cullen & Breen, 2017; Fidler, 2003; Hanahan & Weinberg, 2000, 2011; Kalluri & Weinberg, 2009; Kumar & Stricker, 2010; Modiano & Hyuk Kim, 2020; Valdespino Gómez & Bologna Molina, 2014).

1.5.7. Inestabilidad genómica y mutaciones

La inestabilidad genómica se cree que es el principal “facilitador” hacia la transformación maligna, por lo que es un sello distintivo de la mayoría de los tumores (Hanahan & Weinberg, 2011; Kumar & Stricker, 2010; Modiano & Hyuk Kim, 2020).

La adquisición de las características de malignidad depende en gran medida de la sucesión de alteraciones genómicas. Ciertos genotipos mutantes confieren ventajas selectivas sobre los subclones de células, permitiendo su crecimiento y dominio eventual en el tejido local; en consecuencia, la progresión tumoral da como resultado la expansión clónica de genotipos mutantes (Figura 1.5).

La capacidad de los sistemas de mantenimiento del genoma para detectar y resolver defectos en el ADN asegura que las tasas de mutaciones espontáneas sean disminuidas durante cada generación de células.

La descomposición o el mal funcionamiento de estos sistemas producirán una acumulación de mutaciones que comprometerá al sistema de vigilancia (Breivik, 2005; Hanahan & Weinberg, 2011; Harding et al., 2013; Kumar & Stricker, 2010; Modiano & Hyuk Kim, 2020; Valdespino Gómez & Ortiz Muñiz, 2014).

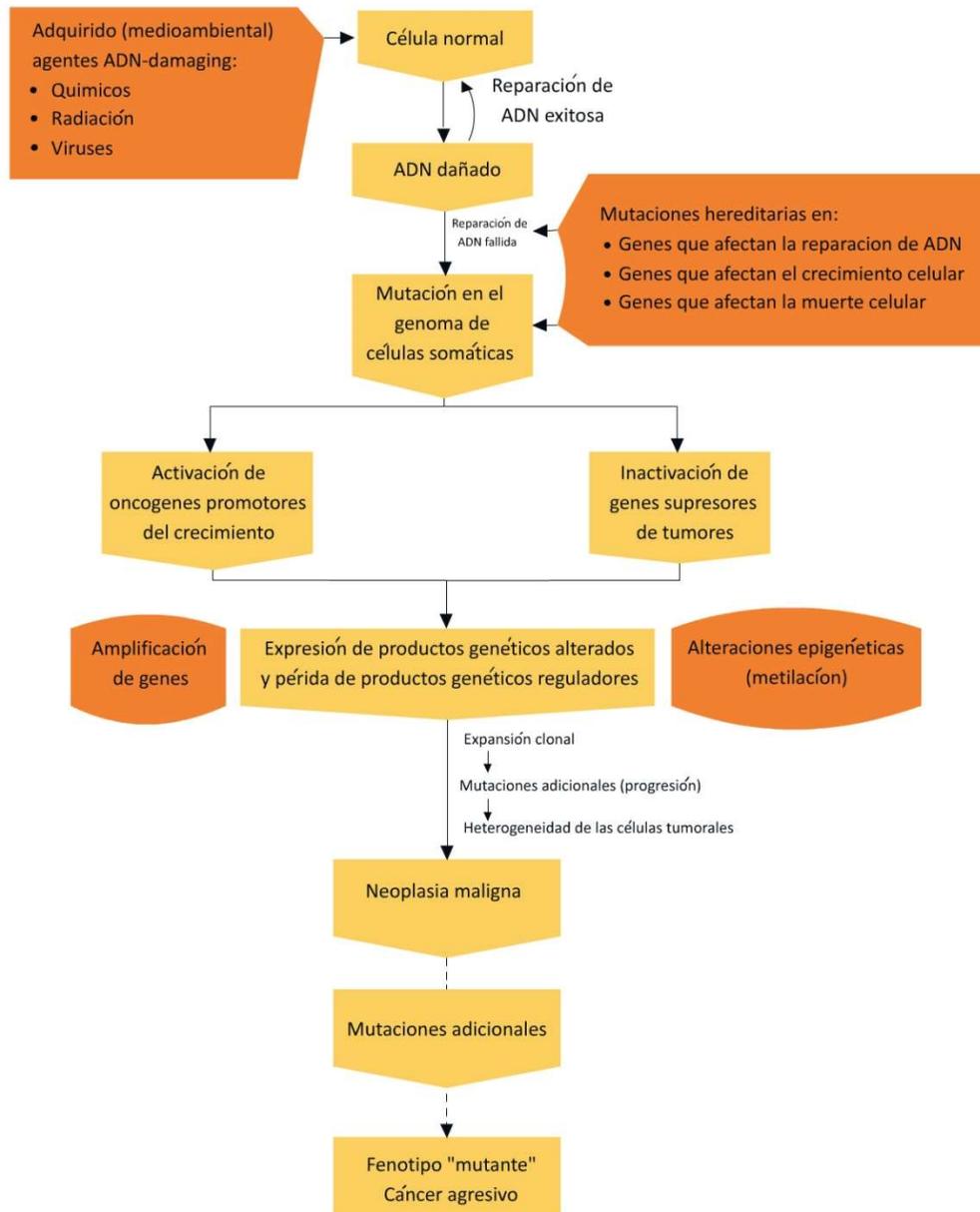


Figura 1.5. Mecanismos genéticos y epigenéticos de la inestabilidad genética (Modificado de: Harding et al., 2013).

1.5.8. Inflamación promotora de tumores

Está claro que la inflamación en el cáncer juega un papel muy importante. Desde hace tiempo se ha reconocido que células del sistema inmune innato (granulocitos, histiocitos y macrófagos) y adaptativo (linfocitos) están presentes en infiltrados tumorales.

La inflamación puede contribuir a múltiples capacidades distintivas mediante el suministro de moléculas bioactivas al microambiente tumoral, incluidos factores de crecimiento que mantienen la señalización proliferativa, factores de supervivencia que evitan la muerte celular, factores proangiogénicos, factores modificadores de la matriz extracelular, enzimas facilitadoras de angiogénesis, invasión y metástasis, así como señales inductoras que conducen a la activación del sistema de transición epitelial-mesenquimal, entre otros.

Las células inflamatorias pueden liberar sustancias químicas como especies reactivas de oxígeno que son altamente mutagénicas (Hanahan & Weinberg, 2011; Modiano & Hyuk Kim, 2020).

La conexión que existe entre la inflamación y el cáncer puede dividirse en dos vías: la vía extrínseca, impulsada por condiciones inflamatorias crónicas que aumentan el riesgo de producir cáncer como: enfermedad inflamatoria intestinal, gastritis por *Helicobacter pylori* y prostatitis; y la vía intrínseca impulsada por alteraciones genéticas como mutaciones en los oncogenes RAS, MYC y RET, reordenamiento cromosómico y la inactivación de genes supresores de tumores. (Mantovani et al., 2008) (Figura 1.6.).

Las dos vías convergen, resultando en la activación de factores de transcripción que activan a la célula tumoral coordinando la producción de mediadores de la inflamación como citocinas, quimiocinas y prostaglandinas que a su vez producirá ciclooxigenasa 2 (COX-2), presentes en muchos tumores; estos mediadores reclutan y activan células como macrófagos, neutrófilos y mastocitos, las cuales producirán nuevamente factores de transcripción generando así más mediadores de la inflamación produciendo una inflamación crónica que derivará en proliferación celular, en mecanismos de transición epitelial-mesenquimal, angiogénesis, linfangiogénesis, migración tumoral, invasión y metástasis (Hanahan & Weinberg, 2011; Mantovani et al., 2008; Modiano & Hyuk Kim, 2020) (Figura 1.6).

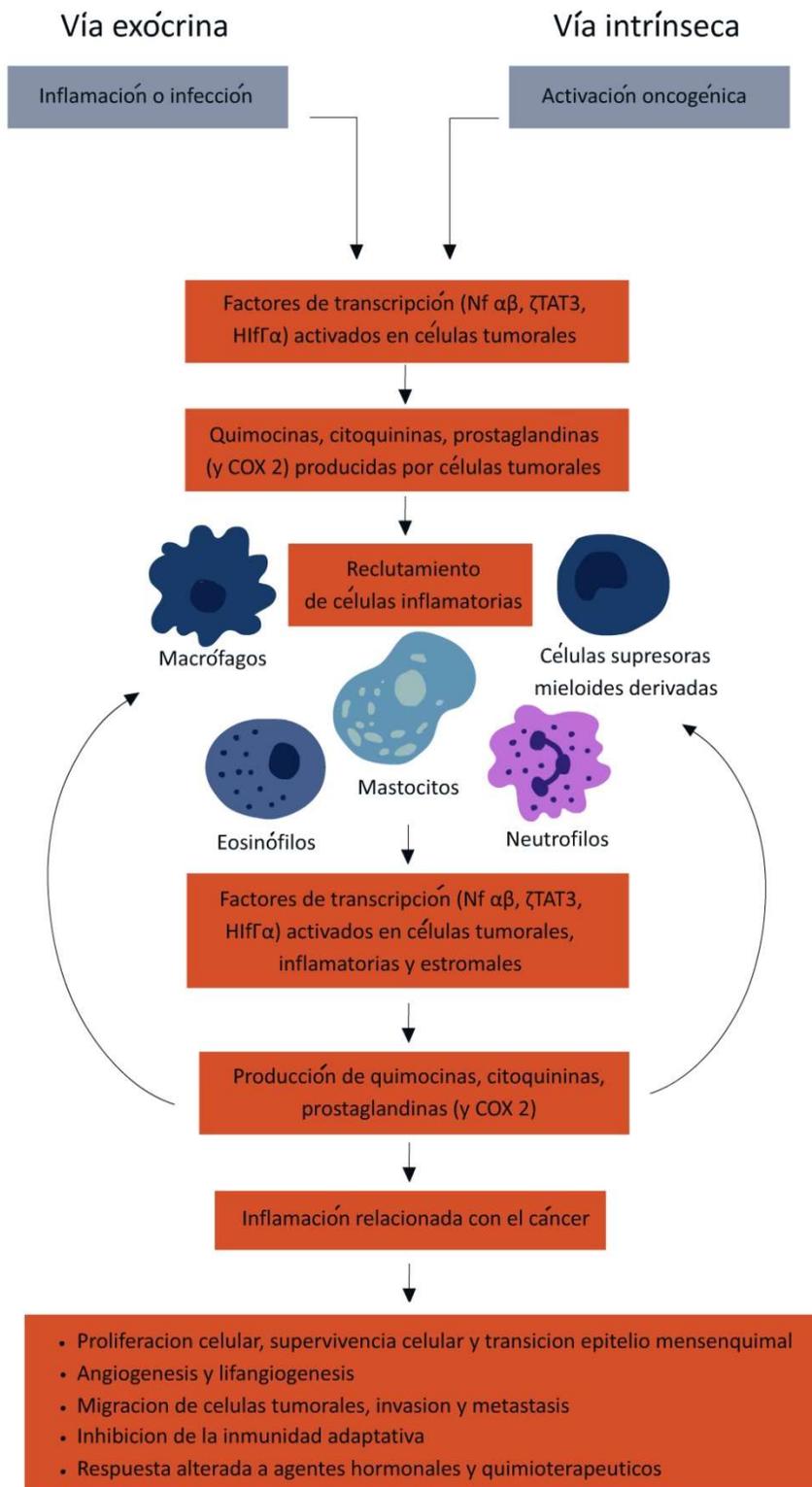


Figura 1.6. Vías que conectan la inflamación y el cáncer (Modificada de: Mantovani et al., 2008).

1.5.9. Reprogramación en el metabolismo energético

La proliferación celular descontrolada, esencial para la formación de una neoplasia no sólo involucra el control desregulado de la proliferación, también es necesario un ajuste o reprogramación en el metabolismo energético el cual es indispensable para impulsar el crecimiento y la división celular en condiciones aeróbicas.

En células normales cuando existe la presencia de oxígeno el metabolismo se dirige hacia una respiración mitocondrial, que culmina en la fosforilación oxidativa resultando en la obtención de grandes cantidades de ATP. De igual manera en células normales cuando no existe la presencia de oxígeno, el metabolismo es dirigido hacia un proceso llamado glucólisis, en donde se inicia la captación de glucosa produciendo ATP y culminando en la liberación de lactato.

En 1942 Otto Warburg observó por primera vez una característica anormal en las células cancerosas, estas pueden reprogramar el metabolismo de la glucosa. Este planteó una teoría en donde la bioenergética de las mitocondrias de las células tumorales se encuentra alterada, presentando así una desregulación metabólica.

Warburg demostró que la gran mayoría de los tumores presenta un metabolismo que está dirigido hacia la glucólisis, captación de glucosa y finalmente en la producción del lactato aun cuando existe la presencia de altos niveles de oxígeno, lo que se conoce como Efecto Warburg o Glucólisis aerobia (Lozano Martín, 2017).

El Efecto Warburg puede presentarse por probables mecanismos que conducen al aumento de la glucólisis en células cancerosas.

Cuando una célula sufre hipoxia típicamente presenta tasas de consumo de glucosa 200 veces mayores que las células normales que les dieron origen, convirtiendo esta glucosa a piruvato y posteriormente a lactato. Este lactato tiene la capacidad de acelerar el crecimiento tumoral, promueve la angiogénesis y la metástasis y de la misma manera genera un ambiente ácido alrededor de las células cancerígenas, lo que le permite crear una barrera impidiendo la acción del sistema inmune contra estas células malignas. Las células tumorales presentan un menor número de mitocondrias, por lo tanto la producción de ATP por fosforilación

oxidativa se ve disminuida, por lo que la célula tumoral necesita una mayor demanda de glucólisis.

Este sello distintivo permite una ventaja en el diagnóstico, ya que el “hambre” de glucosa de los tumores se utiliza para obtener una visualización por imágenes computarizadas mediante la tomografía por emisión de positrones (PET), en la que se administra a los pacientes 18F-fluorodesoxiglucosa, que es un análogo radioactivo no metabolizable de la glucosa, captando así de forma preferente las células tumorales y tejidos normales que se encuentren en división activa como la médula ósea (Cairns et al., 2013; Hanahan & Weinberg, 2011; Kumar & Stricker, 2010; Lozano Martín, 2017; Modiano & Hyuk Kim, 2020; Warburg, 1956).

1.5.10. Evitar destrucción por el sistema inmune

El sistema inmune funciona como una barrera importante para la formación y progresión tumoral.

Los clones de células altamente inmunogénicas son eliminadas constantemente por el hospedador inmunocompetente, proceso que se le conoce como inmunoedición. Las células débilmente inmunogénicas serán las responsables del crecimiento y generación del tumor, tanto en hospedadores inmunodeficientes como en inmunocompetentes.

Se sabe que la deficiencia en el desarrollo o función de linfocitos T citotóxicos CD8, linfocitos T CD4 Th1 helper o natural killer (NK), condujo a aumentos en la incidencia de tumores (Modiano & Hyuk Kim, 2020).

Las células tumorales pueden evadir la destrucción por parte del sistema inmune deshabilitando las células enviadas para su destrucción, paralizando la infiltración de natural killer (NK) y linfocitos T citotóxicos al secretar TGF- β . Así mismo, pueden reclutar células inflamatorias inmunosupresoras como macrófagos asociados a tumores (TAM), células T reguladoras (Tregs) y células supresoras derivadas mieloides (MDSCs), suprimiendo la acción de linfocitos T citotóxicos.

Las MDSCs son reclutadas al microambiente tumoral gracias a sustancias quimioatrayentes inducidos por hipoxia; una vez que están presentes en el microambiente suprimen activamente la respuesta inmune antitumoral, promoviendo invasión y metástasis a través de la producción de MMP.

Los mecanismos que llevan a cabo las células supresoras derivadas de mieloides para suprimir el sistema inmune incluyen:

1. Supresión de células T mediante la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS) y arginasa, así como la privación de cisteína.
2. Producción de TGF- β e IL-10, estimulando a Tregs y TAMs.
3. Regulación negativa de IL-12 mediante TAM, que es una citocina activadora de linfocitos T.
4. Anergia de células NK.

Las células Tregs fenotípicamente definidas por la expresión en la superficie de CD4 y CD25 son capaces de suprimir linfocitos T CD4+ y CD8+ específicas de tumor y células NK. Los Treg que se encuentran presentes en linfonodos metastásicos inhiben la capacidad de linfocitos para montar una respuesta antitumoral efectiva.

Las DC juegan un papel muy importante como células presentadoras de antígenos, por lo que una disminución en la presencia de estas células o un aumento en la presencia de células dendríticas inmaduras (iDC) reducirán la presentación de antígenos y producirá una tolerancia de células T en lugar de activarlos. Los factores como IL-10 y VEGF afectan negativamente las funciones de DC y su maduración (Hanahan & Weinberg, 2011; Modiano & Hyuk Kim, 2020). Algunos de los factores inmunosupresores más importantes producidos por parte de células tumorales y células inmunes infiltrantes sonIDO (Indolamina 2,3 dioxigenasa), TGF- β , IL-10 y Factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α).

Otro mecanismo que permite suprimir la respuesta antitumoral de células T es a través de mecanismos como la disminución en la expresión de moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad (MHC) para escapar al reconocimiento por parte de los linfocitos T, esto debido a que las células tumorales presentan cambios en la síntesis de proteínas estructurales o por pérdida alélica. De la misma manera el aumento en la expresión de moléculas de superficie co-inhibidoras como CD73 y PD-L1 (Hanahan & Weinberg, 2011; Huerta Yopez et al., 2016; Modiano & Hyuk Kim, 2020; L. T. Nguyen et al., 2013).

1.5.11. Contribuciones del microambiente tumoral

El microambiente tumoral (MaT) que podría ser considerado como el decimoprimer hallmark, influye en el estado inflamatorio.

En el año 2018 un artículo menciona: “*la Teoría de la Mutación Somática en cáncer, se ve hoy completada con el estudio del microambiente tumoral, la matriz extracelular, las células estromales, la respuesta inmune, la invasión, la nutrición, la mitocondria, el metabolismo, el fluido intersticial, las propiedades mecánicas y electromagnéticas del tejido*” (Noguera et al., 2019).

Esta nueva visión nos permite pasar de considerar el proceso oncológico como un problema celular a una alteración supracelular que se basa en un proceso de desorganización de los tejidos, inmersos en las múltiples relaciones del sistema complejo que conforma un ser vivo.

Cuando se produce una interacción anómala entre célula-microambiente de obtiene como resultado un comportamiento celular aberrante. Esta interacción entre propiedades físicas y químicas establece una reciprocidad dinámica entre células neoplásicas, células estromales, la microvascularización, factores de control del crecimiento tumoral, en andamiaje de MEC, la invasión y el campo bioeléctrico. Para que se induzca una reconfiguración topográfica del estroma el infiltrado inmune, las células gliales, los fibroblastos asociados a tumor (CAF, *cancer-associated fibroblasts*) y las células tumorales trabajan en conjunto para modular la MEC dentro del MaT (Noguera et al., 2019).

Los macrófagos asociados a tumor son la población de células infiltrantes más abundante y contribuyen al control antitumoral en su fenotipo M1 y a la progresión maligna en su fenotipo M2. Los neutrófilos asociados a tumor tienen la capacidad de cambiar su función antitumoral a un fenotipo protumorigénico, inducido por el MaT.

Las células inflamatorias infiltradas como DC, linfocitos B y T, macrófagos y células inmunes innatas eliminan la mayoría de sustancias no deseadas, así como las células dañadas o aberrantes pero los diferentes componentes como hipoxia, metabolitos, cambios en pH, la presión intersticial, la angiogénesis y la remodelación de la MEC, conducen a un microambiente crónicamente

inflamatorio que proporciona el inicio de señales supresoras que, en el caso de que se llegue a perder el patrón ordenado del tejido podrá mutar en señales promotoras de tumor (Noguera et al., 2019).

Tomando en cuenta lo descrito anteriormente, está claro que todas estas marcas distintivas del cáncer (*hallmarks*) se deben tener en cuenta al llevar a cabo la identificación y creación de objetivos potencialmente terapéuticos.

Tomando en cuenta lo descrito anteriormente, está claro que todas estas marcas distintivas del cáncer (*hallmarks*) se deben tener en cuenta al llevar a cabo la identificación y creación de objetivos potencialmente terapéuticos.

Capítulo 2. Generalidades de la inmunología

“Un verdadero científico se aburre con el conocimiento. Es el asalto a la ignorancia lo que lo motiva, los misterios que anteriores descubrimientos han revelado”.

Matt Ridle

2.1. Características de la respuesta inmunológica

El sistema inmunológico tiene como principal objetivo reconocer y diferenciar lo que es propio de un individuo de lo que no es propio.

La respuesta inmunológica conjunta y coordinada protege al individuo frente a las enfermedades infecciosas, sin embargo agentes no infecciosos y moléculas propias pueden desencadenar una respuesta inmune. Así mismo ayuda al individuo a mantener la homeostasis del cuerpo ayudando a eliminar células muertas o transformadas (Abbas et al., 2018i; Estrada Parra et al., 2016).

Una característica importante con la que cuenta el sistema inmune para reconocer células dañadas o transformadas es la especificidad. Este reconocimiento es llevado a cabo por medio de diferentes receptores como: PAMP (Patrones moleculares asociados a patógenos o *Pathogen-Associated Molecular Patterns*), DAMP (Patrones moleculares asociados a daño o *Damage-Associated Molecular Patterns*), PRR (Receptores de reconocimiento de patrón o Pattern Recognition Receptors), TCR (Receptor de linfocito T o T Cell Receptor), BCR (Receptor de linfocito B o B Cell Receptor) y anticuerpos secretados por células plasmáticas, los cuales se describirán más adelante (L. T. Nguyen et al., 2013; Pérez Tapia et al., 2016).

La **inmunidad innata, natural o nativa** es de suma importancia para desarrollar respuestas secuenciales y coordinadas de defensa contra los microbios las primeras horas o días posteriores a la infección, antes de que se desarrollen las respuestas inmunitarias adaptativas.

Por el contrario, la respuesta **inmune adaptativa, específica o adquirida** surge como respuesta a la infección estimulada por la exposición a microorganismos infecciosos que aumentan en capacidades defensivas y en magnitud con cada exposición sucesiva a un agente en particular. Este sistema inmune reconoce gran cantidad de sustancias microbianas y no microbianas, llamadas antígenos (Abbas et al., 2018i).

2.2. Presentación de Antígeno - Complejo principal de histocompatibilidad (MHC)

Existen 2 tipos de MHC:

Las moléculas del MHC de clase I (MHC-I) son glicoproteínas transmembranales que se expresan en casi todas las células. Su función principal es presentar el antígeno a los linfocitos T CD8, los cuales tienen como función principal llevar a cabo la muerte directa de una célula infectada y una célula tumoral, así como secretar citocinas que contribuyan a la activación de macrófagos y generar inflamación en defensa del hospedador.

Los péptidos derivados de virus y las proteínas derivadas de células tumorales serán procesados en MHC-I (Abbas et al., 2018h; Ortiz Navarrete et al., 2016).

Las moléculas del MHC de clase II (MHC-II) son glicoproteínas transmembranales que se expresan principalmente en células presentadoras de antígeno (APCs) tales como macrófagos, linfocitos B y DC, o pueden inducirse al expresarse en células solo en caso de inflamación. Su función principal es presentar el antígeno a los linfocitos T CD4, los cuales tienen como función principal la producción de citocinas que median sus funciones, el reconocimiento específico de los microbios, reclutamiento, activación y migración de otros leucocitos y estimulan la producción de anticuerpos por los linfocitos B (Abbas et al., 2018h; Ortiz Navarrete et al., 2016).

Existen tres rutas principales por las cuales los péptidos pueden procesarse y unirse a las moléculas de MHC que se denominan: endógena, exógena y de presentación cruzada.

La **ruta endógena** se produce en la mayoría de las células, las proteínas son digeridas por un gran complejo macromolecular conocido como proteasoma. Normalmente el proteasoma procesa proteínas propias pero cuando una célula está expuesta a citocinas inflamatorias como interferón γ (INF- γ) o TNF- α la estructura del proteasoma se altera en una estructura conocida como inmunoproteasoma, que es más eficiente en el procesamiento de péptidos con alta eficacia de unión a la hendidura de MHC-I. Los complejos péptido-clase I del MHC que se crean en el retículo endoplásmico (RE), se mueven a través del aparato de Golgi y son transportados hacia la superficie celular mediante vesículas exocíticas. Ya expresados en la superficie celular, los complejos péptido-clase I pueden ser reconocidos por linfocitos T CD8+ (Abbas et al., 2018h) (Figura 2.1).

La mayoría de los antígenos proteínicos citosólicos se sintetizan dentro de las células, algunos son inyectados en el citosol mediante mecanismos secretores bacterianos y otros son fagocitados y transportados desde las vesículas al citosol. Algunos ejemplos de esto son los productos de virus y células tumorales, en donde varios genes mutados o que se expresan en exceso pueden producir antígenos proteínicos que son reconocidos por MHC-I (Abbas et al., 2018h).

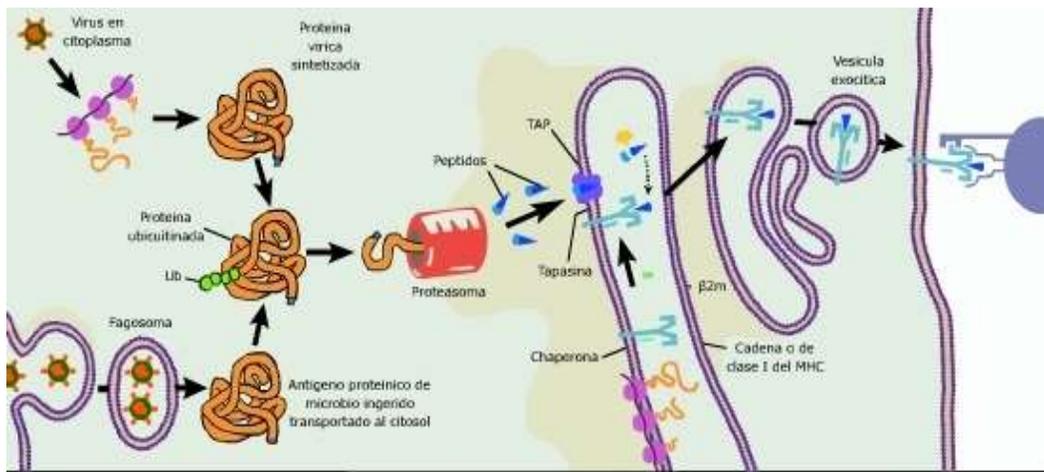


Figura 2.1. Ruta endógena. Vía de presentación del antígeno de la clase I del MHC (Modificada de: Abbas et al., 2018h).

La **ruta exógena** del procesamiento de proteínas comienza cuando una APCs adquiere material de fuera de la célula por fagocitosis o endocitosis mediada por un receptor. Las DCs y los macrófagos expresan varios receptores de superficie

que reconocen estructuras que comparten muchos microbios. Estas APCs usan los receptores para unirse a los microbios e interiorizarlos de manera eficaz. Una vez fagocitados, los antígenos proteínicos se localizan en vesículas intracelulares rodeadas de membrana llamada endosomas.

Las moléculas de la clase II de MHC son sintetizadas en el retículo endoplásmico y se transportan a los endosomas con una proteína asociada llamada, cadena invariante (Ii), que ocupa la hendidura de unión al péptido de las moléculas de clase II de MHC recién sintetizadas.

La degradación de la cadena invariante deja un resto de 24 aminoácidos llamado péptido de la cadena invariante de clase II (CLIP, *class II-associated invariant chain peptide*), este CLIP se asienta en la hendidura de unión al péptido de la misma forma que otros péptidos se unen a las moléculas de MHC-II; por este motivo el CLIP debe eliminarse para que la hendidura quede libre y accesible a los péptidos antigénicos producidos a partir de proteínas extracelulares. Una vez que los complejos péptido-MHC-II son expresados en la superficie celular de APCs son reconocidos por los linfocitos T CD4+ (Abbas et al., 2018h) (Figura 2.2).

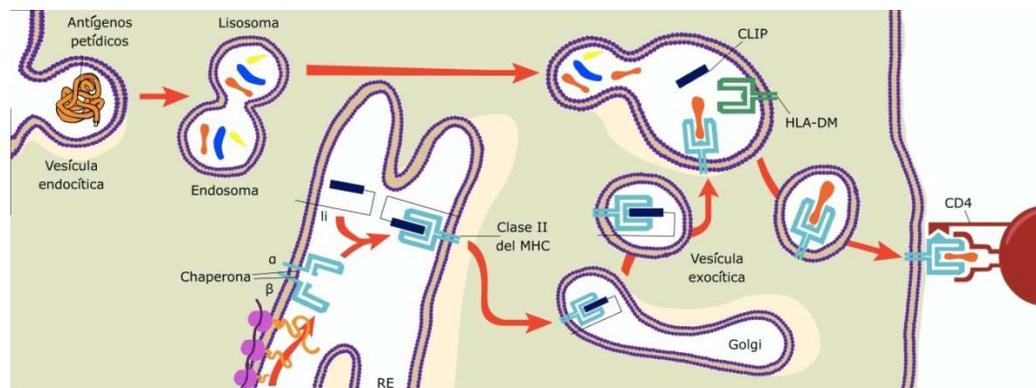


Figura 2.2. Ruta exógena. Vía de presentación del antígeno de la clase II del MHC (Modificada de: Abbas et al., 2018h).

La **presentación cruzada** es la habilidad que presentan ciertas células presentadoras de antígeno, como DCs y macrófagos, de procesar antígenos que existen dentro de la vía endosomal y/o fagosomas y de presentarlos en moléculas MHC-I a linfocitos T CD8+. También permite que antígenos exógenos (por lo regular presentados por MHC-II) sean presentados por moléculas MHC-I.

En esta ruta, los antígenos ingeridos se transportan desde las vesículas al citosol, desde donde los péptidos entran en la ruta endógena.

Esta presentación indica que un tipo de célula DCs puede presentar antígenos de otra célula (célula infectada por virus o célula tumoral) y activar linfocitos T específicos frente a esos antígenos (Abbas et al., 2018h) (Figura 2.3).

Existen dos modelos intracelulares para la presentación cruzada: la vía vacuolar y la vía vacuolar-citosólica.

Esta ruta es muy importante para la activación de células T específicas de tumor, ya que las células tumorales no son células presentadoras de antígeno. La presencia medible de células T implica una respuesta a tumores, ya que en un punto una célula dendrítica pudo haber adquirido un péptido derivado de tumor el cual fue procesado por MHC-I, resultando en la activación de linfocitos T CD+8 naive (Abbas et al., 2018h; L. T. Nguyen et al., 2013; Ortiz Navarrete et al., 2016).

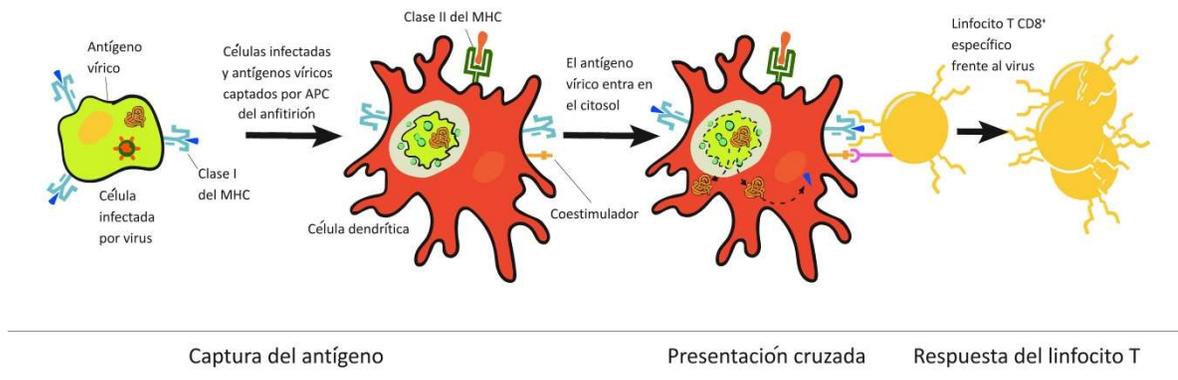


Figura 2.3. Presentación cruzada de antígenos a los linfocitos T CD8+ (Modificada de: Abbas et al., 2018h).

2.3. Mecanismos de reconocimiento de daño

Las células del sistema inmunológico innato en la línea germinal han desarrollado una estrategia para reconocer los patógenos mediante un número limitado de receptores específicos de reconocimiento. Estos receptores están diseñados para reconocer estructuras moleculares conservadas en la naturaleza durante el transcurso de la evolución, por lo que se conservan filogenéticamente.

Los mecanismos presentan características específicas las cuales se describen a continuación.

2.3.1. Patrones moleculares asociados a daño o DAMP (*Damage-associated molecular patterns*)

También conocidas como alarminas endógenas, moléculas que producen o liberan células dañadas o que están muriendo por los efectos nocivos de los agentes patógenos o no patógenos. Son capaces de iniciar y perpetuar la respuesta inmune ante otras causas de daño en los tejidos en ausencia de una infección por patógenos como: quemaduras, isquemia, traumatismo y cáncer.

Algunas enfermedades como: lupus eritematoso sistémico, artritis reumatoide y cáncer, producen incremento en la concentración sérica de los DAMP.

Las células que mueren por apoptosis no suelen producir DAMP.

2.3.2. Receptores de reconocimiento de patrones o PRR

Son moléculas de reconocimiento celular que se dicen propios del sistema inmune innato pero también se expresan en células del sistema inmune adaptativo y en diferentes células epiteliales y parenquimatosas.

Estas moléculas las expresan células fagocíticas (macrófagos y neutrófilos), DCs y células epiteliales entre otras. Se expresan en vesículas fagocíticas, en la superficie y en el citosol de varios tipos celulares que se encuentren localizadas en el sitio en donde puede haber microbios. Cuando estos receptores se unen a PAMP y DAMP activan la transducción de señales que promueven las funciones antimicrobianas y proinflamatorias de las células en las que se expresan.

Estos PRR activan mecanismos como la producción de mediadores inflamatorios, opsonización, fagocitosis, quimiotaxis, una respuesta antiviral o activación del sistema del complemento.

Uno de los receptores más importantes son los **receptores tipo Toll o TLR**. Estos son glicoproteínas tipo I que presentan un dominio extracelular y uno citoplasmático que comparte dominio con el receptor de IL-1 (IL-1R) llamado dominio TIR (Toll/IL-1 receptor domain).

Los TLR son receptores transmembranales localizados en la membrana extracelular o en membranas endosomales que son capaces de reconocer gran cantidad de PAMP. Forman un nexo entre el compartimiento extracelular (en donde se produce el contacto y reconocimiento del patógeno) y el compartimiento intracelular (en donde se genera una serie de señales activadoras de la respuesta inmune). Se clasifican en TLR1, TLR2, TLR3, TLR4, TLR5, TLR6, TLR7, TLR8, TLR9, TLR10 y TLR11 y se expresan sobre todo en DCs, macrófagos, monocitos, neutrófilos, células cebadas, eosinófilos, basófilos, células NK y células epiteliales, permitiendo que el reconocimiento de patógenos no sea exclusivo de los leucocitos.

Así mismo, los TLR participan de forma importante en el reclutamiento de leucocitos en sitios de infección, en la modulación de la respuesta adaptativa al estimular la producción de citocinas como IL-10 e IL-12, en la diferenciación de células plasmáticas y activación de linfocitos T CD4+ reguladores, Th1 y Th3.

Un ejemplo del mecanismo de reconocimiento es el uso de un medicamento llamado imiquimod en pacientes oncológicos, el cual activa TLR7 lo que da como resultado la producción de IFN- α .

La activación inapropiada de los TLR puede desencadenar una enfermedad autoinmune o participar en mecanismos de evasión de la respuesta inmunológica (Abbas et al., 2018g; Chávez Sánchez et al., 2016).

Las tres citocinas proinflamatorias más importantes de la respuesta inmune innata que intervienen en la respuesta contra células tumorales son: factor de necrosis tumoral (TNF), IL-1 e IL-6 (Abbas et al., 2018g; Montaña Estrada & Rendón Huerta, 2016; Tizard, 2013).

2.4. Inmunidad Adaptativa o específica

Este tipo de inmunidad se caracteriza por su especificidad precisa para distinguir distintas moléculas y por presentar una capacidad de “recordar” y responder con más intensidad a la exposición repetida a un mismo antígeno, lo que se conoce como memoria. Por esta razón también recibe el nombre de “adquirida” para resaltar que estas vigorosas respuestas protectoras se “adquieren” por experiencia.

Las características principales de este tipo de respuesta inmune son: especificidad, diversidad, memoria, expansión clonal, especialización, contención y homeostasis.

Los componentes principales de esta respuesta inmune son los linfocitos T que constan de poblaciones con funciones diferentes como los linfocitos T cooperadores CD4+ con sus respectivas variantes como los linfocitos Treg y los linfocitos T citotóxicos o citolíticos CD8+ (CTL) y los linfocitos B que producen anticuerpos. Las sustancias ajenas que desencadenan esta respuesta inmunitaria específica y que son reconocidos por linfocitos o anticuerpos se denominan antígenos. Otros componentes de esta respuesta son los linfocitos Treg que actúan sobre todo, inhibiendo las respuestas inmunitarias y a los linfocitos NK.

Las diferentes clases de linfocitos se distinguen por la expresión de proteínas en su superficie que se denominan moléculas CD (clusters de diferenciación) y están numeradas.

Todas las células del sistema inmunitario secretan alguna citocina que regulan y coordinan muchas actividades de las células. Algunas de estas citocinas se llaman interleucinas (IL) seguidas de un número y otras reciben su nombre en relación con la actividad biológica que se les atribuyó, como el factor de necrosis tumoral o el interferón.

Entre algunas de las funciones de estas citocinas está el crecimiento y diferenciación de todas las células del sistema inmune, la activación de las funciones efectoras de los linfocitos y los fagocitos, y el movimiento dirigido de las células inmunitarias desde la sangre hacia los tejidos y dentro de estos.

El receptor de linfocito B (BCR) y el receptor del linfocito T (TCR) se genera de forma única en cada célula como consecuencia del reordenamiento de ADN.

Los BCR se pueden unir al antígeno en su forma natural, entonces el linfocito B puede detectar antígeno no procesado. Por el contrario los linfocitos T no reconocen al antígeno en su forma natural, sino que estos linfocitos reconocen fragmentos peptídicos unidos en el MHC de las células presentadoras de antígenos (Abbas et al., 2015; Pérez Tapia et al., 2016; Weinberg, 2014).

El reconocimiento del antígeno por el TCR se realiza mediante el acoplamiento con moléculas MHC I o II expresadas por APCs. La interacción celular linfocito T – APC induce en los linfocitos T la secreción de citocinas y /o actividad citotóxica.

La inmunidad protectora frente a un agente agresor puede producirse por la respuesta del hospedero al agente, por la transferencia de linfocitos específicos o por la transferencia de anticuerpos para dicho agente.

Para que dé inicio a esta respuesta inmune se requiere la captación de los antígenos y su exposición ante linfocitos específicos. Esto es llevado a cabo por APCs de las cuales las más especializadas son las DCs, que se encargan de captar a los antígenos microbianos que penetran desde el exterior, los transportan hacia los órganos linfáticos y los presentan a los linfocitos T vírgenes para desencadenar la respuesta inmunitaria.

La destrucción del antígeno suele requerir de la participación de células denominadas células efectoras.

Los fagocitos mononucleares, los linfocitos T activados y otros leucocitos actúan como células efectoras.

Existen tres estrategias principales mediante las cuales actúa el sistema inmune adaptativo: anticuerpos, fagocitosis y muerte de la célula mediante linfocitos T citotóxicos.

2.5. Activación de linfocitos T

Ocurre principalmente en órganos linfoides secundarios o periféricos, a través de los cuales estas células circulan normalmente y donde pueden encontrarse con los antígenos presentados por las células dendríticas maduras.

Los linfocitos T vírgenes, que no han reconocido ni respondido a ningún antígeno, circulan a través del cuerpo en estado de reposo y adquieren capacidades funcionales después de activarse.

Este proceso estabiliza el contacto entre los linfocitos T y las APC que expresan el antígeno relevante, permitiendo así iniciar el proceso de activación.

Este reconocimiento del antígeno induce varias respuestas por parte de los linfocitos T; entre ellas: la secreción de citocinas, el aumento del número de

células en clones específicos frente al antígeno (expansión clonal) y la diferenciación de las células vírgenes en linfocitos efectores y de memoria.

El antígeno que transportan las DCs hacia los linfonodos son reconocidos por linfocitos T vírgenes, estos se activan y diferencian, pudiendo permanecer en linfonodos o migrar hacia tejido no linfático.

La presentación de antígenos por ciertos linfocitos T cooperadores puede provocar la producción de ciertas Ig (inmunoglobulinas) especializadas, así mismo los linfocitos T cooperadores pueden contribuir a la activación de linfocitos T citotóxicos (Abbas et al., 2015; L. T. Nguyen et al., 2013; Pérez Tapia et al., 2016; Weinberg, 2014).

Capítulo 3. Respuesta inmunológica a tumores

“Nada en la vida debe temerse; solo debe comprenderse”.

Marie Curie

3.1. Inmunovigilancia e inmunoedición

La mayoría de los tumores se caracterizan por presentar inestabilidad genética, por lo que pueden producir proteínas modificadas que son reconocidas como no propias por el sistema inmunológico del hospedero, debido a esto se activa la respuesta inmunológica y en respuesta la eliminación de células potencialmente tumorales. Esta habilidad que permite al hospedero reconocer células transformadas fue propuesta por Macfarlane Burnet alrededor de 1950 y fue denominada como inmunovigilancia (Abbas et al., 2018f; Huerta Yopez et al., 2016).

Actualmente existe una teoría denominada inmunoedición, en donde se propone que las células transformadas que son eliminadas por el sistema inmunológico son reemplazadas por poblaciones con variaciones genéticas que las hacen inmunorresistentes. Teniendo como resultado una edición o inmunoselección, en donde el tumor se desarrollará a partir de variantes celulares heterogéneas genéticamente inestables que presentan una disminución en sus marcadores de diferenciación, proliferando con rapidez y siendo inmunorresistentes, evitando ser destruidas, dando origen a la fase de evasión del sistema inmune.

Se sabe que el sistema inmunológico está involucrado en procesos importantes para prevenir el cáncer como:

- ✓ Proteger al hospedero de infecciones virales, suprimiendo los tumores inducidos por virus.

- ✓ Prevenir el establecimiento de microambientes inflamatorios que facilitan la tumorigénesis.

Además, el sistema inmunológico controla la cantidad y calidad de la respuesta inducida contra el tumor (inmunogenicidad). No solo protege al hospedero contra el tumor, sino que también modula la inmunogenicidad, de tal manera que el sistema inmunológico juega un papel protector e inductor de acciones que promueven el desarrollo tumoral (Abbas et al., 2018f; Huerta Yopez et al., 2016; Vesely & Schreiber, 2013).

La inmunoedición del cáncer incluye tres fases: eliminación, equilibrio y escape.

3.1.1. Fase de eliminación

También denominada inmunovigilancia en cáncer, es una fase en la que tanto el sistema inmune innato como el adaptativo detectan y destruyen las células que darán origen a tumores clínicamente aparentes.

Las células tumorales expresan moléculas inducidas por estrés tales como el interferon gamma (IFN γ), el cual es producido en la fase temprana del desarrollo del tumor, así como señales dadas por los patrones moleculares asociados a daño, incluyendo al ácido hialurónico proveniente de los tejidos dañados. Estas moléculas son ligandos que se unen a receptores en células NK y en linfocitos T CD8, que inducen una respuesta antitumoral y liberan citocinas proinflamatorias e inmunomoduladoras inhibiendo la proliferación celular tumoral, la angiogénesis e induciendo apoptosis; facilitando el desarrollo de la respuesta inmune adaptativa. Esta respuesta depende de la expresión de antígenos específicos de tumor o asociados con el tumor para poder propagar la expansión de células T CD4 y T CD8 antitumorales.

A su vez, las células de la inmunidad innata como macrófagos (M1) y granulocitos contribuyen secretan TNF- α , IL-1, IL-12 y ROS (Huerta Yopez et al., 2016; Mittal et al., 2014).

3.1.2. Fase de equilibrio

En esta fase la respuesta inmune adaptativa restringe el crecimiento de variantes de células tumorales que sobrevivieron a la fase de eliminación. El sistema inmune

mantiene estas células residuales en estado de latencia, término que describe un periodo del ciclo biológico de las células tumorales en el cual su actividad biológica permanece inactiva y eventualmente pueden crecer o acumular cambios (mutaciones en el ADN o cambios en la expresión génica) que alteran su fenotipo e inducen tumores primarios o metástasis; también conocido como equilibrio dinámico (Bernal et al., 2015; Huerta Yopez et al., 2016).

Durante este periodo hay una interacción sistema inmune/tumor en la que se producen nuevas poblaciones celulares con variaciones genéticas aptas para la supervivencia en el hospedero inmunocompetente; por lo tanto esta inestabilidad genética les proporciona la capacidad de presentar una inmunogenicidad reducida, lo que aumenta la resistencia al ataque inmune. Finalmente, la latencia de las poblaciones de células tumorales puede romperse, lo que lleva a la progresión de las células a la fase de escape.

La IL-12, IFN γ , linfocitos T CD4 y T CD8 son responsables de mantener a las células tumorales en equilibrio.

La fase de equilibrio es la más larga de las tres fases y puede ocurrir por un periodo de años, conforme a lo descrito en seres humanos.

El proceso de inmuoedición del cáncer puede no siempre representar la progresión lineal de un tumor desde la fase de eliminación hasta la fase de equilibrio y hasta la fase de escape final de la detección clínica. De hecho, este proceso puede finalizar en la fase de eliminación si el proceso de inmunovigilancia del cáncer tiene éxito en la destrucción de un tumor en desarrollo (Dunn et al., 2002, 2004; Schreiber et al., 2011; Vesely & Schreiber, 2013).

3.1.3. Fase de escape

En esta fase las células tumorales que adquirieron la habilidad de evadir el reconocimiento inmunológico y evitar la eliminación crecen y se convierten en tumores morfológicamente detectables.

Existen diversos mecanismos por los cuales estas células tumorales pueden escapar: a nivel de la célula tumoral, se presentan alteraciones que reducen el reconocimiento antigénico, como la pérdida de antígenos de membrana (baja expresión de antígenos en las células, pérdida de moléculas de MHC clase I,

proteínas que presentan estos antígenos a células T tumorales específicas y deficiencia en el procesamiento de antígenos dentro de la célula tumoral que se necesita para producir el epítipo peptídico antigénico y cargarlo en la molécula MHC clase 1); también puede haber un aumento de la resistencia a los efectos citotóxicos de la respuesta inmunológica, por ejemplo, la activación persistente de factores de transcripción protooncogénicos como STAT3 y la expresión de moléculas antiapoptóticas como BCL-2. Otros mecanismos de escape están relacionados con el establecimiento de un microambiente supresor en el tumor debido a la producción de citocinas inmunosupresoras como VEGF y TGF- β , galectina 1 eIDO; o bien, en el reclutamiento de células reguladoras inmunosupresoras de la respuesta inmune que funcionan como los efectores de la inmunosupresión. Un ejemplo de estas células reguladoras son linfocitos Treg, que son linfocitos T CD4+ que cuando se estimulan inhiben la función de los linfocitos T específicos del tumor produciendo citocinas inmunosupresoras como IL-10 y TGF- β , expresando moléculas coestimuladoras negativas entre estas PD-L1 (Ligando de receptor de muerte celular programada 1) y PD-1 (Receptor de proteína de muerte celular programada). Las MDSC son un grupo heterogéneo de células progenitoras mieloides y células mieloides inmaduras que inhiben la función de los linfocitos al inducir células Treg; produciendo TGF- β , agotando o secuestrando los aminoácidos arginina, cisteína y triptófano, necesarios para las funciones de las células T; teniendo como resultado un proceso de selección de variantes de células tumorales poco inmunogénicas que se vuelven “invisibles” al sistema inmune, adquiriendo la capacidad de crecer progresivamente (Bernal et al., 2015; Dunn et al., 2004; Huerta Yopez et al., 2016; Schreiber et al., 2011).

3.2. Antígenos asociados a tumores y antígenos específicos de tumor

La presencia de TAA (Tumor Associated Antigens o antígenos asociados a tumores) que se expresan tanto en células normales como en células tumorales, y de TSA (Tumor Specific Antigens o antígenos específicos de tumores) que se

expresan sólo en células tumorales permiten que la respuesta inmunológica antitumoral se active.

Los antígenos son heterogéneos y reconocidos por linfocitos Th y Tc; se clasifican de acuerdo a su expresión en: antígenos de diferenciación, antígenos únicos o neoantígenos, antígenos testiculares, antígenos sobreexpresados, antígenos oncofetales, antígenos de virus oncógenos y antígenos de oncogenes descritos en el cuadro 3.1.

Cuadro 3.1. Antígenos tumorales (Modificada de: Abbas et al., 2018f; Huerta Yopez et al., 2016).

Antígeno tumoral	Células afectadas	Origen	Ejemplos
Únicos o neoantígenos	Células tumorales	Mutaciones genéticas y de proteínas de fusión provenientes de aberraciones cromosómicas de células transformadas	K-RAS BRAF CDKN2A
De diferenciación	Células normales del mismo linaje y células tumorales	Alguna etapa de diferenciación de la célula normal	Melan-A/MART-1 Gp100 TRP1 y TRP2 CEA PSA
Testiculares	Células tumorales	-Células germinales testiculares MHC y trofoblastos de placenta -Alteraciones epigenéticas	MAGE BAGE GAGE SAGE SCP-1/TOM-Tes-14 SSX/-2HOMEL-40 CT9 y CT10
Sobreexpresados	Células tumorales	Durante el desarrollo fetal, aún	CEA PSA

		no está claro.	PSAM p53 HER-2
Oncofetales	Células tumorales	Durante el desarrollo fetal	OFA/iLRP AFP CEA Glipicano 3
Oncogenes	Células normales o células tumorales	Mutaciones en protooncogenes	RAS p53 HER-2
Virus oncógenos	Células normales	Transformación celular	E6 y E7 Virus de Epstein-Barr Poliomavirus Hepatitis B y C

Estos antígenos tumorales experimentan un procesamiento antigénico en el interior celular, para ser presentados en forma de fragmentos más pequeños (péptidos) por moléculas MHC en la superficie de la célula tumoral o de APC. Los linfocitos T CD8+ citotóxicos reconocen, a través de sus receptores de membrana (TcR, T cell receptors), péptidos derivados de antígenos tumorales presentados por moléculas MHC clase I sobre la célula neoplásica, mientras que los linfocitos T CD4+ reconocen péptidos tumorales asociados a moléculas MHC clase II presentados por APC.

Este reconocimiento específico, en presencia de moléculas coestimuladoras, conduce a la activación y la expresión clonal de linfocitos T. Los linfocitos T CD8+ pueden mediar la destrucción específica de células tumorales a través de la liberación de componentes líticos, constituyendo una parte esencial de la respuesta inmunitaria encargada de la inhibición del crecimiento y del desarrollo tumoral. Los linfocitos T CD4+ Th1 contribuyen a orquestar y mantener la respuesta inmunitaria adaptativa frente al tumor mediante la secreción de citocinas

que potencian la proliferación de la actividad citotóxica de los CTL (Bernal et al., 2015; Huerta Yopez et al., 2016).

3.3 Mecanismos de evasión inmunitaria

Las células tumorales tienen la habilidad de generar mecanismos capaces de evadir la respuesta inmune del hospedador.

En la mayoría de los tumores humanos la capacidad para escapar de la respuesta inmune antitumoral está asociada con alteraciones en la expresión de antígenos de superficie en la célula neoplásica. Algunos tumores no tienen péptidos o proteínas que pueden ser presentadas por MHC y por lo tanto parecen normales ante el sistema inmune. Otras células pierden una o más moléculas MHC y la mayoría no expresa proteínas coestimuladoras que son requeridas para activar linfocitos T. Diversos antígenos tumorales pueden ser reconocidos por los CTL mediante el MHC tipo I. Sin embargo, la célula tumoral desarrolla mecanismos de escape asociados a la alteración en la expresión de MHC tipo I, impidiendo la presentación antigénica y consecuentemente la activación y respuesta de los CTL. Siendo posible que este mecanismo marque el inicio del escape tumoral a la inmunovigilancia (Bernal et al., 2015; Murphy, 2012).

El escape tumoral a la inmunovigilancia se ve favorecido por mecanismos inmunosupresores que comprenden la secreción de citocinas específicas y la presencia de células inmunoregulatoras en el microambiente tumoral.

En este existen poblaciones de células efectoras de origen linfoide y mieloide que, por el efecto de factores derivados del tumor, contribuyen a potenciar una red inmunosupresora que perjudica la efectividad de la inmunidad.

Algunos de estos mecanismos incluyen: producción de TGF- β , que inhibe la proliferación y las funciones efectoras de linfocitos y macrófagos, supresión de respuestas de linfocitos T causado por la presencia de linfocito Treg, la presencia de macrófagos asociados a tumores mediante la secreción de IL-10 y prostaglandina E₂, que reduce la activación y las funciones efectoras de linfocitos T, así como la reducción de la actividad de las DCs; así mismo, los TAMs secretan factores promotores de angiogénesis como TGF- β y VEGF. Algunos de los mecanismos que juegan un papel importante en la inmunosupresión son causados

por las MDSCs, DCs y neutrófilos. Estas MDSCs son reclutadas al microambiente tumoral a través de quimioatrayentes, muchos de los cuales son inducidos por el tumor durante la hipoxia y están directamente relacionados por los efectos de la producción del factor inducible de hipoxia 1α (HIF- 1α). Además, estas células promueven la invasión y metástasis mediante la producción de metaloproteasas de la matriz extracelular; suprimen la respuesta inmune innata secretando IL-10, que inhibe las funciones inflamatorias de macrófagos activados y DCs, al mismo tiempo son capaces de suprimir no solo linfocitos T sino también células NK. Muchos tipos de cáncer expresan una proteína de superficie llamada PD-L1, un miembro de la familia B7 y un ligando para el receptor inhibitor PD-1 expresado por células T activadas. Potencian el desarrollo de linfocitos Treg y TAMs a través de la producción de TGF- β e IL-10.

Las MSDCs son capaces de suprimir la inmunovigilancia por parte de linfocitos T y de células NK mediante la producción de óxido nítrico inducible (NO), especies de óxido nítrico sintasa inducible (iNOS), arginasa 1 (Arg1), ROS, IDO y peroxinitritos. Esta información nos revela que las MSDCs facilitan el crecimiento tumoral no sólo produciendo factores proangiogénicos sino también mediante mecanismos inmunosupresores que inhiben las respuestas efectoras de los linfocitos T (Abbas et al., 2018f; Bernal et al., 2015; Dow & Guth, 2020; Kerkar & Restifo, 2012; Murphy, 2012).

3.3.1. Inducción de células T reguladoras por el tumor

Existe otra población celular que se encuentra significativamente aumentada en presencia de tumores tanto en humanos como en los demás animales, estas son los linfocitos Treg, que se expanden en el tejido tumoral, linfonodos que drenan directamente al tumor, sangre y médula ósea. Estas células expresan un marcador de superficie CD4 y CD25 pero son mejor identificadas por un factor de transcripción intracelular llamado forkhead box P3 (foxp3). Son productoras de IL-10 y TGF- β y expresan varios marcadores de superficie como GITR, Lag3, receptor de folato 4 (FR-4), antígeno 4 de linfocito T citotóxico (CTLA-4) y PD-1, estos 2 últimos interactúan con sus respectivos ligandos CD80/CD86 y PD-L1 en APC.

La presencia en el microambiente tumoral de IL-6 y TGF- β promueve la conversión de linfocitos T CD4 a linfocitos Treg, estos crean un ambiente inmunosupresor mediante la atenuación de las respuesta efectoras de linfocitos CD4+, CD8+ específicas de tumor y células NK. La proliferación de Tregs específicos de tumor es producida después de que ocurre el reconocimiento de antígenos, o el reclutamiento de estas células mediante la señalización de la quimiocina CCR5 y CCL-1.

La presencia de Tregs en linfonodos con metastásis causa la inhibición de respuesta antitumoral eficaz por parte de los linfocitos infiltrantes tumorales. De la misma manera las células Treg expresan un receptor heterotrimérico que tiene afinidad 100 veces mayor por IL-2, esta diferencia funcional resulta en disminución de la efectividad de esta citocina y probablemente de otras citocinas homeostáticas y antitumorales como IL-7, IL-12 e IL-15.

Se ha demostrado que la presencia de niveles altos de células Treg se relaciona con un peor pronóstico.

Actualmente se ha demostrado en humanos que el tratamiento con anticuerpos específicos anti Treg y el uso de ciclofosfamida disminuye la cantidad de Tregs en tumores y en la circulación de pacientes portadores de tumores. También en perros se ha demostrado que el fármaco inhibidor de la tirosina quinasa Palladia® (Toceranib), puede agotar Tregs tanto *in vitro* como *in vivo* (Bernal et al., 2015; Dow & Guth, 2020; Kerkar & Restifo, 2012; Mitchell et al., 2012).

3.3.2. Alteración de la activación y función de las células dendríticas

Otro mecanismo de supresión tumoral es mediante el deterioro en la presentación de antígeno por parte de las DCs. Se ha demostrado que existe una disminución en el número de DCs en varios tumores humanos. Un factor importante que aumenta la apoptosis de DCs es la presencia deIDO; esta enzima degrada al triptófano esencial para la proliferación y activación de linfocitos T, por lo que la disminución del triptófano inhibe una adecuada respuesta de células T. También el aumento de células dendríticas inmaduras (iDCs) reduce la presentación de

antígenos ya que no expresan moléculas coestimulantes como CD40, CD80 y CD86 disminuyendo la estimulación de linfocitos T, por lo tanto induce tolerancia de linfocitos T en lugar de activación. La presencia de IL-10, IL-6 y el VEGF pueden afectar negativamente la función y maduración de DCs. Otros posibles mecanismos que causan esta disfunción es la sobreexpresión de la proteína S100A9, la acumulación de triglicéridos en la DC y la disminución en la regulación del receptor tipo Toll 9.

Los tumores han desarrollado mecanismos para alterar la diferenciación de las DCs que afecta la capacidad de llevar a cabo respuestas inmunes efectivas contra antígenos tumorales (Dow & Guth, 2020; Kerkar & Restifo, 2012).

3.3.3. Producción de citocinas inmunosupresoras

Las citocinas son proteínas producidas o secretadas por diferentes tipos celulares como linfocitos activados, macrófagos, células endoteliales, epiteliales y del tejido conjuntivo. Tienen efectos como reguladores de sistema inmune innato, sistema inmune adaptativo y hematopoyesis; así mismo modulan las funciones de otros tipos celulares.

La inducción y regulación de las respuestas inmunitarias se llevan a cabo mediante múltiples interacciones entre linfocitos, DCs, macrófagos y otras células inflamatorias y endoteliales. Muchas de estas interacciones dependen del contacto intercelular directo; sin embargo muchas de estas interacciones y funciones efectoras de los leucocitos están determinados por mediadores secretados llamados citocinas. Algunas de estas citocinas se denominan interleucinas (IL) porque median las comunicaciones entre leucocitos.

Los TAM y las células T son con frecuencia los leucocitos con mayor presencia en tumores.

En el microambiente tumoral, existe un delicado equilibrio entre inmunidad antitumoral y actividad proinflamatoria originada en tumores, que debilita la inmunidad antitumoral. Cuando la actividad antitumoral mediada por el hospedero es más débil que la actividad inmunosupresora mediada por el tumor, las células tumorales experimentan el proceso de escape inmunológico por lo que podrán proliferar (Abbas et al., 2018g; Rescigno et al., 2007; Romano & Margolin, 2017).

El resultado de un microambiente inflamatorio persistente es la promoción tumoral, invasión de tejidos circundantes, angiogénesis y finalmente metástasis, mencionado en el capítulo anterior.

Las células tumorales por sí mismas son capaces de producir citocinas inmunosupresoras. El resultado es la supresión de la respuesta antitumoral de las células T y la inhibición de la función de las DCs. En algunos tipos de cáncer humanos y en medicina veterinaria el incremento en niveles séricos de IL-10 está relacionado con un pobre pronóstico (Dow & Guth, 2020).

Algunas de las citocinas más importantes para la inmunoterapia se muestran descritas en el cuadro 3.2.

Cuadro 3.2. Actividades de la principales citocinas para la inmunoterapia tumoral (Modificada de: (Abbas et al., 2018g, 2018j, 2018c, 2018a, 2018d; Dow & Guth, 2020; Kumar et al., 2015b, 2015a).

Citocina	Actividad
IL-2	<ul style="list-style-type: none"> -Producida por linfocitos T, sobre todo CD4 -Factor de crecimiento, supervivencia y diferenciación de linfocitos T activados por antígeno -Factor de crecimiento y mantenimiento de linfocitos Treg -Induce proliferación y diferenciación de linfocitos T a linfocitos T efectores -Mejora la citotoxicidad de CTLs y células NK -Induce la producción de células LAK -Induce la proliferación de linfocitos B -Aprobada para uso clínico por la FDA -Actúa como citocina autocrina o paracrina .Aumenta la producción de citocinas efectoras como el IFN-γ y la IL-4 por linfocitos T
IL-3	<ul style="list-style-type: none"> -Producida por linfocitos T activados -Apoya en el crecimiento y diferenciación de linfocitos T -Factor estimulantes de todas las líneas hematopoyéticas -Promueve la producción, diferenciación y proliferación de macrófagos, monocitos, granulocitos, y DCs

IL-4	<ul style="list-style-type: none"> -Induce la diferenciación de linfocitos T CD4 naive hacia un fenotipo Th2 -Inhibe activación de macrófagos -Induce crecimiento y diferenciación de linfocitos B -Regula la producción de MHC clase II -Produce la estimulación del cambio de isotipo de IgG e IgE
IL-6	<ul style="list-style-type: none"> -La sintetizan macrófagos, DCs, linfocitos T, células endoteliales vasculares, fagocitos mononucleares y fibroblastos en respuesta a PAMP, a IL-1 y a TNF -Proinflamatoria: contribuye al desarrollo tumoral mediante la inflamación crónica -Antiapoptótica -Induce síntesis hepática de mediadores inflamatorios en el hígado como reactante de fase aguda (proteínas). -Estimula producción de neutrófilos en médula ósea -Promueve diferenciación de linfocitos T cooperadores productores de IL-17. -Regulación positiva de PD-1 en monocitos que desencadena en la producción de IL-10. -Induce proliferación de linfocitos B y la diferenciación de células plasmáticas
IL-8	<ul style="list-style-type: none"> -Secretada por macrófagos activados y células endoteliales -Factor quimiotáctico y activador de neutrófilos y linfocitos T -Induce actividad de la metaloproteínasa-2 de matriz -Desempeña un papel en la inflamación y en la metástasis
IL-10	<ul style="list-style-type: none"> -Producida por DCs activadas, macrófagos y linfocitos Treg y queratinocitos -Inhibe la producción de IL1, TNF e IL-12 -Inmunosupresora -Inhibe funciones de DCs y macrófagos por lo que se dice que es un regulador de retroalimentación negativa -Sobreexpresión en tumores asociados a leucocitos.

IL-11	<ul style="list-style-type: none"> -Producida por células estromales de médula ósea -Induce estimulación de megacariocitos que produce un aumento en la producción de plaquetas -Estimula la proliferación de células madre hematopoyéticas
IL-12	<ul style="list-style-type: none"> -Producida por DCs y macrófagos -Estimula síntesis de IFN-γ y TNF-α por linfocitos T y NK -Mejora citotoxicidad de CTLs y células NK -Estimula la diferenciación de linfocitos T CD4 naive a linfocitos Th1 -Disminuye angiogénesis
IL-13	<ul style="list-style-type: none"> -Producida por células NK, linfocitos Th2 y mastocitos -Inhibe la producción de citocinas inflamatorias por macrófagos -Realiza un posible papel en inhibitorio en la inmunovigilancia tumoral -Produce cambio de isotipo a IgE e IgG
IL-15	<ul style="list-style-type: none"> -Producida por macrófagos -Factor de crecimiento de linfocitos T -Ayuda a supervivencia de linfocitos T CD8 de memoria -Promueve activación y supervivencia de NK -Promueve actividad citotóxica -Promueve producción de IFN-γ
IL-17	<ul style="list-style-type: none"> -Producida por linfocito T CD4 activados -Favorece el reclutamiento de neutrófilos -Induce respuesta proinflamatoria -Puede promover o inhibir el crecimiento tumoral, por lo que su papel en oncología actualmente es controvertido
IL-19	<ul style="list-style-type: none"> -Promueve la diferenciación de linfocitos T a linfocitos Th2
IL-21	<ul style="list-style-type: none"> -Producida por linfocitos Th2 y Th17 -Mejora la citotoxicidad y proliferación de CTL y NK -Miembro de la familia de la IL-2 -Ayuda a la activación y proliferación de linfocitos B -Genera una mayor cantidad de linfocitos Th17
IL-23	<ul style="list-style-type: none"> -Producida por macrófagos y DCs -Miembro de la familia de IL-12 -Regula la producción de MMP9 en tumores

	<ul style="list-style-type: none"> -Aumenta angiogénesis -Reduce TILs CD4 -Estimula linfocitos T CD4 para producir diferenciación y expansión de Th17
TGF-β	<ul style="list-style-type: none"> -Inmunosupresión -Es producida por células asociadas a macrófagos, células tumorales y linfocitos Treg -Inhibición de la activación de macrófagos, crecimiento de células B, DCs y células T efectoras -Sobreexpresión en algunos tumores -Inhibición de las citocina proinflamatoria IL-12, IFN (interferón) y TNF-α -Estimula la expresión de FoxP3, factor de transcripción necesario para el desarrollo y funcionamiento de Tregs -Promueve el desarrollo del subgrupo de linfocito T CD4 Th17 e inhibe el desarrollo de Th1 y Th2. -Estimulación de factores angiogénicos
TNF-α	<ul style="list-style-type: none"> -Producida por CTLs, células T Th1, DCs activadas y macrófagos -Induce la producción de NO por macrófagos -Induce apoptosis de células tumorales -Importante citocina proinflamatoria -En músculo y grasa induce catabolismo: caquexia -Induce activación de macrófagos y neutrófilos
IFN-α,β	<ul style="list-style-type: none"> -Producidos por DC plasmacitoides, macrófagos y fibroblastos -Aumenta y modula la expresión de MHC clase I y II -Produce activación de NK -Mejora la función de CTL efector -Inhibe la angiogénesis tumoral -Induce apoptosis de células tumorales
IFN-γ	<ul style="list-style-type: none"> -Producida por linfocitos T activados y NK -Activación clásica de macrófagos -Ayuda a la diferenciación de linfocitos T a linfocitos Th1
	<ul style="list-style-type: none"> -Aumenta la expresión de MHC clase I y II
GM-CSF	<ul style="list-style-type: none"> -Producida por linfocitos T, macrófagos, células endoteliales y

	fibroblastos -Activación de macrófagos -Promueve el crecimiento y diferenciación de células progenitoras pluripotenciales -Estimula crecimiento y maduración de granulocitos, monocitos, macrófagos y eosinófilos
G-CSF	-Producida por macrófagos, células endoteliales y fibroblastos -Estimula la médula ósea para producir células madre y granulocitos -Estimula la función, maduración y supervivencia de neutrófilos
CSF-1	-Producido por macrófagos, células endoteliales, células de la médula ósea y fibroblastos -Promueve la diferenciación de células madre a macrófagos y monocitos

3.3.4. Capacidad de las células tumorales para evadir el sistema inmune

Las células tumorales son capaces de evitar ser eliminadas por parte del sistema inmune mediante la incapacidad de ser reconocidas por éste.

Debido a que los antígenos tumorales son presentados a los linfocitos T mediante la molécula MHC 1, las células tumorales pueden regular o incluso desactivar su presentación de antígenos mediante cambios o mutaciones en la síntesis de proteínas y su estructura (Argyle et al., 2020; Dong, 2018; Garrido et al., 2010).

Así mismo, las células tumorales tienen la capacidad de expresar moléculas de puntos de control (checkpoints) inmunológico capaz de regular la respuesta de los linfocitos T y mantener una tolerancia periférica. Una molécula muy importante de este tipo es B7-H1 o CD274, mejor conocido como PD-L1. Esta molécula es expresada por la mayoría de los tumores sólidos, APC y células parenquimatosas. Las células del sistema inmune activadas expresan PD-1 o CD-279 que se unirá a PD-L1 de las células tumorales provocando así la transmisión de señales que conducirá a la muerte de la célula tumoral. Otro ligando de PD-1 es PD-L2 (B7-DC o CD-273).

Estos ligandos son proteínas transmembranales tipo 1; PD-L1 se expresa en linfocitos T activados, DCs y en el endotelio vascular, monocitos y neumocitos,

mientras que PD-L2 se expresa en DCs, monocitos, pulmón y endotelio vascular (Argyle et al., 2020; Dong, 2018; Huerta Yopez et al., 2016; Raval & Carson III, 2017).

PD-1 es un inhibidor de la respuesta inmune y es llamado así porque está relacionado con la muerte programada o apoptosis de los linfocitos T. Es expresado en la membrana de linfocitos T activados, linfocitos B, monocitos activados, NK y algunas DC. Su estimulación persistente con el antígeno mantiene una alta expresión de PD-1 que funciona como terminador intrínseco de la activación de linfocitos en situaciones de exposición crónicas al antígeno; así mismo las citocinas como IL-2, IL-7, IL-15, IL-21 y los interferones pueden potenciar su expresión en linfocitos T. La función principal de la unión PD-1/PD-L1 es la inhibición de la función de linfocito T pero también inhibe la producción de TNF, IL-2 y la regulación de Bcl-xL la cual es una proteína antiapoptótica (Dong, 2018; Huerta Yopez et al., 2016; Riella et al., 2012; Sweis & Luke, 2017).

CTLA-4 o CD152 es otra molécula de punto de control inmune importante de coseñalización perteneciente a la superfamilia CD28. CTLA-4 es expresado a menudo en linfocitos T que infiltran los tumores y en linfocitos Treg, lo que ocasiona inhibición de la función de los linfocitos T específicos frente a los tumores y no solo regula las células inmunes reactivas al tumor, sino también las células inmunitarias que reaccionan espontáneamente en los linfonodos; por lo que un bloqueo total de esta molécula podría tener como consecuencia una enfermedad inflamatoria severa o una reacción autoinmune fatal, respuestas que podrían denominarse efectos auto tóxicos. Por esta razón es importante monitorear las respuestas de los pacientes a la terapia de bloqueo de puntos de control.

Los linfocitos T que infiltran los tumores tienen a menudo un fenotipo alterado, este estado se caracteriza por una alteración de las funciones efectoras y una mayor expresión de CTLA-4 y PD-1 entre otras.

CTLA-4 presenta 2 mecanismos por los cuales puede inhibir la respuesta inmune de los linfocitos T. El primer método es llamado mecanismo celular intrínseco, en el cual los linfocitos T convencionales son activados por un antígeno y su

coestimulación estimula la expresión de CTLA-4 lo que bloquea cualquier activación adicional para así terminar con su propia respuesta.

En el segundo método llamado mecanismo celular extrínseco los linfocitos Treg que expresan altos niveles de CTLA-4 lo utilizan para bloquear la activación de la respuesta de los linfocitos T convencionales.

Las respuestas de los linfocitos T se activan cuando las APC reconocen un antígeno y los receptores activadores como el CD28 que se encuentran situados en los linfocitos T reconocen coestimuladores como B7 en la APC. Si el linfocito T reconoce un antígeno propio sin coestimulación, este linfocito pierde su capacidad de respuesta al antígeno debido a un bloqueo de las señales que parten de la unión a sus ligandos de los receptores inhibidores como CTLA-4 y PD-1, de esta manera el linfocito queda viable pero incapaz de responder al antígeno propio.

Con este conocimiento de que CTLA-4 determina bloqueos o puntos de control en las respuestas inmunitarias, ha conducido a la idea que la activación de linfocitos puede ser promovida reduciendo la inhibición, proceso conocido como bloqueo del punto de control, lo que da lugar a un aumento en las respuestas inmunitarias frente a los tumores mediante el bloqueo con anticuerpos anti CTLA-4 (Abbas et al., 2018j; Dong, 2018; L. T. Nguyen et al., 2013; Sweis & Luke, 2017).

Los tumores son capaces de expresar antígenos que el sistema inmune reconoce pero también la mayoría de estos tumores suprimen las respuestas inmunitarias o son débilmente inmunogénicos, por lo que las respuestas inmunitarias no pueden evitar su crecimiento. Sin embargo, actualmente existen métodos por los cuales se puede estimular y mejorar la respuesta inmune del hospedador para producir una reducción o en el mejor de los casos remisión completa del tumor y así generar mejor pronóstico de los pacientes con cáncer.

3.4. Respuesta inmune innata frente a tumores

Este tipo de respuesta inmune carece de especificidad precisa en el reconocimiento de sus objetivos, pero su velocidad de respuesta ante ellos es muy rápida.

Las dos células que protagonizan esta respuesta son los macrófagos y las células NK, que reconocen a la célula blanco o a los patógenos en función de los patrones

generales de las moléculas expresadas, y así eliminan a las células transformadas. Las DCs no matan directamente células transformadas pero pueden presentar proteínas expresadas por células tumorales a otras células del sistema inmune adaptativo como linfocitos T para activar una respuesta antitumoral; por lo que estas células actúan como puente entre el sistema inmune innato y el sistema inmune adaptativo.

3.4.1. Linfocitos citolíticos o “asesinos” naturales (NK)

Estas células citotóxicas circulan por el torrente sanguíneo y son una de las defensas más tempranas que se presentan frente a los tumores. Secretan IFN- γ y su principal función es matar a células infectadas o transformadas y no necesitan ser entrenadas para detectar antígenos específicos y realizar su activación; ya que realizan una respuesta buscando alguna señal que falte en la superficie celular. Por esta razón las células NK eliminan células transformadas en etapas muy tempranas o a aquellas células metastásicas que circulan por la sangre. Estos linfocitos pueden matar a diferentes tipos células tumorales y también pueden contribuir a la vigilancia inmunitaria.

Los animales con defectos en la función o número de linfocitos NK causados por mutaciones génicas, o con una actividad NK inferior a lo normal sin defectos génicos conocidos, tienen un mayor riesgo que la población en general de presentar tumores.

Los linfocitos NK expresan receptores inhibidores que se unen a MHC tipo I expresadas en células sanas; algunos tumores debido a su selección dejan de expresar moléculas de MHC tipo I y son eliminadas fácilmente por CTL.

Esta pérdida de las moléculas de MHC tipo I convierte a los tumores en blancos adecuados para los linfocitos NK.

Los linfocitos NK pueden distinguir, células infectadas, estresadas o transformadas de las sanas y su función está regulada por un equilibrio entre señales generadas por receptores activadores e inhibidores. Esto significa que los receptores activadores reconocen ligandos situados en células dañadas y los receptores inhibidores reconocen ligandos presentes en células sanas. Cuando existe una unión a ligandos de receptores activadores se estimula la actividad lítica de los NK

dando lugar a la destrucción y muerte de células dañadas. Por otro lado, cuando existe una unión a ligandos de receptores inhibidores se anula la actividad lítica del NK impidiendo la destrucción y muerte de células sanas.

Los linfocitos NK interpretan la presencia de moléculas de MHC tipo I como marcadores de lo propio normal y sano y su falta como una indicación de daño. El resultado será la activación de los NK para secretar citocinas y matar a la célula dañada. Esta capacidad de los linfocitos NK de activarse mediante la falta de MHC tipo I es llamado “reconocimiento de lo propio ausente”.

Un ejemplo de este mecanismo está descrito en Abbas et al. 2018e:

“Si una infección vírica u otro tipo de estrés inhibe la expresión del MHC tipo I en las células infectadas e induce la expresión de ligandos activadores adicionales, el receptor inhibidor de linfocito NK no se une a su ligando y las funciones del receptor activador sin ninguna oposición desencadenan respuestas de linfocitos NK, incluidas la muerte de células diana y la secreción de citocinas. Las células estresadas o la transformación neoplásica pueden expresar mayores cantidades de ligandos activadores, que se unen a los receptores activadores del linfocito NK e inducen una mayor fosforilación de tirosinas de las que pueden compensar las fosfatasas asociadas al receptor inhibidor, lo que provoca la muerte de las células.”

Muchos tumores expresan ligandos del receptor activador NKG2D situado en los linfocitos NK, como MIC-A, MIC-B y ULB.

Los linfocitos NK también pueden activarse para matar células transformadas que están cubiertas de anticuerpos antitumorales mediante la citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos. Así mismo, cuentan con una capacidad tumoricida que se eleva con ciertas citocinas, como la IL-2, IL-15, la IL-12, IL-18 y los interferones tipo 1. Estas citocinas aumentan la actividad citotóxica de los linfocitos NK y pueden estimular la secreción de IFN γ por parte de los NK independientemente de los receptores activadores. Además la IL-15 es un factor muy importante de crecimiento para los linfocitos NK (Abbas et al., 2018g; De Maria et al., 2017; Dong, 2018).

3.4.2. Macrófagos

Existe evidencia que muestra correlación entre la inflamación y el cáncer; la inflamación genera un microambiente alrededor del tumor que permite la proliferación, migración y supervivencia de varios tipos de células transformadas, así como invasión y metástasis. Sin embargo, la reacción inflamatoria en el microambiente tumoral constituye un componente muy importante de la respuesta inmunológica asociada con el tumor.

Los macrófagos están presentes en la mayoría de los tejidos del cuerpo para limpiar células muertas y patógenos. Los macrófagos y otras células mieloides constituyen una población llamada macrófagos asociados a tumor o TAMs, los cuales pueden inhibir o promover la progresión tumoral ya que están implicados en distintos aspectos como: desviación y sesgo de la respuesta inmune adaptativa, crecimiento celular, angiogénesis, síntesis y depósitos de colágena o de matriz extracelular y remodelación, construcción de un nicho metastásico y metástasis visibles, entre otras.

Algunas células, para evitar ser fagocitadas expresan moléculas de señal “no me comas” para escapar de ellos; un ejemplo de esta molécula es CD47. Recientemente se han desarrollado compuestos para bloquear esta molécula y así mejorar la fagocitosis de células tumorales por parte de los macrófagos.

Existen dos tipos de TAMs: macrófagos M1 los cuales tienen funciones proinflamatorias y los macrófagos M2 que presentan funciones antiinflamatorias.

Activación clásica de macrófagos mediada por Th1 y antígenos fagocitados

Los macrófagos son activados por linfocitos Th1 mediante señales mediadas por el contacto producido por las interacciones CD40L-CD40 y por el IFN γ ; estos macrófagos ahora serán llamados M1.

Cuando los linfocitos Th1 son estimulados por el antígeno, las células expresan en su superficie CD40L y secretan IFN γ . Las acciones de IFN γ sobre los macrófagos, establecen sinergia con las acciones del CD40L y juntos causan estímulos potentes para la activación del macrófago.

Las señales de CD40 activan los factores de transcripción nuclear κ B (NF- κ B) y la proteína de activación 1 (AP-1) y el IFN γ activa el factor de transcripción STAT1. Estos factores de transcripción estimulan juntos la expresión de varias enzimas en los fagolisosomas de los macrófagos como: iNOS que estimula la producción de NO y enzimas lisosómicas. También la activación del macrófago induce la producción de ROS. Estas sustancias tóxicas también pueden liberarse en tejidos adyacentes, donde matarán microorganismos extracelulares y de la misma manera dañar tejidos normales causando inflamación.

Las interacciones entre las moléculas de superficie CD40 en los macrófagos y CD40L en los linfocitos T son necesarias porque asegura que los macrófagos que albergan los microorganismos intracelulares están presentando el antígeno a los linfocitos T y de esta manera se activen de una forma más eficiente (Abbas et al., 2018d).

Activación alternativa de macrófagos y reparación tisular

Los macrófagos activados de esta manera son llamados M2 y es debido a la respuesta del macrófago a las citocinas Th2. Estos M2 producen citocinas que finalizan la inflamación e inician la reparación tras diversos tipos de lesión tisular.

Tanto linfocitos Th2 como M2, inducen la cicatrización y fibrosis secretando factores de crecimiento como el PDGF que estimulan la proliferación de fibroblastos, el TGF- β y la IL-13 que produce la síntesis de colágeno y el FGF que produce la formación de nuevos vasos sanguíneos.

Las citocinas Th2 pueden suprimir la activación clásica e interferir en las respuestas inmunitarias protectoras mediadas por los Th1 frente a las infecciones intracelulares (Abbas et al., 2018d).

Los macrófagos M1 con funciones antitumorales suelen ser activados mediante el reconocimiento de algunos antígenos de superficie en la célula transformada o PAMPs como el LPS inducido mediante el IFN γ y el GM-CSF lo que ocasiona una actividad citotóxica antitumoral.

Después de la activación los M1 se someten a reprogramación metabólica y principalmente llevan a cabo procesos como glucólisis aeróbica y glutaminólisis. De forma similar a los neutrófilos, se cree que los M1 dependen de estos 2

procesos que les permitirá un rápido aumento en el suministro de energía para alimentar funciones defensivas mientras actúan en microambientes inflamatorios con bajo contenido de nutrientes y oxígeno. Esta configuración metabólica parece apoyar funciones proinflamatorias críticas como la producción de ROS, NO y prostaglandinas, así como la liberación de enzimas lisosomales y producción de TNF- α provocando reacciones destructivas de tejidos para eliminar a la célula transformada.

Bajo estas condiciones de cantidades bajas de nutrientes y oxígeno los macrófagos usan un factor conocido como HIF-1 α , que se ha demostrado ser el responsable del control transcripcional primario de la programación metabólica de los M1 activados; el cual es necesario para la regulación de la glucólisis, así como para funciones defensivas incluida la motilidad y la destrucción bacteriana.

Los macrófagos M2 por el contrario, promueven el desarrollo tumoral ya que son fuente de VFGE y son inducidos por IL-4, IL-14, IL-10, IL-13 y GM-CSF. Así mismo cooperan en la regulación inmunológica negativa por la producción de IL-10 y TGF- β ; además de que contribuyen al reclutamiento de los linfocitos Treg mediante la producción de la quimiocina CCL22 (Abbas et al., 2018d; Dong, 2018; Gutkin & Shurin, 2017; Huerta Yopez et al., 2016; Mantovani & Sica, 2010).

3.5. Respuesta inmune adaptativa frente a tumores

Las células del sistema inmunológico innato activan las células del sistema inmunológico adaptativo mediante la presentación de antígenos en un contexto molecular definido y por la secreción de diversas citocinas.

Las células que conforman este tipo de inmunidad poseen especificidad muy detallada ya que reconocen cualquier cambio en las moléculas de proteínas en sus objetivos y velocidad de respuesta más lenta.

Las principales células que conforman esta respuesta son los linfocitos T (CD3) y los linfocitos B (CD79). Los linfocitos T (respuesta celular) se clasifican en función de sus proteínas de membrana (moléculas CD; cluster of differentiation ó cúmulos de diferenciación) y de las proteínas del sistema MHC en T cooperadores (Th, CD3, CD4, MHC clase II), que se subdivide en Th1 y Th2, y en T citotóxicos (Tc, CD3, CD8, MHC clase I).

Los linfocitos B sintetizan anticuerpos (sistema humoral) que activan el complemento, aumentan la capacidad fagocítica e inducen citotoxicidad dependiente de anticuerpos (Abbas et al., 2018f; Del Castillo Magán & Ruano Barneda, 2017; Huerta Yopez et al., 2016).

La capacidad de las DCs para fagocitar antígenos tumorales activa indirectamente los linfocitos Tc y estimula su actividad citotóxica contra las células transformadas; se considera que este es uno de los mecanismos clave por el cual el sistema inmunológico vigila y controla el crecimiento tumoral.

Los linfocitos T maduran en el timo, en donde superan procesos de selección positiva y negativa, posteriormente se trasladan a los órganos linfoides secundarios. En los ganglios o linfonodos es en donde las DC presentan antígenos procesados en el contexto molecular del MHC II a los linfocitos antígeno específico que los reconocen mediante el receptor de linfocito T citotóxico (TCR).

Los CTL pueden realizar una función de vigilancia al reconocer y matar células potencialmente malignas que expresen péptidos derivados de antígenos tumorales y los presenten asociados a moléculas MHC de clase I.

Las respuestas de los linfocitos T CD8 específicos frente a antígenos tumorales pueden exigir la presentación cruzada de los antígenos tumorales por las DC. La mayoría de las células tumorales no expresan los coestimuladores necesarios para iniciar las respuestas de los linfocitos T ni las moléculas de MHC clase II necesarias para estimular los linfocitos Th que favorecen la diferenciación de los linfocitos T CD8, por ello una posibilidad de cómo se inician las respuestas de linfocitos T frente a tumores es que las células tumorales o sus antígenos son ingeridos por las APC del hospedador. Particularmente las DC y los antígenos tumorales se procesan dentro de las APC. Los péptidos derivados de estos antígenos se presentan unidos a moléculas MHC de clase I para su reconocimiento por linfocitos T CD8. Las APC llevan los antígenos tumorales a los linfonodos y se localizan junto a los linfocitos Th que se activan al mismo tiempo para proporcionar las señales necesarias para la diferenciación de los linfocitos T CD8 vírgenes en CTL específicos frente al tumor. Una vez que se han generado

CTL efectores, son capaces de reconocer y destruir las células tumorales en cualquier tejido sin necesidad de coestimulación.

Los linfocitos T CD4 reconocen péptidos con moléculas MHC II y de acuerdo con las citocinas presentes en el medio pueden desarrollar un perfil Th1, Th2, Th17 o Treg.

Los linfocitos Th1 favorecen la actividad de los linfocitos Tc y la activación de los macrófagos mediante la secreción de TNF y de IFN- γ este último puede aumentar la expresión de MHC de clase I en la célula tumoral y la sensibilidad a la lisis ejercida por los CTL, se ha asociado a un mejor pronóstico cuando existen abundantes Th1 en el infiltrado tumoral; mientras que encontrar abundantes linfocitos Th2 se ha asociado a peores resultados ya que favorecen el establecimiento de una respuesta inflamatoria la cual promueve el crecimiento tumoral y la angiogénesis. Los Th2 secretan citocinas como IL-4, IL-5, IL-10 e IL-13 que inducen diferentes tipos de respuesta en macrófagos, llamada activación alternativa causando así que esos macrófagos promuevan la reparación tisular, angiogénesis y la cicatrización. Se sabe que los macrófagos activados de la forma clásica sirven para eliminar tumores, mientras que los activados alternativamente promueven el desarrollo y crecimiento tumoral.

En individuos sanos existe un balance entre estas dos subpoblaciones linfocitarias pero en pacientes con distintos tipos de cáncer existe un desequilibrio en estas subpoblaciones.

La IL-12 y el TNF- α , producido por los macrófagos presentadores de antígenos, son fuertes promotores de la respuesta de linfocitos Th1, mientras que, la IL-14 es la principal citocina encargada de promover la aparición del fenotipo Th2 (Abbas et al., 2018f, 2018a, 2018e; Abbas & Walker, 2017; Huerta Yopez et al., 2016).

Los linfocitos Th17 son un componente importante de la respuesta infamatoria en tumores, estos producen citocinas como IL-17 o CTLA-8 conocida como IL-17 A-. Estos linfocitos se caracterizan por la expresión del factor de transcripción ROR γ t (Retioic Acid Receptor- related Orphan Receptor- γ t) y STAT3; además la IL-1 y la IL-23 pueden promover y/o estabilizar su diferenciación y expansión.

En el tejido tumoral hay gran cantidad de estos linfocitos, lo que sugiere que el microambiente tumoral puede inducir y/o reclutar linfocitos Th17. Por otro lado, estos linfocitos aislados de los infiltrados de tejido de tumores primarios como el carcinoma de colon, de ovario, renal, pancreático y melanoma expresan altos niveles de los receptores de quimiocinas CXCR4 y CCR6, así como la integrina CD49 y el receptor de la lectina tipo C o KLRB1 pero no expresan CD62L o CCR7. Esto sugiere que estos linfocitos no permanecen en el tejido linfoide, pero que algunas moléculas involucradas en este proceso participan en su migración y/o retención en el tejido tumoral.

Se cree que estos linfocitos Th17 no son linfocitos T efectores convencionales y pueden mediar su efecto funcional a través de una vía alterna al uso de la granzima B. Además expresan bajos niveles de PD-1 y Foxp3, por lo que no participan en la regulación negativa de la respuesta inmunológica en el tumor (Abbas & Walker, 2017; Huerta Yopez et al., 2016).

3.6. Linfocitos Treg

La tolerancia inmunológica es un factor muy importante para evitar reacciones inmunitarias frente a tejidos propios que causan reacciones de autoinmunidad. Por lo cual se ha dividido en dos categorías: tolerancia central y tolerancia periférica (Abbas et al., 2018j).

La tolerancia central se lleva a cabo durante los procesos de maduración de los linfocitos en los órganos linfáticos primarios e impide la presencia de clonas autorreactivas. La tolerancia periférica es la regulación de la respuesta inmunológica en los linfocitos que se encuentran en los órganos linfoides secundarios y evita procesos autoinmunes, los linfocitos Treg son los responsables de llevar a cabo la inducción y el mantenimiento de este tipo de tolerancia.

Se ha notado que la regulación negativa mediada por los linfocitos Treg es uno de los mecanismos de evasión inmunológica tumoral y por este motivo se ha convertido en un obstáculo para obtener éxito en la inmunoterapia antitumoral. Los tumores evitan activamente la inducción de la respuesta inmunológica específica a

través de los TAA mediante la diferenciación, movilización y expansión de linfocitos Treg.

Los linfocitos Treg son un subgrupo de linfocitos T CD4 que tienen como función suprimir las respuestas inmunitarias y mantener la tolerancia frente a lo que es propio. Estos linfocitos expresan cantidades altas del receptor para IL-2 (CD25) y un factor de transcripción llamado FoxP3.

Se generan sobre todo, por el reconocimiento del antígeno propio en el timo (a veces llamados linfocitos T naturales) y por el reconocimiento de antígenos propios y extraños en los órganos linfáticos periféricos (llamados linfocitos inducibles o adaptativos). En los tejidos periféricos, los linfocitos Treg suprimen la activación y las funciones efectoras de otros linfocitos autorreactivos y potencialmente patogénicos. En los órganos linfáticos periféricos, el reconocimiento del antígeno sin respuestas inmunitarias innatas fuertes favorece la generación de las células reguladoras a partir de los linfocitos T vírgenes CD4; también pueden desarrollarse después de reacciones inflamatorias.

La supervivencia y la competencia funcional de los linfocitos Treg dependen de la citocina IL-2 ya que promueve la diferenciación de los linfocitos T en el subgrupo regulador y también es necesaria para su mantenimiento.

Los linfocitos Treg FoxP3 no producen IL-2, este factor de crecimiento lo proporcionan los linfocitos T tradicionales que responden a antígenos propios o extraños.

Mecanismos de acción:

Existen varios mecanismos de supresión que los linfocitos Treg llevan a cabo:

- Supresión de la respuesta inmune mediante CTLA-4: la unión de CTLA-4 situado en los linfocitos Treg a las moléculas B7 situadas en las APC da como resultado la inhibición competitiva de la coestimulación mediada por el CD28; por lo que las APC tienen una menor capacidad de estimular los linfocitos T.
- Secreción de citocinas inmunosupresoras: algunos Treg son productores de citocinas inhibitorias como IL-10 que inhibe a los macrófagos y las

células DCs y el TGF- β el cual promueve la supervivencia de células tumorales, dando como resultado la inhibición de la respuesta inmune.

- Consumo de IL-2: ya que presentan un elevado nivel de expresión del receptor para IL-2, los linfocitos Treg pueden absorber IL-2 y privar a otras poblaciones celulares como linfocitos T de esta citocina que es un factor de crecimiento, lo que disminuye su proliferación y diferenciación.

Otro mecanismo no menos importante es la supresión de la activación directa de linfocitos B e inhibición de la proliferación y diferenciación de linfocitos NK.

De esta manera desempeñan un papel en la promoción del crecimiento y la progresión del tumor, inhibiendo la respuesta inmunitaria frente a las células transformadas.

En humanos se ha observado incremento del número de linfocitos Treg en circulación periférica y en tejido tumoral, por lo que se ha demostrado en modelos experimentales que la disminución de los linfocitos Treg mejora la inmunidad antitumoral (Abbas et al., 2018j; Gros et al., 2015; Huerta Yopez et al., 2016; Walker & Abbas, 2017).

Hasta este momento existen evidencias claras de que el sistema inmunitario es capaz de controlar y destruir células tumorales, tanto en animales de experimentación como en seres humanos mediante CTL, linfocitos NK y macrófagos activados; sin embargo, la respuesta de estas células se ve afectada por los mecanismos de escape que la propia célula tumoral es capaz de generar, por lo que actualmente se han diseñado y puesto en marcha tratamientos mediante la inmunoterapia que está diseñada para potenciar o mejorar las respuestas inmunitarias del hospedador frente a las células transformadas potencialmente malignas.

Capítulo 4: Inmunoterapia antitumoral

“Cuando estás tratando a una persona con cáncer, el tratamiento es para ese paciente, la recuperación es para ese paciente, y la familia simplemente recibe apoyo. Aquí, la familia es parte de la condición, así que resulta más complejo. Jamás estás lidiando con una sola persona, ni con un tipo de sentimiento, ni con un tipo de reacción, ni con un tipo de personalidad. Estás lidiando con la dinámica de una familia”.

Patricia Ashton Prolla

Uno de los principales campos de interés en un tratamiento inmunológico es que gran cantidad de tratamientos antineoplásicos ya establecidos como la radioterapia y la quimioterapia se basan en mecanismos que matan a las células que se encuentran en división o bloquean la división celular por lo que dichos tratamientos tienen efectos nocivos sobre células normales que se encuentran en proliferación, como consecuencia, produce una significativa tasa de morbilidad y mortalidad entre los pacientes oncológicos. En contraste, las terapias inmunológicas frente a los tumores pueden ser en teoría muy específicas de las células tumorales y no causar daño o lesiones a las células normales (Abbas et al., 2018f).

Otra razón importante para explorar los métodos inmunológicos para tratar de eliminar los tumores es que los fármacos citotóxicos no han logrado alcanzar beneficios de larga duración en la mayoría de los cánceres que se han propagado por el cuerpo más allá de su sitio de origen; ya que la memoria prolongada es una característica relevante de las respuestas inmunitarias adaptativas y que la inmunidad es sistémica, es posible que, una vez conseguida una respuesta inmunitaria adaptativa eficaz contra un tumor, se pueda mantener durante mucho tiempo y sea eficaz en todo el cuerpo.

La inmunoterapia, denominada también terapia biológica, es un tipo de tratamiento contra células transformadas que está diseñada para estimular al sistema inmunológico con el fin de combatir el cáncer mediante la producción de sustancias por células propias o administradas exógenamente y de esta manera mejorar o potenciar las respuestas inmunitarias activas contra los tumores (Abbas et al., 2018f; Barrera et al., 2016; Huerta Yopez et al., 2016).

4.1. Antecedentes

El descubrimiento de la inmunoterapia contra el cáncer se debe a que en el siglo XIX el médico William Coley observó que los pacientes de cáncer mejoraban tras presentar episodios de fiebre alta debido a una infección por *Streptococcus pyogenes*; Coley inyectó bacterias de esta especie directamente en el sarcoma de un paciente varias veces durante un año causando la regresión tumoral, proporcionándole al paciente ocho años más de vida.

Posteriormente realizó una mezcla de bacterias muertas de *Streptococcus pyogenes* y *Serratia marcescens* generando la llamada “toxina de Coley”, con la cual continuo realizando experimentos en donde obtuvo resultados variables (Anel et al., 2015; Biller, 2007; Kelly et al., 2017).

En el año 2005 se realizó un estudio en la Universidad de Colorado en donde se observó que el 68% de los perros que se sometían a cirugía de rescate de extremidades como tratamiento para el osteosarcoma en radio más quimioterapia adyuvante, presentaban una infección postoperatoria con *Staphylococcus*, *Pseudomonas* y *Streptococcus* confirmados mediante cultivo, la cual mejoró la supervivencia de estos pacientes ya que estos sobrevivieron 252 días más que aquellos que no presentaron esta infección.

Sugiriendo que estos hallazgos apuntan a que una infección actúa como inmunoestimulante (Lascelles et al., 2005).

Durante los últimos 30 años se ha introducido a la inmunoterapia como nuevo tratamiento contra el cáncer, con ventajas y beneficios comprobados sobre las terapias convencionales; la terapia con citocinas (IL-2 e IFN), terapias celulares (infiltración tumoral de linfocitos) (Goff et al., 2016) el uso de receptor de antígeno

quimérico de linfocitos T (CAR-T) (Slaney et al., 2017) y actualmente el uso de anticuerpos dirigidos a moléculas inmunosupresoras (Dow & Guth, 2020).

El descubrimiento y caracterización molecular de los antígenos tumorales que pueden ser reconocidos por linfocitos T CD8+ o CD4+ permitió la generación de herramientas para medir la respuesta inmunitaria de los pacientes y así diseñar distintas clases de enfoques inmunoterapéuticos, que incluyen vacunas y productos de células T transferidos de forma adoptiva.

Los estudios que existen sobre los mecanismos detallados por los cuales las respuestas inmunes espontáneas se generan y llevan a cabo en el contexto del cáncer han dado a conocer los puntos críticos en la reacción a través de la respuesta inmune, así como los ciclos de retroalimentación negativa que limitan la propagación continua de la respuesta inmune.

La caracterización de estos puntos clave en donde se ven involucrados la detección inmune innata, la activación de células dendríticas, la presentación cruzada de antígeno tumoral, la expansión y diferenciación de linfocitos T, el tráfico de células efectoras en el microambiente tumoral y los procesos reguladores que impiden la función de los linfocitos T dentro de los sitios tumorales ha llevado a una variedad de enfoques terapéuticos para lograr superar barreras funcionales o alterar la respuesta inmune antitumoral cuantitativa o cualitativamente (Gajewski, 2017) (Figura 4.1).

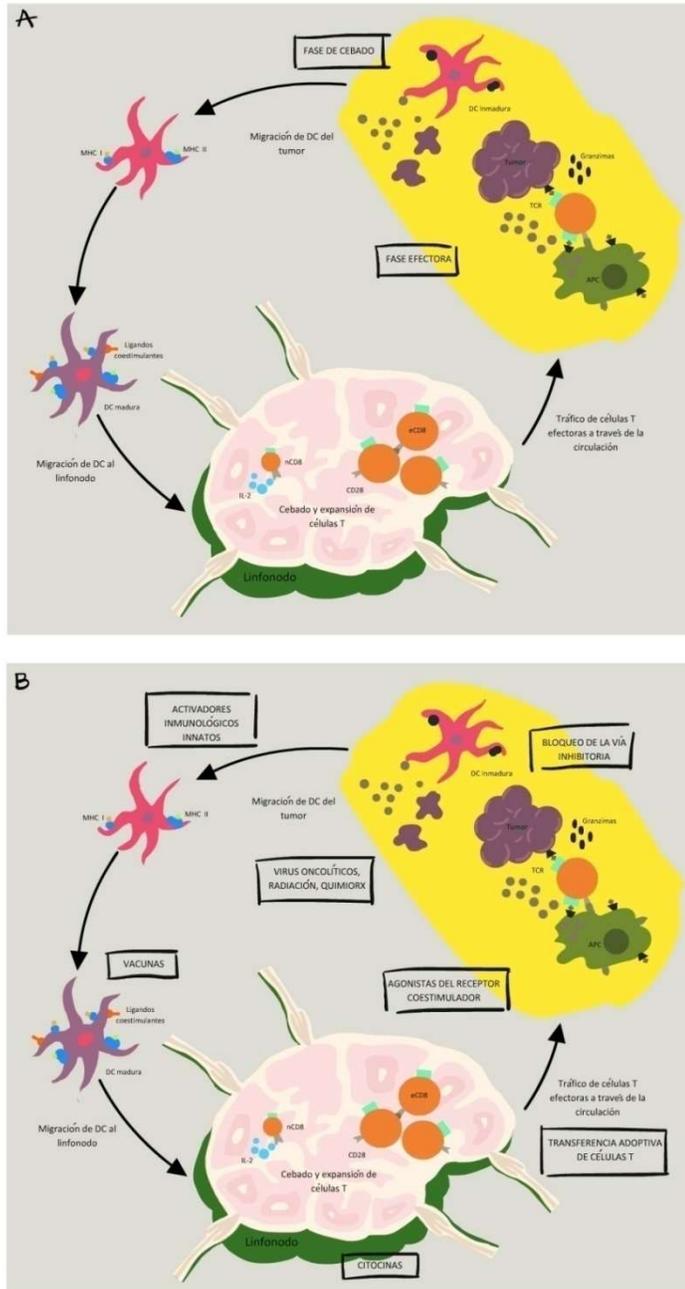


Figura 4.1. Generación de una respuesta antitumoral con diferentes categorías de intervención terapéutica. (A) Se muestra un diagrama de los pasos clave para que están involucrados en la generación de una respuesta antitumoral de linfocitos T. (B) Categorías de intervención terapéutica diseñadas para amplificar o superar bloqueos en cada etapa de la inmunidad antitumoral (Gajewski, 2017).

De manera general, la inmunoterapia en cáncer se puede clasificar en activa y pasiva.

La inmunoterapia activa, tiene como objetivo estimular el propio sistema inmune del paciente para que este reconozca de manera más eficiente a las células tumorales y después sea capaz de eliminarlas, basándose en la liberación de antígenos tumorales mediante diferentes mecanismos para iniciar la captura, procesamiento y presentación de estos por las APCs. Dentro de esta clasificación encontramos a las vacunas usadas en animales humanos y no humanos (de DCs, de ADN recombinante en vectores, de péptidos y proteínas, etc.) (Barrera et al., 2016).

La inmunoterapia pasiva es aquella en la cual se administra a los pacientes de manera terapéutica anticuerpos monoclonales con el objetivo de reconocer antígenos que se expresan en la superficie de la célula tumoral. En esta categoría también se incluye el uso de inhibidores de puntos de control inmunológicos (Barrera et al., 2016).

Así mismo, dentro de la clasificación activa y pasiva encontramos una subclasificación: específica y no específica. Cuadro 4.1.

Cuadro 4.1. Inmunoterapia pasiva, activa, específica y no específica (Modificada de: Barrera et al., 2016).

Inmunoterapia pasiva	Inmunoterapia activa
Específica: -Anticuerpos monoclonales -Transferencia adoptiva de linfocitos	Específica: -Vacunas
No específica: -Transferencia adoptiva de células mononucleares activadas con citocinas (células LAK)	No específica: -Inducción de respuesta inmune mediante la utilización de citocinas, modificadores de la respuesta biológica, etc.

4.2. Inmunoterapia no específica: Utilización de terapia recombinante con citocinas

Las citocinas en pacientes oncológicos estimulan la proliferación y diferenciación de los linfocitos T y de los linfocitos NK. Las citocinas utilizadas para el tratamiento pueden aumentar la activación de DCs y de linfocitos T específicos de tumor, particularmente los CTL CD8+.

También existe la posibilidad de que varias citocinas induzcan respuestas inflamatorias inespecíficas, que permiten llevar a cabo actividad antitumoral.

Una de las citocinas con las que existe mayor experiencia en la clínica de medicina humana es con IL-2 a dosis altas por vía intravenosa utilizada en pacientes con melanoma y carcinoma renal avanzado; sin embargo, su uso es limitado ya que estimula la producción de cantidades tóxicas de citocinas proinflamatorias como el TNF y el IFN- γ , que actúan sobre las células endoteliales vasculares llevando a un síndrome grave de fuga capilar (Abbas et al., 2018f).

La IL-12 producida por antígeno estimulado de DCs, macrófagos y linfocitos B juega un rol importante en la estimulación del crecimiento y función de linfocitos T y también mejora la actividad citolítica tanto de linfocitos T como de linfocitos NK.

De la misma manera que la IL-2, la IL-12 en humanos causa severos efectos secundarios, por lo que actualmente no se utiliza (Dow & Guth, 2020).

En medicina veterinaria la utilización de IL-12 está relacionada en el tratamiento con terapia génica recombinante en perros con tumores en cabeza y cuello (Cutrera et al., 2008) y en trabajos realizados *in vitro* observando su uso en la terapia génica inducida por hipertermia felina (Siddiqui et al., 2006).

El IFN- α está utilizándose como tratamiento en distintos tipos de cáncer como el melanoma, algunos linfomas, leucemias y el sarcoma de Kaposi relacionado con el SIDA. Los efectos antineoplásicos del IFN- α son la inhibición de la proliferación de las células tumorales, aumento de la actividad citotóxica de los linfocitos NK y el aumento de la expresión de MHC de clase I en células tumorales, lo que les permite ser más sensibles a la acción histolítica de los CTL (Abbas et al., 2018f).

Otras citocinas como TNF e IFN- γ se han utilizado de manera eficaz en modelos animales, pero su uso en pacientes humanos aún se ve limitado por causar efectos tóxicos graves (Abbas et al. 2018f).

4.2.1. Interleucina-2 (IL-2)

La IL-2 es caracterizada porque actúa principalmente estimulando la proliferación de linfocitos T y activación de células NK, DCs, macrófagos y linfocitos B. Altas dosis de IL-2 han sido aprobadas por la Food and Drug Administration (FDA) en medicina humana para el tratamiento del carcinoma renal y el melanoma con una tasa de respuesta del 15% para ambos (Rosenberg, 2014).

Se ha demostrado que la combinación con otros tratamientos (vacunas e IFN- α) contra el cáncer mejora su eficacia y reduce los efectos secundarios en comparación a su uso como monoterapia. La IL-2 en altas dosis está asociada con toxicidad como arritmias cardíacas, síndrome de fuga vascular, edema pulmonar, hipotensión y diarrea; así mismo es un promotor de la expansión de linfocitos Treg (Markovic & Bangalore Kumar, 2018; L. T. Nguyen et al., 2013).

En medicina veterinaria la IL-2 recombinante humana administrada vía endovenosa activa linfocitos de perro causando una ligera toxicidad gastrointestinal incluso a altas dosis. También se ha evaluado la toxicidad de la misma en perros con cáncer primario de pulmón y metástasis de pulmón mediante la administración en aerosol por vía intranasal. En gatos con cáncer se ha utilizado como terapia génica usando vectores virales en tratamiento de fibrosarcoma y en perros fue efectiva como tratamiento de melanoma.

En perros con mastocitoma no quirúrgico se realizó un estudio en 2013 en el cual se administró IL-2 intratumoral obteniendo efectos favorables ya que en los resultados se observaron regresiones completas, parciales y en otros casos enfermedad estable sin tener efectos secundarios severos (Ziekman et al., 2013).

En 2013 el Comité Europeo de medicamentos de uso veterinario aceptó el uso del medicamento Oncept® IL-2 (virus de la viruela felina que expresa IL-2 felina recombinante) y en 2015 en EUA se permitió su uso complementario además de

cirugía y radiación en gatos con fibrosarcoma en estadio I (sin metástasis) (Philip J. Bergman, 2017).

En 2015 se realizó un estudio en el cual se utilizó virus de canario recombinante (ALVAC) expresando la interleucina felina 2 (IL-2) en gatos como tratamiento complementario para fibrosarcoma, el cual fue bien tolerado por los pacientes sin presentar efectos secundarios severos (Jas et al., 2015).

Den Otter y colaboradores (2015) realizaron un ensayo piloto con administraciones intratumorales y peritumorales en 13 perros (6 machos y 7 hembras) que presentaban TVT en donde se observó regresión completa, parcial y enfermedad estable, sin causar efectos secundarios; sin embargo, la regresión tumoral es un proceso lento que requiere meses (Den Otter et al., 2015b).

Ese mismo año se realizó nuevamente un estudio con 12 perros (3 machos y 9 hembras) con TVT en el que se administró a cada uno vincristina e IL-2 intratumoral de una a cuatro veces con intervalo semanal, obteniendo como resultados regresión completa en cinco pacientes; con efectos secundarios como náuseas y necrosis en tejido peritumoral asociado a vincristina (Den Otter et al., 2015a).

Ya que en pacientes veterinarios los efectos citotóxicos no se han presentado de una forma tan severa como en humanos, el uso de esta IL puede ser plausible.

4.2.2. Interleucina 12 (IL-12)

Es producida por la estimulación antigénica de DCs, macrófagos y linfocitos B; esta citocina tiene 3 actividades principales: inducción de la secreción de IFN- γ , estimulación del crecimiento ó respuesta mitogénica de linfocitos T así como activación directa de células CD4+ y CD8+ y por último ayuda a mejorar la actividad citotóxica de células NK (Dow & Guth, 2020).

Por estas actividades biológicas es necesaria para la resistencia contra agentes bacterianos e intracelulares, así como para el establecimiento de autoinmunidad específica y presentar un efecto antiangiogénico. Como resultado de estas acciones se obtiene retraso en el crecimiento tumoral y hasta erradicación del mismo (Cicchelero et al., 2017).

Los efectos adversos que se observaron al utilizar IL-12 en humanos fueron graves, por lo tanto actualmente no se utiliza. Por este motivo se investigaron nuevas estrategias para la introducción de IL-12 como la entrega del gen que codifica IL-12. Entre estos sistemas se encuentran vectores virales como poxvirus y adenovirus y técnicas no virales como la electroporación y la transferencia de ADN plasmídico desnudo (M. Cemazar et al., 2017; Cutrera et al., 2008; Dow & Guth, 2020; Reed et al., 2010; Siddiqui et al., 2006).

IL-12 en gatos mediante terapia génica

Esta técnica se ha utiliza en gatos que presentan fibrosarcoma en el cual se usó un vector poxviral y otro adenovírico administrado mediante inyección intratumoral con un gen que codifica IL-12 felina inducible por calor como terapia adyuvante a la radioterapia fraccionada. Los efectos adversos que se observaron en el estudio sobre todo en gatos a los cuales se les administró la dosis más alta fueron anorexia, edema pulmonar, letargo, toxicidad hepática y hematológica al grado de llegar a los cuidados intensivos (Siddiqui et al., 2006).

IL-12 en perros mediante terapia génica

En esta especie se han realizado varios estudios como la electrogenoterapia en el cual se incluyen tumores experimentales como el linfoma, el melanoma, algunos carcinomas y el sarcoma. Esta terapia con electrógenos se lleva a cabo mediante la combinación de administraciones de ADN plasmídico en el tejido seguido de pulsos eléctricos aplicados localmente.

Este estudio realizado en 2010 ha demostrado ser eficaz en el control local del tumor así como teniendo un efecto sistémico similar.

La terapia con electrógenos administrada por vía intramuscular y peritumoral con IL-12 también presentó un buen efecto sistémico y en combinación con otras estrategias de tratamiento se observó un remisión total del tumor (Maja Cemazar et al., 2010).

Otro estudio realizado en 2011 se llevó a cabo en pacientes que presentaban mastocitomas, uno de los tumores cutáneos más frecuentes en perros. Un grupo de perros fue tratado mediante terapia con electrógenos intratumoral utilizando un

plásmido de ADN que codifica IL-12 humana, en donde observaron reducción significativa en el tamaño de los tumores tratados (Pavlin et al., 2011).

En 2008 en perros se utilizó la combinación de bleomicina y ADN plasmídico de IL-12 intratumoral seguida de electroporación para tratar tumores en cabeza y cuello en el que se observó respuesta completa y parcial en ciertos tumores (Cutrera et al., 2008).

Un estudio piloto se llevó a cabo en 2017 para demostrar los efectos antiangiogénicos de la terapia génica con IL-12 en combinación con ciclofosfamida metronómica, en donde fueron evaluados seis perros diagnosticados con tumores espontáneos, en el cual obtuvieron muy buenos resultados ya que observaron progresión más lenta de los tumores con aumento en la calidad de vida de los pacientes y con mínimos efectos adversos como eritema e inflamación local (Cicchelero et al., 2017).

Como se ha observado en estudios anteriores el uso de IL-12 en combinación con otras terapias mejora significativamente los resultados en el tratamiento y ofrece un nuevo enfoque en terapias contra el cáncer en medicina veterinaria. Con los diferentes métodos de administración de genes se ha logrado obtener un efecto antitumoral local favorable en varios tipos de tumores en perros y gatos, lo que lo convierte en un tratamiento prometedor.

4.2.3. Interleucina 15 (IL-15)

Esta citocina se encarga del crecimiento, desarrollo, expansión y activación de las funciones de los linfocitos NK y linfocitos T CD8+. La IL-15 es presentada por las DC a los linfocitos NK en los linfonodos y activa la vía de transmisión de señales las cuales promueven la producción de IFN γ por los linfocitos NK.

Una deficiencia en los receptores de IL-15 es causa de deficiencia de linfocitos NK (Abbas et al., 2018g).

En 2009 se realizó un estudio en el cual se administró vía intratumoral ADN plasmídico de IL-6 combinada con pIL-15 seguida de electroporación en perros de raza Beagle a los cuales se les inoculó experimentalmente células de TVT canino en donde se observó supresión del crecimiento tumoral con la consiguiente regresión tumoral exitosamente. El uso en conjunto de pIL-6 y pIL-15 parece ser

beneficioso para aumentar la función citotóxica específica de tumor en el tratamiento de tumores que producen TGF- β (Chou et al., 2009).

En 2014 se creó la IL-15 recombinante canina (rcIL-15) para evaluar sus efectos en la función y proliferación de los linfocitos NK caninos. Se administró vía endovenosa rcIL-15 a Beagles y observaron que el número de linfocitos en sangre periférica aumentó significativamente días después de su administración, por lo que sus resultados sugieren que la proteína rcIL-15 aumenta los efectos antitumorales de linfocitos NK y beneficia la generación de IL-15 la cual mediante unión a su receptor generó una cascada de señalización que promueve la activación, proliferación y supervivencia de las células NK y linfocitos T.

Debido a esto se considera un adyuvante valioso que promete buenos resultados como inmunoterapia antitumoral ya que podría utilizarse para optimizar la transferencia adoptiva de células NK caninas al mejorar la expansión (Lee et al., 2015).

4.2.4. Interferones (IFNs)

Son proteínas producidas por linfocitos, células DCs plasmocitoides y fagocitos mononucleares. Se clasifican en tipo I conformados por IFN- α , IFN- β , IFN- ϵ , IFN- ω , IFN- κ , IFN- δ , IFN- τ , e IFN- ζ , tipo II conformado por IFN- γ y tipo III formados por IFN- λ 1, IFN- λ 2 e IFN- λ 3. Sus funciones incluyen: inhibición de la replicación vírica, inducción de apoptosis, mejoran la habilidad de presentar una respuesta inmune citolítica, presentan propiedades antiangiogénicas y tienen influencia en proliferación celular.

Los interferones tipo I tienen la capacidad de aumentar la citotoxicidad de células NK y de linfocitos CD8+, así mismo promueven la diferenciación de los linfocitos T vírgenes en el subgrupo Th1 de linfocitos T cooperadores. Sus efectos aumentan la inmunidad innata y adaptativa contra agentes infecciosos intracelulares como virus y bacterias.

Otra importante función es que favorecen la expresión de moléculas MHC de clase I con lo que se aumenta la probabilidad de que se reconozcan más fácilmente células que han sido infectadas por virus y estas sean lisadas por linfocitos T CD8+.

En medicina para humanos se han utilizado en conjunto con quimioterapia como tratamiento en melanoma, carcinoma renal, mieloma múltiple, leucemia entre otros (Abbas et al., 2018g; Dow & Guth, 2020; Li et al., 2017).

Interferon- α (IFN- α), interferon- β (IFN- β) e interferon- ω (IFN- ω)

Son de tipo I y presentan mecanismos por los cuales son capaces de afectar a la proliferación celular, pueden inducir apoptosis y sus propiedades antiangiogénicas se han utilizado como tratamiento en hemangiosarcomas (J., 1989; Streck et al., 2004).

Interferones tipo I en perros

Un artículo realizado en 2017 recopiló información acerca del papel que juegan los interferones de tipo I en la patogénesis y tratamiento de enfermedades caninas en el que se describen sus cualidades antitumorales. En el estudio *in vitro* se incluye el uso y efecto de IFNs humanos solo y en combinación con radiación de cobalto-60 tanto en células de caninos y felinos las cuales derivaban de tumores como melanoma, carcinoma de tiroides, osteosarcoma, carcinoma de células escamosas, adenocarcinoma nasal y linfoma; en donde observaron como resultado que las líneas celulares provenientes de tumores de células redondas presentaban una mayor sensibilidad que aquellas que provenían de tumores sólidos.

Debido a sus efectos antiangiogénicos el IFN- α 2a observaron que también podría usarse en el tratamiento de hemangiosarcoma y sarcoma histiocítico canino.

Más resultados alentadores se presentaron en el tratamiento de mixosarcomas, liposarcomas, osteosarcomas y fibrosarcomas en perros usando terapia combinada con IFN- β canino el cual previno o retrasó las recaídas locales así como la formación de metástasis que en conclusión se traduce en un periodo de supervivencia más prolongado (Klotz et al., 2017).

Interferón- ω (IFN- ω) en gatos

Shi-fang Li y colaboradores (2017) realizaron un estudio en el cual se evaluó la actividad biológica del IFN- ω . El IFN- ω es usado en varios países como tratamiento para parvovirus canino, virus de la leucemia felina y la inmunodeficiencia felina. Actualmente este interferón se ha identificado en

humanos, gatos, caballos, conejos, cerdos, ovejas, vacas y murciélagos; en perros y ratones no está presente.

Entre sus funciones está la antiproliferación mediante la cual induce la detención del ciclo celular y la apoptosis, así mismo cuenta con actividad antitumoral.

En este estudio se observó el uso de INF- ω como tratamiento solo y en combinación con agentes quimioterapéuticos en carcinomas mamarios caninos y felinos, leucemia viral felina y fibrosarcoma obteniendo buenos resultados, sin embargo se menciona que aún es necesario continuar con la investigación (Hampel et al., 2007; Li et al., 2017; Penzo et al., 2009).

Interferon- γ (IFN- γ)

Esta citocina es secretada principalmente por linfocitos T, linfocitos NK y células dendríticas como respuesta a estímulos inflamatorios o inmunes. Dentro de un tumor la fuente principal por la cual se produce IFN- γ es mediante los linfocitos infiltrantes del tumor que juegan papel muy importante dentro de la inmunovigilancia tumoral. Induce detención del ciclo celular, así como la producción de óxido nítrico (NO) por parte de macrófagos, inhibe la angiogénesis, causa necrosis, apoptosis, y ralentiza el crecimiento tumoral mediante la inducción de isquemia tumoral. En una variedad de tumores este interferón puede aumentar la expresión de MHC de clase I y II, pero también puede generar un ambiente promotor de cáncer mediante la tumorigénesis por la vía MUC16 y la transición epitelial-mesenquimal (EMT), mediante la vía TNFSF15 promueve angiogénesis e induce SOCS2 y un programa homeostático en células presentadoras de antígeno.

Con estas características se dice que el interferón presenta el yin y yang de la señalización (Dow & Guth, 2020; Ni & Lu, 2018).

En 2007 se describió la utilización y eficacia del uso de plásmidos que codifican feliL-2, INF- γ felino y factor estimulante de colonias de granulocitos-macrófagos felinos (FeGM-CSF) mediante una esponja intratumoral inmediatamente después de la cirugía como tratamiento para gatos con fibrosarcoma en donde se observaron respuestas favorables (Jahnke et al., 2007).

En 2010 en Sakai, Japón se realizó un estudio *in vitro* en el cual se utilizó IFN- γ para mejorar la expresión de moléculas inmunoestimuladoras como CD80, CD83 TNF- α e IL-12 por DCs derivadas de monocitos periféricos caninos observando una supresión en el crecimiento de líneas celulares tumorales mediante apoptosis, por lo que una combinación de IFN- γ y DCs podrían ayudar a inducir una fuerte respuesta inmune contra tumores. En uno de los casos el paciente falleció debido a coagulación intravascular diseminada causada por gran cantidad de necrosis tumoral, como solución para futuros tratamientos con DCs e INF- γ se recomendó como primer paso la resección quirúrgica de la mayor parte del tumor (Mito et al., 2010).

En este mismo año se realizó otro estudio en el cual se trató un Pastor Alemán con un glioma espontáneo mediante cirugía, vacunación con un oligodesoxinucleótido (CpG ODN) con actividad inmunoestimuladora y terapia génica con INF- γ intracavitaria en donde se observó aumento en la calidad y cantidad de CTL, aumento en la expresión de ligandos activadores de células NK y MHC de clase I y II en células de glioma. El paciente presentó signos neurológicos transitorios como convulsiones focales, hemiparesia y ceguera los cuales se volvieron más severos con cada administración de vacunación (Pluhar et al., 2010).

El potencial terapéutico del tratamiento con estas citocinas ha mostrado ser mejor cuando se utilizan en combinación con otras terapias pero siempre teniendo en cuenta los múltiples efectos adversos que puede presentar tras su administración.

4.3. Inmunoterapia no específica: utilización de modificadores de la respuesta biológica (BRM)

Los BRM también denominados inmunopotenciadores son moléculas que tienen la capacidad de modificar la respuesta biológica de las células a cambios que se presentan en su entorno externo; y están relacionados con virus y bacterias.

Como ya se mencionó anteriormente la toxina de Coley consistía en una “vacuna” con cultivos muertos de bacterias las cuales administraba a sus pacientes con sarcomas inoperables, ya que con anterioridad había observado que aquellos

pacientes con cáncer que presentaban una infección tenían un tiempo de supervivencia más largo que aquellos que no la presentaban (Anel et al., 2015; Philip J. Bergman, 2017; Biller, 2007).

Después de la “toxina de Coley” el BRM más conocido y clínicamente utilizado es el bacilo Calmette-Guérin (BCG) que es una cepa viva atenuada de *Mycobacterium bovis* la cual al ser administrada en la vejiga causa una respuesta inflamatoria local que puede generar una respuesta antitumoral contra el carcinoma de células transicionales no invasivas (Dow & Guth, 2020).

El uso de BCG en pacientes veterinarios se reportó por primera vez en 1974 por Owen y Bostock y ha sido investigado en diferentes tipos de carcinomas como el de próstata, de vejiga, de glándula mamaria, en osteosarcomas, linfomas y TVT (Philip J. Bergman, 2017).

Existe un estudio que ha utilizado BCG en combinación con vincristina como tratamiento en TVT, en este estudio realizado en 2009, 20 perros con TVT genital fueron divididos en cuatro grupos; el primero grupo fue el control los cuales fueron tratados con solución salina normal intratumoral una vez al día durante cinco días consecutivos, al segundo grupo se le administró intratumoral BCG con solución salina una vez al día durante cinco días consecutivos, al tercer grupo se les administró vincristina intravenoso (IV) una vez por semana durante cinco semanas y el cuarto grupo fue tratado con BCG intratumoral una vez al día durante cinco días consecutivos en conjunto con vincristina intravenoso una vez a la semana durante cinco semanas, los resultados observados fue una regresión completa en los pacientes tratados con BCG, vincristina y la combinación de BCG/vincristina, la diferencia que presentaron fue el tiempo de regresión de cada grupo; el tiempo de regresión más corto fue para el grupo con BCG/vincristina con un tiempo de 28-35 días, con vincristina fue de 37-41 días y con BCG fue de 40-49 días. El grupo control no presentó regresión tumoral después de 84 días de observación (Mukaratirwa et al., 2009).

También se realizó un estudio en 2007 en donde se utilizó BCG en combinación con gonadotropina coriónica humana para tratamiento de mastocitoma grado II y III (hCG LDI-100), a estos pacientes se les administró diariamente durante seis

semanas por vía subcutánea 0.2mL de biológico y comparándose solo con pacientes tratados con vinblastina se observó que hCG LDI-100 causó menos neutropenia que la vinblastina y una reducción en el tamaño tumoral (Henry et al., 2007).

Otro BRM que se ha observado que presenta efectos antitumorales es *Corynebacterium parvum* en el cual se han basado estudios contra melanoma utilizado en combinación con cirugía, en donde se observó un aumento en la sobrevida de 370 días comparado con 228 días en pacientes a los cuales solo se les realizó cirugía (Philip J. Bergman, 2017; MacEwen et al., 1986).

Otro estudio utilizó un grupo de perras en el cual se administró intralesional *Corynebacterium parvum* en combinación con BCG y un segundo grupo en el que se administró únicamente *Corynebacterium parvum*, ambos grupos con carcinoma de glándula mamaria y obtuvieron como resultado que ninguno de los dos grupos presentaba influencia en el tiempo de sobrevida o en el intervalo libre de enfermedad antes de realizar la mastectomía (Philip J. Bergman, 2017; Parodi et al., 1983).

Sin embargo, la utilización y eficacia de *Corynebacterium parvum* en otros tipos de tumores caninos ha sido desfavorable (Dow & Guth, 2020).

La bacteria *Salmonella* en sus diferentes serotipos también juega un papel en los BRM ya que las bacterias genéticamente modificadas pueden ser terapias poderosas contra el cáncer debido a que pueden servir como vectores eficientes para la entrega de genes.

Las bacterias anaerobias presentan efectos antitumorales a través de varios mecanismos como son: la colonización y alteración directa del microambiente tumoral facilitando el agotamiento de nutrientes esenciales, efectos inmunomoduladores como la estimulación de las DCs y el tropismo de las bacterias anaerobias hacia el tejido tumoral hipóxico al que comúnmente son resistentes otras terapias de tratamiento. Estas bacterias penetran el núcleo necrótico y se alimentan de las células muertas y al mismo tiempo producen toxinas naturales que causan la destrucción de células viables circundantes (Dow & Guth, 2020; Thamm et al., 2005).

4.3.1 Superantígenos (SAgs)

Los SAgs son enterotóxicas producidas por bacterias como *Staphylococcus aureus*. Dos de las enterotoxinas más conocidas son SEA y SEB que se unen al MHC de clase II y estimulan la activación y proliferación de linfocitos T CD4 y T CD8 observando un efecto terapéutico mediante la infiltración tumoral de estos que producen citocinas como IL-2, TNF- α y IFN- γ .

Los superantígenos dirigidos a tumor (TTS) (por sus siglas en inglés tumor-targeted superantigen) son SAgs unidos a un anticuerpo monoclonal específico de tumor (mAbs) (Guth & Dow, 2013; Hedlund et al., 2013).

En 2003 se realizó un estudio en el cual se administró intralesionalmente un complejo combinado de SAgs con IL-2 (L-SEA/cIL-2) en combinación con cirugía y se comparó la respuesta solo con cirugía a perros con sarcomas y obtuvieron tanto respuestas completas como parciales, por lo que esta terapia aún continúa en proceso de investigación (Guth & Dow, 2013; Thamm et al., 2003).

4.3.2. Tripéptido de muramyl encapsulado en liposoma (L-MTP-PE)

Existen partes celulares de las micobacterias que contienen un dipéptido de muramil (MDP); tripéptido de muramil fosfatidiletalonaamina (MTP-PE) es un derivado sintético lipofílico de MDP que se asemeja a un fragmento de la pared celular de peptidoglicano de las bacterias; ambos tienen la capacidad de ser inmunogénicos y por tal motivo es capaz de alertar a macrófagos tisulares y monocitos. Cuando MTP es encapsulado en un liposoma fosfatidiletalonaamina (L-MTP-PE) los monocitos y macrófagos pueden absorberlo y activarse eficientemente produciendo citocinas proinflamatorias como IL-1 α , IL-1 β , IL-6-IL-7, IL-8, IL-12 y TNF- α .

Su uso en combinación con agentes quimioterapéuticos se ha llevado a cabo en perros con osteosarcoma, hemangiosarcoma, melanoma y adenocarcinoma mamario con resultados muy variables. Un ejemplo de este es la mifamurtida que está autorizado solo para su uso en Europa (Philip J. Bergman, 2017; Biller, 2007; Clifford et al., 2000; Regan et al., 2016).

4.3.3 Virus oncolíticos

Existen virus que son capaces de replicarse y lisar una célula tumoral por lo que se han investigado como opción para eliminar células tumorales (Dow & Guth, 2020).

Uno de ellos es el adenovirus que ha sido utilizado como agente contra osteosarcoma en perros sin presentar efectos secundarios asociados (Philip J. Bergman, 2017); así mismo, se ha utilizado el virus de Distemper canino (CDV) en el tratamiento de linfoma de linfocitos B y T con altas tasas de infectividad pero aunque se documentó esta infección en linfocitos neoplásicos aislados de los pacientes, no fue posible determinar si la infección resultó en muerte celular sustancial ya que las condiciones para el cultivo a largo plazo de estas células es desconocido (Suter et al., 2005).

En el año 2015 en la Universidad Nacional Autónoma de México, la Dra. Diana Sánchez y Cols. realizaron un estudio en el que utilizaron varias cepas del virus de Newcastle (NDV) en donde estudiaron el efecto citolíticos *in vitro* e *in vivo* de NDV-MLS de baja virulencia (lentagénica) en una línea celular de linfoma B de células grandes humanas (SU-DHL-4) y en linfoma de células B de perro, comparándolas con células sanas mononucleares de sangre periférica (PBMC) de humanos y perros. Este es un paramixovirus que ha mostrado tener efectos inmunoestimulantes y oncolíticos. En donde observaron que NDV-MLS reduce la supervivencia de células de linfoma tanto en humanos como en perros y no observaron ningún efecto significativo en PMBC. Este estudio concluye que es necesaria mayor investigación para determinar un régimen terapéutico óptimo y el establecimiento de medidas adecuadas de bioseguridad. Este estudio nos muestra la importancia de los perros en la realización de investigación traslacional (Sánchez et al., 2015).

En el 2018 se realizó un estudio en el cual se trató de demostrar la seguridad y eficacia del uso intravenoso de una forma recombinante del virus de la estomatitis vesicular (VSV) en nueve perros con presencia de tumores espontáneos y obtuvieron como resultado una respuesta parcial transitoria, lo que sugiere que es posible que se tenga efecto inmune (Naik et al., 2018).

4.3.4. Complejos liposomas-ADN

Son complejos catiónicos de liposomas-ADN (CLDC) que son activadores efectivos de linfocitos NK, por lo que se han realizado estudios en donde se administró con la finalidad de controlar las metástasis de osteosarcoma y como agente antiangiogénico en sarcoma de tejidos blandos en perros. De la misma manera que Mifamurtida está siendo evaluado como inmunoterapéutico veterinario en Europa (Dow & Guth, 2020; Regan et al., 2016).

4.3.5. Receptores tipo toll (TLR)

Los TLR son glucoproteínas integrales de membrana tipo I que se expresan en la superficie de DCs, y macrófagos. Corresponden a una familia de receptores de patrones moleculares asociados a patógenos como bacterias, ADN o ARN viral expresados en muchos tipos celulares (Abbas et al., 2018g; Dow & Guth, 2020).

En 2008 se realizó un estudio retrospectivo con el objetivo de describir protocolos de tratamiento, hallazgos clínicos y tiempos de supervivencia de 14 gatos con carcinoma de células escamosas en donde se utilizó Imiquimod crema 5% (ALDARA™), modificador de la respuesta inmune como monoterapia tópica el cual actúa a través de receptor TLR7 induciendo la producción de IFN- α , IFN- γ diferentes interleucinas y TNF- α , al mismo tiempo que activa indirectamente la vía de los linfocitos Th1. Como resultado concluyeron que fue bien tolerado por los pacientes, con efectos secundarios mínimos y que puede ser una alternativa eficiente (Gill et al., 2008).

4.4. Inmunoterapia específica basada en vacunas antitumorales y células dendríticas

Una célula en su proceso de transformación tumoral es capaz de expresar antígenos tumorales como los neoantígenos que pueden ser exclusivos de un tipo de tumor o ser compartidos por diferentes tipos de tumores los cuales pueden llegar a ser reconocidos por el sistema inmune y generar una respuesta antitumoral efectiva y por otro lado están los antígenos asociados a tumor que también pueden estar expresados en células normales y dentro de esta categoría

se encuentran los antígenos oncofetales como el carcinoembrionario, ó antígenos sobreexpresados como los receptores para el factor de crecimiento epidérmico (Cabezón et al., 2015; Dow & Guth, 2020).

La forma en la que son administrados estos antígenos y la combinación con agentes inmunoestimulantes pueden determinar la generación de respuestas antitumorales efectivas y duraderas. Aunque en ciertos casos a pesar de la aparición de estos antígenos el sistema inmune no es capaz de eliminar el tumor.

Actualmente se está intentando aumentar las respuestas inmunitarias preexistentes insuficientes o estimular las respuestas inmunitarias específicas de antígeno utilizando vacunas.

Mientras que los tratamientos tradicionales contra el cáncer como cirugía, quimioterapia y radioterapia toman de horas a días para notar una respuesta clínica; la respuesta típica apreciable de las vacunas toma de semanas a meses.

Esta diferencia en el tiempo de respuesta y una falta congruente y objetiva de medir su eficacia, hacen difícil el desarrollo de vacunas tumorales (Dow & Guth, 2020).

Existen diferentes variedades de vacunas que actualmente forman parte de ensayos clínicos en fase I, II, y III (Dow & Guth, 2020). De esta forma existen vacunas con células enteras, con antígenos tumorales y/o subunidades autólogas, alogénicos, vacunas de células enteras de líneas celulares tumorales irradiadas con o sin citocinas inmunoestimulantes), vacunas de ADN plasmídico singénico y xenogénico diseñado para provocar inmunidad humoral y celular específica de antígeno, vacunas basadas en vectores virales diseñadas para administrar genes que codifican TAA y/o citocinas inmunoestimulantes y por otro lado están las vacunas con DCs como adyuvantes naturales (Abbas et al., 2018f; Philip J. Bergman, 2017; Cabezón et al., 2015; Dow & Guth, 2020).

4.4.1. Vacunas de células tumorales completas y lisados celulares

Estas vacunas de células tumorales completas están diseñadas mediante células tumorales enteras tomadas directamente del paciente las cuales son irradiadas usualmente con rayos gamma para su inactivación.

Las vacunas de lisados de células tumorales incluyen fracciones de proteínas de membrana.

Ambas vacunas son administradas con un adyuvante que permite llevar a cabo la respuesta inmune (Dow & Guth, 2020; Regan et al., 2016).

Mediante el lisado tumoral se pretende administrar la totalidad de antígenos que componen un tumor. La accesibilidad al tumor, la obtención de un volumen tumoral suficiente y la limitación de dosis representan restricciones muy importantes para su utilización.

Una alternativa al lisado tumoral es el uso de líneas tumorales establecidas *in vitro*. En este caso pueden utilizarse líneas establecidas del propio paciente (autólogas) o de otros pacientes con el mismo tumor (heterólogas) (Cabezón et al., 2015).

En medicina veterinaria se ha utilizado una vacuna alogénica de lisados tumorales de hemangiosarcoma en combinación con quimioterapia (U'Ren et al., 2007), vacunas con células tumorales completas con citocinas inmunoestimulantes como GM-CSF en perros con sarcoma de tejidos blandos (STS) (Hogge et al., 1999), con linfoma de células B (Turek et al., 2007) y una vacuna alogénica contra melanoma en combinación con proteína xenogénica de melanoma, glicoproteína 100 humana (hgp100) (Alexander et al., 2006). También se han realizado estudios en pacientes con astrocitoma, carcinoma mamario y TVT (Regan et al., 2016).

Sin embargo aunque se vieron en algunos casos respuestas favorables, estas vacunas no proporcionaron evidencia suficiente de la eficacia en términos de aumentar los intervalos libres de enfermedad o prolongar significativamente los tiempos de supervivencia en general (Guth & Dow, 2013; Regan et al., 2016).

4.4.2. Vacunas con antígenos tumorales específicos

Los antígenos de tumor purificados también pueden ser utilizados para generar inmunidad específica de tumor.

Sin embargo en medicina veterinaria este enfoque está limitado por la poca disponibilidad de antígenos tumorales caninos conocidos (Regan et al., 2016).

4.4.3. Inmunización contra antígenos tumorales usando ADN plasmídico

Estas vacunas de ADN plasmídico (ADNp) son plásmidos bacterianos generalmente de *Escherichia coli*, desarrollados para expresar una proteína.

Estos plásmidos tienen la función de servir como transporte para un gen teniendo como resultado la producción *in situ* del antígeno (para las vacunas) ó proteína terapéutica (para aplicaciones de terapia génica).

Estas vacunas han mostrado habilidad para provocar tanto inmunidad celular como humoral.

La facilidad de trabajar con ADN bacteriano y la capacidad de producir rápidamente grandes cantidades de ADN plasmídico (ADNp) hacen de esta una plataforma de vacuna atractiva, esto permite estimar que en un futuro la demanda de ADNp aumentará sustancialmente (Borja et al., 2013; Dow & Guth, 2020).

Actualmente existe una vacuna específica de tumor aprobada por la USDA para su uso en medicina veterinaria en perros con melanoma dirigida a la proteína tirosinasa humana, una proteína que es muy similar pero no idéntica a la tirosinasa en perros. La vacuna Oncept® usa ADN plasmídico xenogenético que contiene el gen que codifica para la tirosinasa humana (huTyr) (P. J. Bergman et al., 2006; Borja et al., 2013; Dow & Guth, 2020; Klingemann, 2018; Regan et al., 2016).

4.4.4. Vacunación mediante uso de vector viral

Los virus son naturalmente inmunogénicos y pueden ser utilizados como vectores para expresar antígenos tumorales. Se ha demostrado que gran variedad de virus recombinantes infectan células presentadoras de antígenos como las DCs lo cual permite una mejor presentación al sistema inmune produciendo la afección de los linfocitos T citotóxicos que son dirigidos hacia las células tumorales que expresan los antígenos tumorales codificados en el vector de la vacuna. Por lo general, se utilizan virus atenuados o con replicación defectuosa para permitir una estimulación efectiva del sistema inmune innato y adaptativo (Dow & Guth, 2020; Larocca & Schlom, 2011).

Los virus recombinantes tienen la ventaja de producirse más fácilmente que otras estrategias de inmunoterapia dada la relativa facilidad de producción, purificación y almacenamiento. La desventaja es el desarrollo de posibles anticuerpos neutralizantes inducidos por el huésped contra el propio vector, lo que limita el uso continuo (Larocca & Schlom, 2011).

Los vectores virales comúnmente estudiados tanto en medicina humana como en medicina veterinaria son de la familia Poxviridae. En esta familia se incluyen los derivados del virus vaccinia, miembros del género avipoxvirus y ortopoxvirus, como la viruela del canario y la viruela aviar. Los poxvirus son susceptibles a grandes cantidades de ADN extraño y son altamente inmunogénicos lo que permite llevar a cabo respuestas inmunes fuertes contra antígenos tumorales débiles como el antígeno carcinoembrionario (CEA) (Dow & Guth, 2020; Elliott, 2017; Larocca & Schlom, 2011; Pikor et al., 2017).

Los vectores poxvirales han sido los más utilizados gracias a que presentan un amplio rango de hospedero, llevan a cabo una replicación más precisa, cuentan con recombinantes estables y presenta un eficiente procesamiento postraduccional de genes insertados. La replicación viral y la transcripción del genoma de poxvirus se restringe al citoplasma de la célula hospedadora; lo que tiene como ventaja que esta replicación extranuclear elimine el riesgo de mutagénesis de inserción, inserción aleatoria de secuencias genéticas virales en el ADN de la célula hospedadora. La expresión intracelular del (de los) transgen (es) permite que el antígeno tumoral sea procesado por el MHC de clase I y II, lo que produce la activación de linfocitos T CD4+ y T CD8 +. Así mismo se ha observado la inducción de una respuesta humoral contra los antígenos tumorales. La lisis de las células tumorales infectadas conduce a la liberación de antígenos tumorales que provocan una mejoría en la respuesta inmune antitumoral.

El ortopoxvirus infecta las células de mamíferos y aproximadamente 7 días antes de que el sistema inmune elimine la célula infectada expresa genes recombinantes; en comparación con la familia de los Avipoxvirus que infecta y expresa sus transgenes durante 14 a 21 días (Larocca & Schlom, 2011).

Recientemente se ha desarrollado una vacuna contra la proteína llamada transcriptasa inversa de la telomerasa canina, para perros con linfoma B, que en combinación con quimioterapia ha demostrado tener resultados positivos aumentando la supervivencia de los pacientes (Gavazza et al., 2013).

Las vacunas se pueden desarrollar a partir de varios métodos, lo que ha llevado a la generación de gran cantidad de vacunas antitumorales para caninos sin mostrar pruebas de eficacia en ensayos clínicos controlados adecuadamente y en humanos han demostrado tener beneficios limitados.

Como se mencionó anteriormente la única vacuna actualmente aprobada es Oncept® dirigida hacia la proteína tirosinasa (humana) en melanoma pero aún no se determina realmente si presenta beneficios terapéuticos.

Los estudios llevados a cabo sobre vacunas tumorales en perros presentan problemas generales en las pruebas ya que los estudios de seguridad iniciales se realizan en número limitado de perros y los ensayos de seguimiento en entornos clínicos más controlados son poco frecuentes, por lo que los resultados y observaciones positivas, en su mayoría anecdóticas, no sabemos si transmiten beneficio real para el perro (Elliott, 2017; Klingemann, 2018; Regan et al., 2016; Verganti et al., 2017).

4.4.5. Vacunación mediante uso de células dendríticas

Las DCs son las células presentadoras de antígeno más potentes que tiene el sistema inmunitario por lo que son un objetivo atractivo como estrategias para generar vacunas contra el cáncer.

Estas células están implicadas en la generación de respuestas inmunógenas ya que estimuladas de manera apropiada son capaces de generar linfocitos T citotóxicos y producir clones de linfocitos específicos de antígeno, rompiendo el estado de tolerancia. En humanos se han utilizado como adyuvante natural en la vacunación (Cabezón et al., 2015; Dow & Guth, 2020) (Figura 4.2).

Gracias a sus propiedades inmunoestimuladoras, principalmente en la producción de citocinas del tipo interleucinas (IL-12), el factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α), la IL-1 β y la expresión de moléculas coestimuladoras, están involucradas en la generación de respuestas de tipo Th1, Th17 y citotóxicas.

Actualmente está aceptada la necesidad de madurar (activación) a las DCs antes de su administración. Esta maduración permite aumentar la inmunogenicidad de las DCs y potenciar su capacidad presentadora de antígeno; mediante la utilización de citocinas proinflamatorias como TNF- α , IL-6, interferon tipo I (IFN), IL-1 β y prostaglandinas E2, se aumenta la movilidad y migración hacia los linfonodos. Este aspecto de maduración es muy importante pero existen otros factores relevantes a tomar en cuenta como la dosis a administrar, la vía de administración, la pauta de tratamiento y el tipo de DCs seleccionada.

Una de las características principales de las DCs es la secreción de IFN de tipo I, lo cual es posible tenga alguna incidencia en la expansión de linfocitos NK y CD8 citotóxicos (Cabezón et al., 2015; Dow & Guth, 2020).

En medicina veterinaria se han realizado varios estudios con vacunas de células dendríticas; uno de ellos se llevó a cabo en tres perros con melanoma, en el cual se utilizaron DCs de la médula ósea de perros con melanoma *ex vivo*. Estas células mononucleares de médula ósea de tres perros afectados y uno sano se cultivaron durante 12 días en medios complementados con factor de necrosis tumoral y GM-CSF, entre otros. El día 11, las DCs se transdujeron con un vector viral de adenovirus que codifica un xenoantígeno, antígeno de melanoma humano gp100. A cada paciente se le administraron tres vacunas durante los días 30, 60 y 90 en un periodo de cuatro meses. Durante el análisis las DCs fueron capaces de estimular la alorreactividad, capturar y expresar gp100. En un paciente se logró demostrar actividad de CTL específicos de antígeno en linfocitos de sangre periférica; este paciente no mostro recurrencia local ni sistémica de melanoma 48 meses después de la vacuna, sin embargo, otro paciente que no presentó CTL, recayó 22 meses después de la vacuna (Gyorffy et al., 2005).

En un estudio en 2011 se utilizaron vacunas híbridas con la mezcla de DCs y células de tumores de glándula mamaria en Beagles de laboratorio, diseñadas para mejorar la presentación de antígeno y el reconocimiento tumoral; lo que resultó en gran respuesta con anticuerpos contra la línea celular tumoral (Bird et al., 2011).

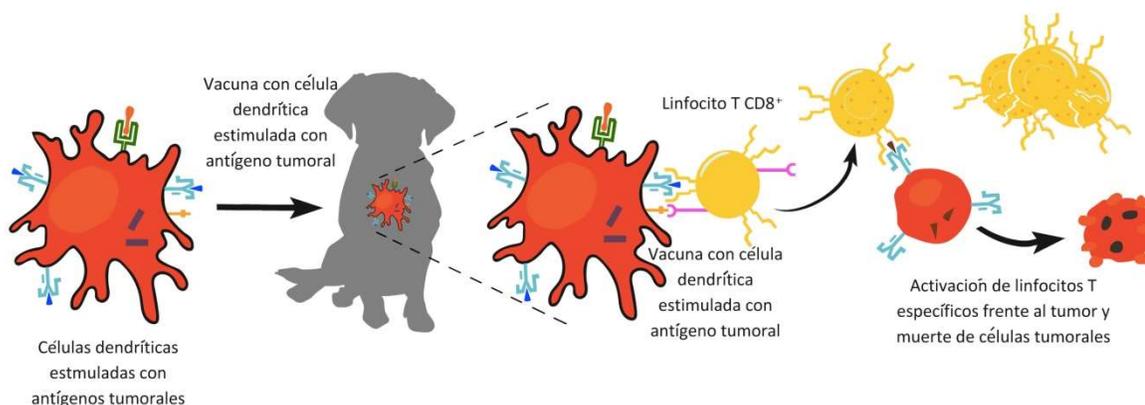


Figura 4.2. Vacunas de células dendríticas (Modificada de: Abbas et al., 2018f).

La diversidad de estudios, protocolos, estímulos madurativos, tipos de tumores tratados, fuentes de antígenos, tipos de DCs y la ausencia de estudios comparativos, hacen que este tipo de inmunoterapia requiera de optimización con la participación de grupos de interesados en esta aproximación terapéutica para la unificación de protocolos. A pesar de esto puede afirmarse que la administración de células dendríticas es segura y sin efectos adversos graves (Cabezón et al., 2015). Por lo tanto, el desarrollo de este tipo de inmunoterapia en medicina veterinaria se está explorando en varios tipos tumorales utilizando diversas estrategias (Dow & Guth, 2020).

4.5. Inmunoterapia utilizando transferencia adoptiva de células T

Este tipo de inmunoterapia se lleva a cabo mediante la transferencia o administración sistémica de células inmunitarias cultivadas como linfocitos, los cuales presentan una fuerte actividad antitumoral con el propósito de desencadenar una potente respuesta contra el tumor.

Existen distintas modalidades de inmunoterapia adoptiva con linfocitos, entre los que destacan: transferencia adoptiva de linfocitos T derivados de tumor TIL (*tumor-infiltrating lymphocytes*), linfocitos derivados de sangre periférica (linfocitos T específicos de antígenos asociados a tumor (TAA), linfocitos T genéticamente modificados que expresan un TAA específico de receptor de célula T (TCR), linfocito T genéticamente modificado para expresar un TAA específico de receptor

de antígeno quimérico (CAR) y la transferencia de células NK, de la cual se hablará más adelante (Abbas et al., 2018f; Gros et al., 2015; Srivastava et al., 2017).

Los linfocitos T específicos de tumor pueden obtenerse del tejido tumoral o de sangre periférica del paciente, estos TIL en el laboratorio pueden expandirse a partir de pequeños fragmentos tumorales cultivados en IL-2 o generar linfocitos con especificidad antitumoral estimulados sucesivamente con un péptido o antígeno tumoral en una célula presentadora de antígeno; durante varias semanas de cultivo y expansión. Los linfocitos se cocultivan con el tumor autólogo en el caso de los TIL o con una célula presentadora de antígeno presentando el antígeno tumoral de interés para seleccionar aquellos que demuestren mayor actividad funcional y reconocimiento del tumor o antígeno. Los cultivos seleccionados se expanden *ex vivo* y cuando se obtiene una cantidad específica de linfocitos son administrados sistémicamente al paciente en compañía de IL-2 tras un protocolo de linfodepleción mediante un tratamiento previo con agentes quimioterapéuticos que además de reducir la carga tumoral permite agotar las poblaciones de células supresoras, elimina linfocitos endógenos que compiten por las citocinas homeostáticas necesarias para la proliferación y supervivencia de linfocitos T y la activación de células presentadoras de antígenos; incrementando la disponibilidad de IL-7 e IL-15, mejorando así la eficacia antitumoral de los linfocitos T infundidos (Gattinoni et al., 2005; Gros et al., 2015; Srivastava et al., 2017) (Figura 4.3).

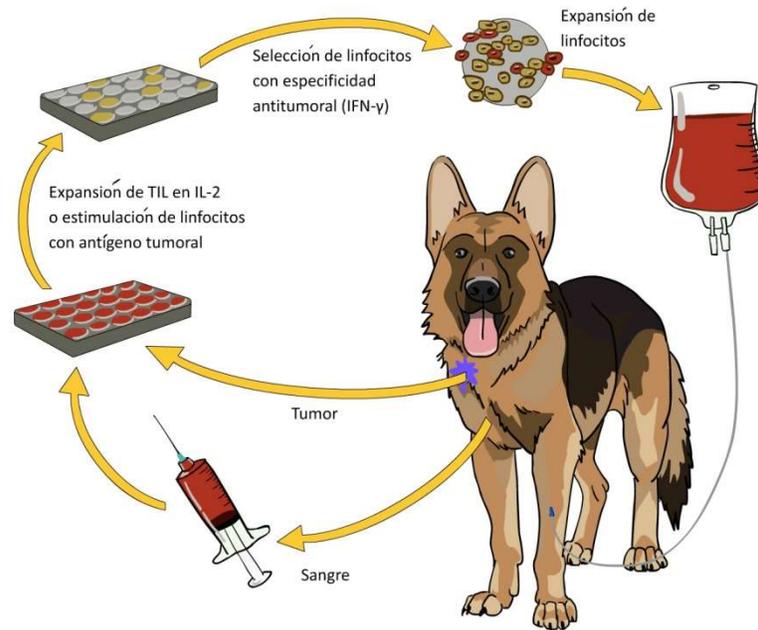


Figura 4.3. Terapia adoptiva con linfocitos T (Modificada de: Gros et al., 2015).

Los linfocitos T contribuyen en la inmunovigilancia del cáncer y expresan en su superficie un receptor de células T (TCR, *T cell receptor*), que les confiere una gran especificidad por su antígeno.

La interacción del TCR en la superficie del linfocito con su péptido en el MHC es transportada al interior de la célula por medio de una señal transmitida por un linfocito CD3 influenciada por moléculas coestimuladoras/coinhibidoras y por la presencia de citocinas. Esta señal desencadena una transducción de señales que implica la activación de tirosina cinasa citosólica. En el caso de los linfocitos CD8 citotóxicos, la activación en respuesta al reconocimiento de su antígeno en el MHC-I promueve la proliferación celular, la adquisición de funciones efectoras como la secreción de interferon gamma (IFN- γ), TNF- α y la degranulación de granzimas y perforinas que ayudan a lisar la célula diana.

La utilización de linfocitos T como promotores de respuesta antitumoral es bastante atractiva debido a sus importantes características como: su capacidad citotóxica, su alta especificidad y expansión por el reconocimiento de su antígeno, lo que resulta en amplia actividad antitumoral. Además de tener la capacidad de generar memoria lo que les permite realizar una respuesta rápida ante re-

exposición a su antígeno. Esta propiedad hace de este tipo de inmunoterapia un tratamiento potencialmente curativo, previniendo así la aparición de metástasis (Gros et al., 2015).

Para obtener potenciación de la capacidad efectora de los linfocitos T destaca la importancia de la selección del antígeno diana. Estos antígenos se pueden clasificar de acuerdo con la capacidad de discernir entre el tejido normal y el tumor.

El uso de antígenos de baja especificidad como blanco para esta inmunoterapia conlleva un gran riesgo de toxicidad autoinmunitaria, debido al posible reconocimiento de células normales. Entre estos destacan MART-1, GP100, WT-1 y tirosinasa; que puede ocasionar la destrucción de melanocitos en piel, ojo y oído; por lo que la utilización de estos antígenos no es deseable por la capacidad de desencadenar una toxicidad severa.

Los antígenos de alta especificidad tumoral como los antígenos virales, son un blanco tumoral ideal, ya que se expresan de una manera constitutiva y son esenciales para el crecimiento de una célula maligna, como las oncoproteínas E6/E7 del virus del papiloma humano (VPH). Otro tipo antígeno de alta especificidad son los llamados antígenos cancerosos y de línea germinal CG (cancer-germline), como GAGE, MAGE-A3 y NY-ESO-1 sin presentar toxicidad destacada. Aunque la transferencia adoptiva de linfocitos específicos de un péptido derivado de MAGE-A3 en melanoma como puede ser un péptido homólogo derivado de MAGE-A12 expresado en el cerebro puede llegar a ocasionar toxicidad neurológica grave. Estas toxicidades ponen de manifiesto la potente actividad efectora de los linfocitos T y la importancia de la selección de antígenos tumorales diana para la terapia.

Y por último, los neoantígenos son otro tipo de antígenos de alta especificidad producto de mutaciones somáticas de la célula maligna. La incorporación de un cambio en la región codificante de una proteína expresada por el tumor puede causar un incremento en la afinidad del péptido por la molécula de MHC y por lo tanto una mayor presentación en la superficie, ó una alteración en la secuencia de aminoácidos que tienen una interacción directa con el TCR, generando un epítipo,

denominado también neoepítipo, que será reconocido por los linfocitos como un antígeno extraño (Gros et al., 2015; Srivastava et al., 2017).

Este tipo de inmunoterapia se ha llevado a cabo en pacientes con melanoma y en otros tipos tumorales pero con experiencias limitadas. Esta terapia intenta suplir la insuficiente actividad antitumoral de los linfocitos endógenos, mediante la administración de grandes cantidades de linfocitos con especificidad antitumoral altamente activados *ex vivo*.

En 2012 se llevó a cabo un estudio con perros que presentaban linfoma, en el cual se observó aumento en el periodo de supervivencia en los pacientes posterior a su tratamiento con un protocolo quimioterapéutico con CHOP (vincristina, ciclofosfamida, doxorubicina y prednisona) se les fue administrado infusiones de linfocitos T extendidos, este grupo con tratamiento combinado presentó una supervivencia libre de tumor de 338 días comparándolo con pacientes a los cuales solo se les fue administrado el protocolo CHOP, estos pacientes a los cuales no se les complemento con transferencia de linfocitos T tuvieron una media de supervivencia de 71 días post CHOP (O'Connor et al., 2012).

Actualmente el uso de linfocitos infiltrantes de tumor (TILs) en medicina veterinaria no se ha llevado a cabo, debido a la ausencia de eficacia en ensayos clínicos en múltiples tipos de tumores humanos (Bujak et al., 2018; Dow & Guth, 2020).

4.6. Terapia celular adoptiva con células asesinas activadas por linfocina (T-LAK)

La inmunoterapia pasiva implica la administración de linfocitos autólogos sin especificidad de cáncer, a diferencia de la terapia de transferencia adoptiva con linfocitos T específicos de tumor.

Estas células se generan a partir de células mononucleares de sangre periférica autóloga (PBMC) cultivadas con interleucinas y anticuerpos o *clusters* de diferenciación (CD).

En medicina veterinaria se han realizado varios estudios en los que se utilizan células T-LAK, en donde la secuencial administración aumentó la proliferación de

células inmunes del huésped y los niveles de IFN- γ en suero sin inducir efectos secundarios graves.

Así mismo, se observó su beneficio como tratamiento complementario junto con la resección quirúrgica de ciertos tumores ya que se considera una terapia más eficaz cuando existe menor volumen de células tumorales. Si no es posible realizar una resección quirúrgica para eliminar carga tumoral, se recomienda hacer una citoreducción con el agente quimioterapéutico más adecuado para el tipo tumoral a tratar (Bujak et al., 2018).

En 2016 un estudio presentó como objetivo evaluar el efecto inmunoestimulante de la terapia con T-LAK combinada con la cirugía en perros entre los años 2012-2014 y observaron que sí existe aumento en el recuento de linfocitos en sangre periférica; sin embargo aún existen limitantes en este tipo de estudio como la carga tumoral inicial, la combinación de esta terapia con cirugía, quimioterapia y radioterapia, entre otras (Mie et al., 2016).

4.7. Inmunoterapia utilizando transferencia adoptiva de células NK

En 2016 en la Universidad de California se inició un ensayo clínico de fase II en pacientes con osteosarcoma apendicular, el cual consistió en administrar radioterapia paliativa una vez por semana durante cuatro semanas y posteriormente a los perros se les administran dos inyecciones intralesionales de células NK caninas autólogas aisladas, expandidas y activadas ex vivo, las cuales están complementadas con rhIL-2 de grado clínico para soporte de citocinas in vivo. Solo existen resultados preliminares hasta el momento que han mostrado ser prometedores con toxicidades mínimas. Concluyendo que el modelo canino es relevante para la evaluación de inmunoterapia celular adoptiva (Dow & Guth, 2020; Park et al., 2016).

4.8. Inmunoterapia con linfocitos genéticamente modificados (Chimeric antigen receptor CAR)

La inmunoterapia con células T modificadas genéticamente (CAR-T) para que expresen receptores de células T transgénicos o receptores quiméricos de

antígeno es probablemente uno de los desarrollos más alentadores en el tratamiento de neoplasias hematológicas. Sin embargo, a pesar del progreso en el área, la terapia con CAR-T está todavía en sus inicios y enfrenta desafíos significativos como la complejidad y los costos asociados a la tecnología (Guedán Carrió & Boronat Barado, 2015; Mochel et al., 2019).

La terapia adoptiva de células T se basa en la obtención y la reinfusión de linfocitos T para tratar pacientes con cáncer. Actualmente es posible gracias a la ingeniería genética modificar linfocitos T de pacientes para que expresen receptores de superficie que reconozcan una gran variedad de antígenos tumorales. Estos linfocitos T modificados pueden expandirse en el laboratorio para generar un gran número de linfocitos T específicos de tumor en un corto periodo (Guedán Carrió & Boronat Barado, 2015).

Pasos para generar células CAR-T autólogas específicas para el paciente.

1. Los linfocitos T se colectan del paciente mediante leucoféresis.
2. Los linfocitos T se cultivan en un laboratorio que cumpla los procesos de fabricación y seguido se estimulan mediante citocinas, APC o anticuerpos.
3. Los linfocitos T no específicos de tumor adquieren la capacidad de reconocer antígenos tumorales, las células T se transducen con el CAR de interés. Para insertar el gen CAR en las células T, se han utilizados vectores virales como los retrovirus o lentivirus, siendo estos últimos los más utilizados por demostrar ser más seguros; ó enfoques no virales como CRISPR, ARN, TALEN y transposón.
4. Los linfocitos T son cultivados durante siete a 14 días, durante este periodo se expanden, expresan el CAR-T de elección y se prueban para superar criterios como seguridad, esterilidad y eficacia.
5. Los linfocitos CAR-T finalmente se administran mediante infusión intravenosa en pacientes que previamente llevaron a cabo una linfodepleción mediante quimioterapia.

Posterior a la infusión, se estimula a los linfocitos T a través del receptor CAR después de que reconocen su antígeno diana en células tumorales, seguido por una expansión masiva in vivo, asociada a la producción de citocinas y la liberación

de gránulos citotóxicos; durante ese periodo los linfocitos T presentan su actividad antitumoral. Después de la expansión los linfocitos CAR-T tienen la capacidad de diferenciarse en una población estable de linfocitos T de memoria y de esta manera evitar posibles recaídas.

Las dos estrategias principales para redirigir la especificidad de los linfocitos T es mediante la introducción de receptores de células T (TCR *T cell receptors*) exógenos y la introducción de receptores quiméricos de antígeno (CAR *chimeric antigen receptor*) (Guedán Carrió & Boronat Barado, 2015; Mochel et al., 2019).

Los CAR son receptores quiméricos (una parte es generalmente derivada de un fragmento variable de la cadena sencilla de un anticuerpo monoclonal (scFv) y otra parte de un receptor de proteína TCR). Estos CAR contienen tres dominios ó estructuras: una estructura extracelular que incluye el dominio de reconocimiento antigénico tumoral, que suele ser un scFv derivado de anticuerpo, una estructura transmembrana que ancla la molécula a la membrana celular y una estructura intracelular generalmente contiene la cadena CD3 ζ que suele contener dominios de señalización del TCR capaz de transmitir las señales de activación y proliferación de los linfocitos T (Figura 4.4).

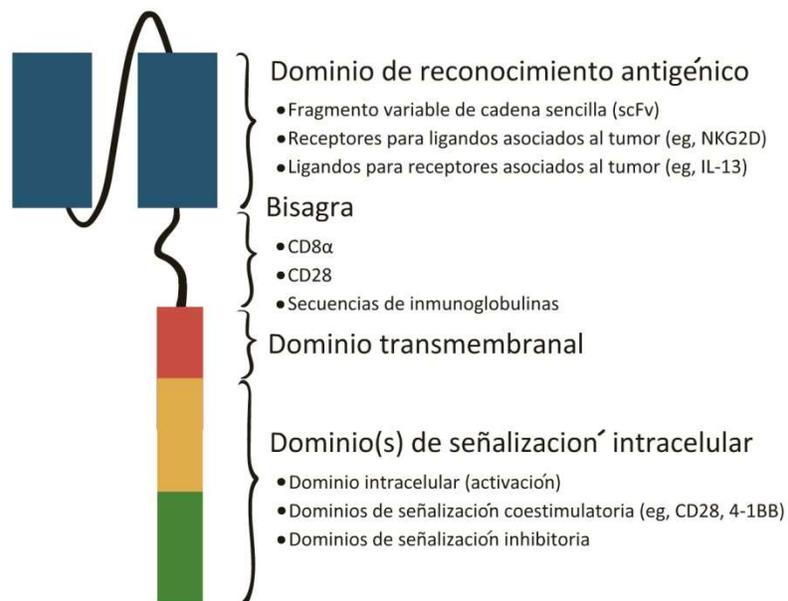


Figura 4.4. Estructuras que integran un CAR (Srivastava et al., 2017).

Estos CAR formados por un scFv unido a la cadena CD3 ζ del TCR son conocidos como CAR de primera generación (1989); en la mayoría de los casos el dominio de unión a scFv fue de origen murino, lo que provocó una respuesta de células T citotóxicas anti CAR. Por lo que la terapia con estos CAR-T resultó en una proliferación débil con supervivencia breve y un efecto antitumoral limitado.

Por lo tanto, más tarde se desarrollaron los linfocitos CAR-T de segunda generación. Estos CAR presentan un dominio de unión a antígeno, un dominio de señalización CD3 ζ y se optimizaron mediante la adición de una molécula coestimuladora como CD28, CD137 e ICOS. Este dominio intracelular mejora la capacidad efectora de linfocitos T, así como su capacidad de proliferación, supervivencia y persistencia en el paciente.

Y por último, los CAR de tercera generación que incorporan más de un dominio intracelular de coestimulación (Figura 4.5).

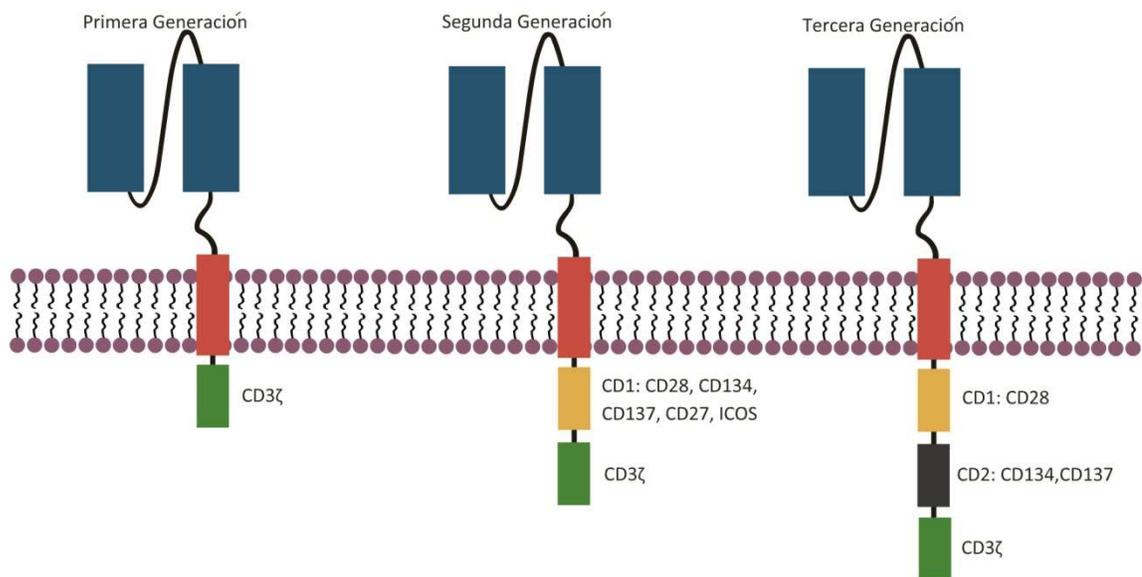


Figura 4.5. Las tres generaciones de CAR (Guedán Carrió & Boronat Barado, 2015).

Está demostrado que cada generación de CAR cuenta con propiedades distintivas con respecto a la actividad antitumoral, proliferación, propiedades citotóxicas y persistencia de linfocitos T.

Una ventaja de los CARs sobre los TCRs es que confieren un reconocimiento independiente de la célula tumoral, lo que permite utilizar un receptor independientemente del haplotipo HLA de los pacientes. Por esta razón los CARs reconocen las células tumorales que tienen la expresión regulada de moléculas de procesamiento de HLA o de antígenos, que son mecanismos comunes en la evasión tumoral (Bujak et al., 2018; Guedán Carrió & Boronat Barado, 2015; Mochel et al., 2019; Srivastava et al., 2017).

El linfoma de células B es el cáncer hematopoyético más frecuente en humanos y en perros por tal motivo es un modelo natural ampliamente aceptado para el linfoma no Hodgkin en humano.

La mayoría de los tratamientos para el cáncer en perros están basados en el uso de quimioterapia genérica humana. Estos tratamientos se asocian con efectos secundarios graves que limitan la dosis, como la toxicidad gastrointestinal y de la médula ósea.

No obstante se propuso eliminar los efectos tóxicos de la terapia mediante la administración de agentes que bloqueen epítopos específicos, como los anticuerpos monoclonales (Bujak et al., 2018; Mochel et al., 2019).

En 2014 se llevó a cabo un estudio en donde un equipo transfectó linfocitos de perro con un CAR HER-2 humano, demostrando que el CAR humano es capaz de reconocer y matar líneas celulares de osteosarcoma canino HER-2 positivo *in vitro* (Addissie & Klingemann, 2018; Mata et al., 2014).

En 2016 se realizó un estudio en el cual se desarrolló una expansión de grandes cantidades de células T caninas de perros normales o con presencia de linfoma de células B recurrente. El método de electroporación de ARNm se utilizó para expresar un CAR específico para CD20 canino de primera generación, las células T resultantes exhibieron secreción de IFN γ específica de antígeno mediada por CAR y actividad citolítica.

Se administraron células T autólogas cCD20- ζ CAR a un perro con linfoma de células B, el tratamiento fue bien tolerado pero resultó en actividad antitumoral modesta y transitoria; lo que sugiere que la expresión de los linfocitos CAR estable será necesaria para las remisiones clínicas más duraderas. No se observaron

efectos adversos graves, salvo el desarrollo de fiebre la cual resolvió con fluidoterapia.

El éxito de esta terapia en tumores sólidos, ha sido limitada ya que la capacidad de los linfocitos CAR-T para penetrar tumores es limitada; así como su adecuado funcionamiento en un entorno inmunosupresor (Addissie & Klingemann, 2018; Panjwani et al., 2016).

Actualmente se está evaluando la distribución de nuevos objetivos asociados a tumores y una mayor manipulación genética de los linfocitos T para introducir quimiocinas, citocinas, receptores con mutación y genes suicidas para mejorar la seguridad, expansión y la funcionalidad de los linfocitos T en un entorno supresivo. Esta terapia en medicina veterinaria no está tan avanzada aún como en humanos, por lo tanto, la literatura sobre el tema aun es limitada.

4.9. Inmunoterapia con anticuerpos monoclonales y anticuerpos monoclonales conjugados

Los anticuerpos (Ac) también llamados inmunoglobulinas (Ig) son parte esencial de la respuesta inmunológica humoral de los vertebrados, a los cuales les brinda protección específica contra los microorganismos con los que un individuo ha estado en contacto a lo largo de su vida de manera natural o artificial.

Son producidos en las células plasmáticas y están presentes en el suero y en secreciones corporales como el calostro.

Estas inmunoglobulinas presentan características sobresalientes de defensa como:

- Neutralizar y eliminar microorganismos infecciosos y sus toxinas bloqueando la unión de estos a los receptores celulares.
- Bloquean la adherencia de virus y bacterias a sus células diana.
- Oponizan a los microorganismos y promueven su fagocitosis al unirse a los receptores para el Fc situados en los fagocitos.
- Fijan y activan el complemento.
- Son mediadores de la citotoxicidad celular (*ADCC Antibody-Dependent Cell-Mediated Cytotoxicity*).

- Eliminación de helmintos.

La especificidad de un anticuerpo se refiere a su capacidad para unirse a un epítipo en particular y depende de la estructura molecular del sitio de unión al antígeno (paratopo) (Abbas et al., 2018b; Wong Baeza & Serafín López, 2016).

4.9.1. Estructura de los anticuerpos

Rodney Porter y Gerald Edelman realizaron experimentos que permitieron por primera vez la determinación de la estructura de los anticuerpos.

Un anticuerpo monomérico es una glicoproteína formada por cuatro cadenas polipeptídicas: dos cadenas pesadas idénticas denominadas H (*Heavy*) y dos cadenas ligeras idénticas denominadas L (*Light*). Cada cadena L está unida a una cadena H mediante un enlace disulfuro (heterodímero H-L) y las dos cadenas H están unidas entre sí por el mismo tipo de enlace.

La posición y el número de enlaces dependen de la clase y subclase del anticuerpo.

Tanto la cadena H como la L están formadas por *dominios de inmunoglobulinas* que son la unidad estructural de múltiples ligandos, moléculas de adhesión, receptores y proteínas del sistema nervioso.

Algunas clases de anticuerpos presentan una región de bisagra que es rica en residuos de prolina que les proporciona flexibilidad.

Así mismo cuentan con dos fragmentos idénticos llamados Fab (*Fragment antigen-binding*) o fracción de unión al antígeno y un tercer fragmento denominado Fc (*fragment crystallizable*) o fracción cristalizable, que es responsable de la opsonización, fijación del complemento y ADCC del anticuerpo (Wong Baeza & Serafín López, 2016).

4.9.2. Regiones variables

Los residuos de aminoácidos que conforman el dominio en el extremo amino terminal de las cadenas H y L varían de manera considerable; esta variación está dada por el compromiso de reconocimiento antigénico denominado idiotipo.

La hipervariación en sitios específicos de las cadenas H y L produce la diversidad de los anticuerpos, es decir, la existencia en cada individuo de gran cantidad de anticuerpos con sitios de unión al antígeno estructuralmente distintos.

Tales regiones se conocen como dominios o regiones variables V_H y V_L , dentro de las cuales se han identificado tres regiones hipervariables o CDR (*Complementary Determining Regions*) o regiones determinantes de complementariedad, designadas CDR1, CDR2 y CDR3, en conjunto 6 CDR (tres de la región V_H y tres de la región V_L), que interactúan de manera simultánea en el reconocimiento antigénico para conformar el paratopo.

Las secuencias de aminoácidos forman parte del resto de los dominios de inmunoglobulinas presentando poca variabilidad, por lo que se conocen como dominios o regiones constantes C_H y C_L (Wong Baeza & Serafín López, 2016).

4.9.3. Regiones constantes

Las cadenas H están conformadas por cuatro o cinco dominios, de los cuales tres o cuatro son constantes. Esta cadena se divide en cinco clases:

1. mu (μ)
2. delta (δ)
3. gamma (γ)
4. epsilon (ϵ)
5. alfa (α)

Estas clases respectivamente corresponden a los anticuerpos IgM, IgD, IgG, IgE e IgA. Pequeñas diferencias en la secuencia de aminoácidos de las cadenas α y γ generaron una subclase.

En humanos hay dos subclases de IgA: IgA1 e IgA2 y 4 subclases de IgG: IgG1, IgG2, IgG3, e IgG4; estas clases y subclases se conocen como *isotipo*, de esta manera se diferencian no solo por su secuencia de aminoácidos sino también por presentar diferente comportamiento como antígeno.

Esto significa que si un anticuerpo de una especie es inoculado en otra, los epítopos de la región constante serán reconocidos como no propios e inducirán la producción de anticuerpos.

Las cadenas L están formadas por un par de dominios de inmunoglobulinas, uno de ellos es constante que contiene el carboxilo terminal y permite distinguir entre cadenas kappa (κ) y lambda (λ). Cada anticuerpo presenta cadenas L κ o λ y la presencia de una u otra no afecta su actividad biológica (Wong Baeza & Serafín López, 2016) (Figura 4.6).

Los anticuerpos o inmunoglobulinas son generados por las células plasmáticas, estas células plasmáticas se generan durante una respuesta inmune a partir de linfocitos B.

Los linfocitos B están divididos en dos tipos: B1 y B2.

Los linfocitos B1 producen células plasmáticas de vida corta las cuales producen los llamados anticuerpos “naturales”, que son de la clase IgM, IgA, e IgG3, los cuales reconocen antígenos microbianos y autoantígenos y por lo general se unen con baja afinidad a múltiples antígenos.

Los linfocitos B2 que producen células plasmáticas producen anticuerpos específicos de alta afinidad, algunas de estas células plasmáticas migran del bazo y los linfonodos a nichos más especializados en la médula ósea, lo que les confiere sobrevivir por un largo tiempo.

Los linfocitos B de memoria son activados por citocinas y productos microbianos o PAMP (activación policlonal), de un antígeno persistente como en infecciones crónicas, por una nueva exposición al antígeno como en las reinfecciones o en respuesta a otros antígenos (reacción cruzada) y dan lugar a nuevas células plasmáticas que reemplazan a las células plasmáticas senescentes o muertas.

La generación de nuevas células plasmáticas a partir de los linfocitos de memoria y la existencia de células plasmáticas de larga vida, permite mantener los títulos de anticuerpos en el suero en niveles constantes por tiempos prolongados (Wong Baeza & Serafín López, 2016).

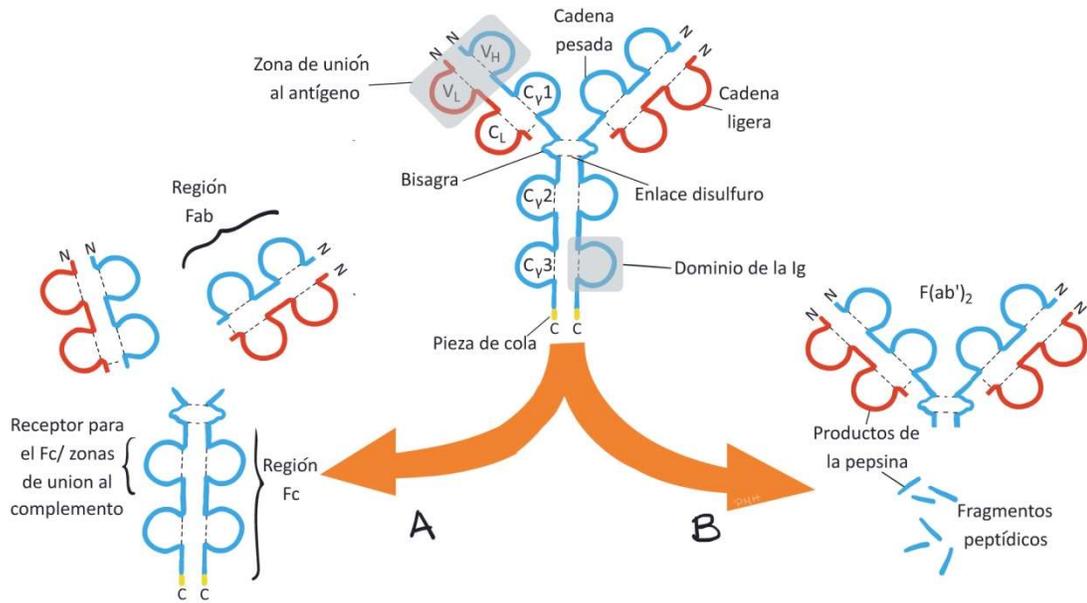


Figura 4.6. Estructura de una molécula de anticuerpo (Modificada de: (Abbas et al., 2018b).

4.9.4. Anticuerpos monoclonales (MAbs)

Son anticuerpos producidos por un clon determinado, son homogéneos, son capaces de reconocer epítopos individuales y pueden producirse prácticamente en cantidades ilimitadas; es decir, es un anticuerpo con una especificidad definida. Estos anticuerpos reconocen antígenos sobreexpresados (aunque no siempre) en determinados tipos de tumor, bloquean la interacción tumor-estroma o son capaces de promover una respuesta inmunitaria antitumoral (Compte Grau et al., 2015; Wong Baeza & Serafín López, 2016).

La técnica del hibridoma representa uno de los avances tecnológicos más importantes en el área biomédica, ésta permitió que se estudiara con gran detalle la estructura molecular de las inmunoglobulinas y la obtención de imágenes precisas de interacción de los CDR con múltiples antígenos. Resulta de la fusión de un linfocito B procedente del bazo de un ratón inmunizado con el antígeno de interés, con una célula de mieloma de ratón que permite al hibridoma la capacidad de dividirse indefinidamente. Además, probaron que es posible aislar líneas

híbridas que producen diferentes anticuerpos dirigidos contra el mismo antígeno y que presentan diferentes funciones efectoras (Compte Grau et al., 2015; Milstein & Köhler, 1975; Wong Baeza & Serafín López, 2016).

Los primeros anticuerpos monoclonales eran inmunoglobulinas (Ig) de ratón, por lo que presentaron importantes limitaciones a causa de su origen no humano, estas limitaciones eran una corta vida media sérica, ineficiente reclutamiento de funciones efectoras y la presencia de respuesta inmunitaria del paciente frente a los anticuerpos. De esta manera los pacientes tratados con esta nueva tecnología desarrollaron anticuerpos frente a la inmunoglobulina murina, con la consecuente pérdida de la respuesta al tratamiento y en ciertos casos reacción inmunitaria sistémica severa (Compte Grau et al., 2015; Wong Baeza & Serafín López, 2016).

4.9.5. Quimerización y humanización de anticuerpos monoclonales murinos

Las limitaciones mencionadas anteriormente comenzaron a resolverse mediante ingeniería de anticuerpos (Ac). Por lo que se creó un anticuerpo monoclonal quimérico que es una molécula artificial, cuyas regiones variables que son las encargadas del reconocimiento antigénico proceden de un anticuerpo monoclonal murino y sus regiones constantes provienen de una Ig humana. Estos pueden mediar funciones efectoras de manera más eficiente, son capaces de reconocer de forma específica la diana reconocida por un anticuerpo monoclonal murino original y son mejor tolerados. A pesar de esto, aún son capaces de generar respuesta de anticuerpo anti-Ig quimérico, debido al reconocimiento de epítopos murinos (Compte Grau et al., 2015; Jones et al., 1986).

Por ello se intentó desarrollar versiones humanizadas.

4.9.6 Generación de anticuerpos monoclonales humanos

La técnica de despliegue en fagos (phage display) permite generar bibliotecas de todo el repertorio de regiones variables de anticuerpos de un animal y la técnica permite la obtención de anticuerpos humanos con la especificidad deseada y con gran afinidad.

En los años 90s, se seleccionaron anticuerpos monoclonales tan relevantes como el nivolumab y el ipilimumab como tratamiento complementario para melanoma y otros tipos de canceres. Actualmente la mayoría de los anticuerpos monoclonales que se utilizan en terapia son humanizados o completamente humanos (Compte Grau et al., 2015; Wagner et al., 1994; Winter et al., 1994; Wong Baeza & Serafín López, 2016).

Evolución y sufijos de los anticuerpos monoclonales (Figura 4.7)

1. Anticuerpo múrido (omab)
2. Anticuerpo quimérico (ximab)
3. Anticuerpo humanizado (zumab)
4. Anticuerpo humano (umab)

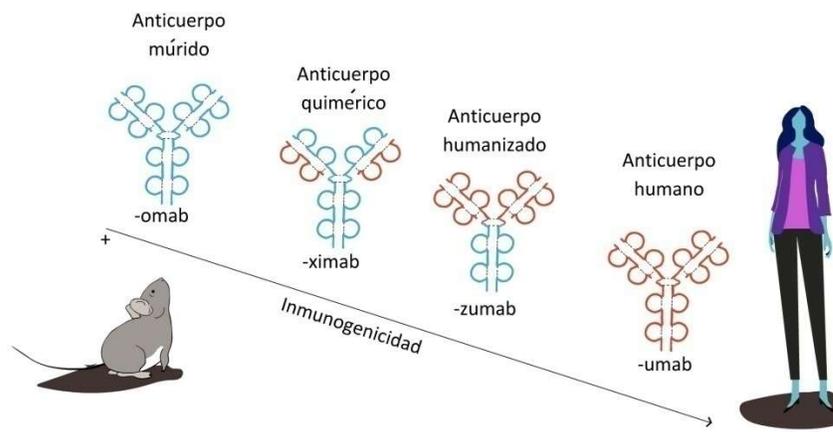


Figura 4.7. Evolución de los Anticuerpos monoclonales (Modificada de: Compte Grau et al., 2015).

4.9.7. Mecanismos de acción de los anticuerpos monoclonales dependientes de Fc

La citotoxicidad dependiente de complemento (CDC) y la activación de células del sistema inmune que expresan receptores para la región Fc, son funciones efectoras que dependen de que exista una interacción entre la región Fc y los

diferentes elementos celulares o humorales de la inmunidad innata (Compte Grau et al., 2015).

4.9.8. Mecanismos de acción de los anticuerpos monoclonales independientes de Fc

Algunos anticuerpos monoclonales cuentan con mecanismos de acción adicionales directamente relacionados con la naturaleza de la diana y su capacidad de activar o de interferir una determinada vía de señalización, como los anticuerpos que actúan frente a receptores de factores de crecimiento de la célula tumoral o de una célula endotelial o frente a receptores inmunomoduladores de linfocitos T, que inhiben la formación de nuevos vasos sanguíneos, la proliferación tumoral o la respuesta inmune adaptativa (Compte Grau et al., 2015).

Este tipo de anticuerpos no se unen al complemento ni a receptores Fc para así evitar respuesta inmune frente a las propias células efectoras.

Parte del efecto antitumoral de algunos anticuerpos es debido a la activación de un mecanismo de muerte celular directa independiente de caspasas como resultado del entrecruzamiento (cross-linking) de moléculas del antígeno diana en la superficie de la célula tumoral, lo que provoca que se inicie una cascada intracelular de señalización (Compte Grau et al., 2015).

4.9.9. Anticuerpos modificados para el desarrollo de nuevas funciones

Los anticuerpos monoclonales pueden unirse genéticamente o mediante conjugación química a gran variedad de moléculas que incluyen fármacos citotóxicos, radioisótopos, citocinas y toxinas; en cualquiera de estos casos se tiene como objetivo la acumulación selectiva en el tumor del agente terapéutico (Compte Grau et al., 2015).

Anticuerpos conjugados con fármaco

Los inhibidores de los microtúbulos como las tubulisinas, auristatinas y los maintansinoides son entre 100 y 1000 veces más potentes que los derivados de la vinca y los taxanos, pero debido a su toxicidad no se han podido administrar

sistémicamente. Sin embargo, la conjugación química de estos agentes con un anticuerpo monoclonal frente a un antígeno tumoral (ADC antibody-drug conjugate) es capaz de disminuir dicha toxicidad, al mismo tiempo que favorece la acumulación del fármaco en el tumor. Solo cuando el complejo es internalizado y procesado en la célula diana, el fármaco ejerce un efecto citotóxico.

El brentuximab vedotina es un anticuerpo anti CD30 conjugado a mono-metil auristatina E aprobado en 2011 por la FDA para el tratamiento de pacientes con Linfoma de Hodgkin refractario y de pacientes con linfoma anaplásico de células grandes en humanos (Beck et al., 2017; Compte Grau et al., 2015; Perez et al., 2014).

Anticuerpos radioinmunoconjugados

El efecto bystander consiste en la utilización de isótopos como iodo¹³¹ e itrio⁹⁰ que emiten partículas β que alcanzan una distancia de varios cuerpos celulares, con lo cual se obtiene un efecto citotóxico sobre las células vecinas. Este fenómeno es muy útil cuando el tumor es muy grande, cuando está poco vascularizado o cuando parte de las células han perdido la expresión del antígeno reconocido por el anticuerpo monoclonal.

El uso actual de este tipo de anticuerpos en medicina veterinaria está limitado a su uso en modalidades de diagnóstico por imagen en lugar de ser utilizado como tratamiento contra el cáncer (Compte Grau et al., 2015; Dow & Guth, 2020; Steiner & Neri, 2011).

Anticuerpos biespecíficos (BsAbs)

Los anticuerpos biespecíficos son moléculas artificiales que cuentan con dos sitios de unión al antígeno con especificidades diferentes que suelen reconocer un antígeno expresado en la célula tumoral y una molécula estimuladora en una célula efectora del sistema inmune.

Existen cuatro áreas de enfoque para desarrollar BsAbs en oncología:

1. Inhibición de dos receptores de la superficie celular.
2. Bloqueo de dos ligandos.
3. Entrecruzamiento de dos receptores.

4. Reclutamiento de células T que usualmente no portan un receptor Fc y por tanto no son activados por anticuerpos.

Mediante ingeniería genética se han generado BsAbs recombinantes denominados BiTE (bispecific T cell engager) mediante la fusión directa, a nivel génico, de dos sitios de unión al antígeno con formato scFv con especificidad frente a un antígeno tumoral y frente a la molécula activadora CD3 expresada en las células T.

TrAbs (TrioMabs, que consta de dos segmentos variables para la unión de antígenos diferentes y una región Fc) y BiTEs son formatos avanzados de BsAbs que actualmente están a la vanguardia en ensayos clínicos oncológicos.

El blinatumomab es el primer anticuerpo biespecífico recombinante aprobado en 2014 por la FDA para el tratamiento de pacientes con leucemia linfoblástica aguda negativa para el cromosoma Filadelfia recidivante o refractaria en humanos (Compte Grau et al., 2015; Krishnamurthy & Jimeno, 2018).

4.9.10. Anticuerpos monoclonales antitumorales

Según la localización de sus dianas pueden dividirse en tres grupos:

1. Anticuerpos frente a moléculas expresadas por la célula tumoral.
2. Anticuerpos monoclonales frente a factores de crecimiento.
3. Anticuerpos monoclonales inmunoestimuladores.

Anticuerpos frente a moléculas expresadas por la célula tumoral

Dirigidos principalmente frente a CD19, CD20 y CD30.

Los anti-CD20 constituyen el grupo más numeroso, con cuatro anticuerpos que reconocen tres epítomos diferentes.

Rituximab fue el primer anticuerpo aprobado en 1997 por la FDA como tratamiento en combinación con quimioterapia para pacientes con linfomas B y la ausencia de efectos adversos severos ha permitido a muchos pacientes humanos retrasar tratamientos con mayor morbimortalidad como la quimioterapia y el trasplante de precursores hematopoyéticos, aumentando así su tasa de respuesta en combinación con quimioterapia (Compte Grau et al., 2015; Singh et al., 2018).

Anticuerpos monoclonales frente a factores de crecimiento.

Los receptores de crecimiento que se encuentran sobreexpresados o que presentan mutaciones le da la capacidad a la célula de activarse de manera constitutiva en diferentes tipos de carcinomas y en el glioblastoma proporcionando a cada célula tumoral una señal proliferativa, angiogénica y antiapoptótica. Los anticuerpos se unen específicamente en las células e inhiben competitivamente la unión de ligandos, factores de crecimiento endotelial y vascular, inducen apoptosis e inhiben la producción de metaloproteínasa de matriz. Los factores más comunes son: EGF (factor de crecimiento epidermal), HER (receptor de factor de crecimiento epidermal humano), HER2+, PDGFR (receptor de factor de crecimiento derivado de plaquetas) y VEGF (factor de crecimiento vascular endotelial).

Cetuximab, trastuzumab, Olaratumab y Bevacizumab entre otros anticuerpos, son los que actualmente están aprobados por la FDA (Compte Grau et al., 2015; Singh et al., 2018).

Anticuerpos monoclonales inmunoestimuladores

Estos anticuerpos interactúan con receptores de células efectoras como los linfocitos T implicadas en el control de una respuesta inmunitaria, obteniendo como resultado una amplificación neta de la respuesta específica frente al tumor. Estos receptores pueden jugar un papel tanto de activadores como de inhibidores (moléculas de “coestímulo” o “coinhibición”) y los anticuerpos que están dirigidos para actuar frente a ellos son respectivamente agonistas (reproducen el efecto del ligando) o antagonistas (bloqueando la unión de este).

Las células efectoras genéticamente expresan tras su activación, receptores inhibidores que no permiten llevar a cabo una respuesta inmunitaria, limitando su duración y amplitud. Un ejemplo de este tipo de receptor es CTLA-4, los anticuerpos bloqueantes de este receptor impiden la unión de sus ligandos induciendo o reactivando la respuesta antitumoral. Otro importante receptor coestimulador inhibidor es PD-1 (muerte programada 1), el cual se encuentra en linfocitos T activados e inhibe la activación y proliferación de las mismas, así como la producción de citocinas uniéndose a sus ligandos PD-L1 y PD-L2 en el

microambiente tumoral durante la fase efectora de respuesta de los linfocitos T. Por lo que llevar a cabo el bloqueo de este receptor pretende ser más efectivo presentando menos efectos secundarios sistémicos que el CTLA-4.

Ipilimumab, Pembrolizumab y Nivolumab se han convertido en una terapia eficaz en pacientes con diferentes tipos de tumores incluyendo melanoma, cáncer de pulmón no microcítico, carcinoma renal y de vejiga (Compte Grau et al., 2015; Singh et al., 2018).

Actualmente se ha observado en perros la expresión de PD-L1 en varios tipos de cáncer como melanoma oral, osteosarcoma y hemangiosarcoma; sin embargo el potencial terapéutico de bloquear PD-1/PD-L1 aún no está completamente resuelto debido a la falta de anticuerpos terapéuticos contra estas moléculas que pueden ser usadas en experimentos clínicos caninos. Lo más relevante hasta el momento es el uso de un anticuerpo monoclonal murino que reconoce PD-L1 de canino. Este MAb murino debe ser quimerizado en su versión canina para disminuir la presencia de inmunogenicidad y tratar de hacerlo funcionar en el paciente canino (Maekawa et al., 2017).

Esto se ha podido llevar a cabo al convertir las regiones constantes del MAb murino a las de los anticuerpos en perros, por lo que una gran parte del MAb es ahora de origen canino, mientras que las regiones variables se mantienen intactas, manteniendo así las propiedades de unión del anticuerpo. Este MAb quimérico adquiere funciones como citotoxicidad mediada por células dependientes de anticuerpo y dependiente del complemento (Maekawa et al., 2017).

En este estudio que se llevó a cabo en 2017 se evaluó la eficacia clínica del MAb quimérico rata-perro c4G12 en perros con melanoma o sarcoma indiferenciado, que podría expresar PD-L1 como posible mecanismo de escape inmunológico.

En los resultados observaron una reducción de la carga tumoral y la prolongación de supervivencia en un caso con metástasis, sin evidencia de toxicidad sistémica, reacciones alérgicas ni enfermedad autoinmune durante el ensayo, solo se observó diarrea en un paciente que no necesitó intervención médica.

El ensayo resultó seguro y bien tolerado en los perros a pesar de la administración repetida. En particular el melanoma es altamente invasivo y metastásico por lo que se dificulta la curación completa del perro.

El uso de estos MAbs en medicina veterinaria actualmente es limitado a pesar de la realización de gran cantidad de ensayos clínicos (Dow & Guth, 2020; Maekawa et al., 2017).

En 2015 se llevó a cabo un estudio en donde se desarrolló una inmunocitocina IL-12 que tiene como diana las áreas necróticas del tumor. Este anticuerpo NHS-IL12 fue administrado en perros con melanoma oral, en los resultados observaron un aumento en los niveles sistémicos de IL-10 así como en IFN- γ .

NHS-IL12 es una proteína de fusión formada por dos heterodímeros de IL-12 combinados con la cadena H de un anticuerpo monoclonal NHS76, el cual se une a los complejos de ADN/histonas, de esta manera dirige a IL-12 a regiones del tumor que presentan necrosis donde el ADN está expuesto. Los modelos experimentales han demostrado que la vía de administración subcutánea es la más eficaz y segura.

En algunos de los perros se observó infiltración de linfocitos T CD8 + y algunas respuestas parciales (Dow & Guth, 2020; Paoloni et al., 2015).

El uso de MAbs en la actualidad ha mostrado un gran avance científico no solo en el tratamiento de pacientes con cáncer, también ha revolucionado en trasplante de órganos, en enfermedades infecciosas, autoinmunes, respiratorias y cardiovasculares. Con el pasar de los años su seguridad, eficacia, las reacciones de inmunogenicidad y su consecuente fracaso en el tratamiento han mejorado con ayuda de la ingeniería genética que ha permitido la creación de MAbs completamente humanos, aunque una limitante importante para su uso aún sigue siendo el costo de producción. Se espera que en un futuro se otorgue la aprobación al mercado de los biosimilares con lo que el costo original disminuirá y permitirá aumentar su accesibilidad y uso en una mayor cantidad de pacientes que hasta hace pocos años no contaban con una buena calidad de vida y mucho menos buen pronóstico. Por lo que este gran impulso terapéutico definitivamente puede ser una estrategia clave en la lucha contra el cáncer.

Actualmente se llevan a cabo muchos ensayos clínicos para comprobar su efecto en diferentes tumores tanto en humanos como en pacientes veterinarios.

4.10. Conclusión

El estudio de la oncología veterinaria comparada y sobre todo en la actualidad la inmunoterapia antitumoral, brinda gran oportunidad de realizar estudios traslacionales de nuevas terapias contra el cáncer tanto en humanos como en animales de compañía.

Los ensayos clínicos en pacientes veterinarios pueden facilitar la respuesta a preguntas sobre la modulación farmacodinámica, farmacocinética y mecanismos de acción de un medicamento, pero sobre todo estudios en perros pueden definir más específicamente respuestas sobre dosis tóxicas entre especies y la relación dosis-respuesta.

En el cuadro 4.2 se muestran los modelos/sistemas de inmunoterapia de uso común.

Cuadro 4.2. Modelos y sistemas de inmunoterapia de uso común (Modificada de: Park et al., 2016).

Especie	Ventajas	Desventajas
<p data-bbox="342 1178 537 1205">Modelo murino</p> 	<ul style="list-style-type: none"> <li data-bbox="651 1178 1068 1251">-Hábitat y ambiente fácil de controlar <li data-bbox="651 1268 1068 1341">-Se pueden controlar variables de pruebas experimentales <li data-bbox="651 1358 1068 1394">-Se pueden reproducir respuestas <li data-bbox="651 1411 1068 1524">-Disponibilidad de ingeniería genética de ratón (GEM) y ratones humanizados 	<ul style="list-style-type: none"> <li data-bbox="1101 1178 1430 1346">-Controlar el ambiente y el hábitat no es representativo de la situación presentada en pacientes <li data-bbox="1101 1362 1430 1436">-Opciones de tumores espontáneos limitada <li data-bbox="1101 1453 1430 1566">-La ingeniería y humanización de ratones son costosos <li data-bbox="1101 1583 1430 1709">-Xenoinjertos derivados del paciente son inmunocomprometidos
<p data-bbox="342 1776 537 1803">Modelo canino</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li data-bbox="651 1776 1068 1850">-Exposición al ambiente similar al del humano 	<ul style="list-style-type: none"> <li data-bbox="1101 1776 1430 1850">-Estandarización de tratamiento y variables difícil

	<ul style="list-style-type: none"> -Desarrollo espontáneo de tumores -Inmunocompetente -Genoma outbred y heterogéneo comparable con el humano 	<p>de controlar</p> <ul style="list-style-type: none"> -Variabilidad de razas -Reactivos estandarizados limitados -Biología tumoral y respuesta inmune heterogénea
<p>Modelo primate</p> 	<ul style="list-style-type: none"> -Genética muy similar al humano -Importante para estudios de mecanismos inmunes 	<ul style="list-style-type: none"> -No es un modelo tumoral -Costoso de albergar y criar y requieren asistencia médica especial -Aumenta la regulación ética -Reactivos estandarizados limitados
<p>Modelo humano</p> 	<ul style="list-style-type: none"> -Modelo de sistema de evaluación más representativo de heterogeneidad y complejidad en cáncer humano con un sistema inmune intacto 	<ul style="list-style-type: none"> -Requisitos estrictos para pruebas exhaustivas preclínicas de nuevos agentes en otros modelos antes de su uso en humanos -Gran variabilidad de tumores y respuestas inmunes -Obstáculos significativos en cuanto a tiempo y costos

El siguiente cuadro 4.3 se muestra las terapias aprobadas para su uso en medicina veterinaria en EUA.

Cuadro 4.3. Terapias aprobadas para su uso en medicina veterinaria en EEUU. Modificada de: (Mochel et al., 2019).

Nombre comercial	Nombre del compuesto	Compañía	Indicaciones	Estatus regulatorio USA (año)	Especie	Disponibilidad comercial
Blontress®	MAB linfoma canino de células B	Aratana	Linfoma canino de células B	USDA licencia (2015)	Canino	No
NA	Vacuna DNA linfoma canino	Merial/BI	Linfoma canino de células B	USDA licencia condicional (2015)	Canino	Si
NA	Vacuna osteosarcoma canino con vector vivo de listeria	Aratana	Osteosarcoma	USDA licencia condicional (2017)	Canino	Si
NA	Inmunomodulador de interleucina 2 felina	Merial/BI	Fibrosarcoma en estadio I	USDA licencia condicional (2015)	Felino	Si
Immunocidin®	Fracción de la pared celular de Mycobacteria	NovaVive	Tumores de glándula mamaria	USDA licencia (2009)	Canino	Si
Oncept®	Vacuna DNA melanoma canino	Merial/BI	Melanoma	USDA licencia (2010)	Canino	Si
Tactress®	MAB linfoma canino de células T	Aratana	Linfoma de células T	USDA licencia (2016)	Canino	No
Tanovea®-CA1	Inyección de Rabacfosadine	VetDC	Linfoma	FDA aprobación condicional (2017)	Canino	Si

Capítulo 5: Toxicidad y respuesta asociada a las inmunoterapias en humanos

“La ciencia, amigo mío, está hecha de errores, pero son errores que es útil cometer, porque poco a poco llevan a la verdad”.

Julio Verne

Como se ha mencionado en los capítulos anteriores la inmunoterapia oncológica, al contrario de la terapia convencional con quimioterapéuticos, tiene como principio el aprovechamiento del propio sistema inmune del paciente para generar mejor respuesta inmune frente a la presencia de células tumorales (Hernando-Meliá & Berrocal Jaime, 2015; Linette & Carreno, 2016).

Con el avance de la ciencia se ha hecho posible el descubrimiento de procesos fundamentales como el reconocimiento y eliminación de agentes patógenos por parte del sistema inmune, así como el modo en que puede modularse tanto el sistema inmune innato como el adaptativo para la eliminación de células neoplásicas y el desarrollo de múltiples inmunoterapias de uso clínico para mejorar y prolongar la calidad de vida de los pacientes oncológicos (Linette & Carreno, 2016).

La quimioterapia está dirigida principalmente a etapas de la proliferación celular como la formación del ADN y el huso de la mitosis. La vía de administración generalmente suele ser intravenosa de manera cíclica, causando efectos secundarios como náuseas, vómito, alopecia y mielosupresión que producen un malestar general en el paciente ya que se ven afectadas tanto células normales como células mutadas. Mientras que la inmunoterapia comprende la mejora, la supresión o la inducción del propio sistema inmune del paciente, elimina poblaciones de células tumorales de manera más específica, efectiva y con efectos adversos más leves pero que son capaces de inducir respuestas inflamatorias más severas, autoinmunidad y algunas complicaciones

potencialmente mortales si no son tratadas de inmediato (Hernando-Meliá & Berrocal Jaime, 2015; Kroschinsky et al., 2017).

La inmunoterapia puede ser administrada sola o en conjunto con quimioterapia, radioterapia u otros tratamientos. De esta manera se intenta obtener mejores resultados.

Los efectos secundarios son observados de manera distinta en cada paciente ya que dependerá del medicamento, la dosis, la frecuencia, tipo de cáncer y estado fisiológico en general. Así mismo pueden ocurrir durante y después del tratamiento; para más detalles se puede visitar la página: https://www.cancer.net/sites/cancer.net/files/asco_answers_immunotherapy_side_effects.pdf.

Estos efectos secundarios se denominan eventos adversos relacionados con el sistema inmunitario (irAE), son únicos y diferentes a los asociados a la quimioterapia citotóxica, la radioterapia o las terapias dirigidas en humanos (Leon Rapoport et al., 2017).

A continuación se mencionan las características de diferentes efectos adversos que se han reportado en medicina humana.

5.1. Efectos adversos inespecíficos

Suele presentarse mucositis y mielosupresión, por lo general leves (Kroschinsky et al., 2017).

5.2. Efectos adversos específicos

Estos efectos dependen del objetivo biológico de la terapia y la terapia en sí pero las complicaciones potencialmente mortales a menudo son causadas por inhibición de las vías angiogénicas, síndromes inflamatorios graves, trastornos autoinmunes o resultado de infecciones (Kroschinsky et al., 2017).

5.3. Síndrome de liberación de citocinas (CRS)

Es una reacción inflamatoria sistémica potencialmente mortal, se observa después de la administración de agentes dirigidos a diferentes efectores inmunes como los anticuerpos monoclonales (MAbs), anticuerpos biespecíficos (BsAbs), terapia

adoptiva con linfocitos T (CAR) y terapia con inhibidores de puntos de control como CTLA-4, PD-1 y PD-L1.

Los signos de CRS frecuentemente son fiebre, cefalea, malestar general, vómito, náuseas, mialgia, artralgia, erupción cutánea y rigor.

Pero el síndrome también puede presentar toxicidades respiratorias, cardíacas y neurológicas.

Los síntomas respiratorios que se presentan son: disnea, taquipnea e hipoxia, mientras que las complicaciones cardíacas son taquicardia, hipotensión y disfunción cardíaca de inicio rápido con niveles elevados de troponina, así como fuga vascular que se manifiesta como edema cerebral, pulmonar y periférico.

La toxicidad neurológica abarca desde confusión leve, cefalea, alucinaciones, somnolencia, convulsiones, parálisis de nervios craneales y hemiparesia.

También se han observado alteraciones en analitos sanguíneos como la creatinina.

El inicio de los signos dependerá de factores como agente activo y dosis, presentándose desde minutos hasta 14 días posterior a la administración, generalmente siendo la primera semana post-tratamiento y durante o después de la primera exposición al nuevo medicamento, siendo difícil la diferenciación contra la anafilaxia (Gödel et al., 2017; Kroschinsky et al., 2017).

Aún no se conoce la fisiopatología precisa pero se cree que es el resultado de la liberación masiva de citocinas a causa de la interacción entre células tumorales y células efectoras inmunes. Esta reacción en cadena induce activación excesiva de células inmunes como los macrófagos y diferentes poblaciones de linfocitos, que mediante la retroalimentación positiva producen mayor liberación de citocinas, (sobretudo IL-6) que resulta en respuesta inflamatoria exagerada.

Es muy difícil llegar al diagnóstico de CRS debido a la presencia de signos inespecíficos y debido a que comparte características con el síndrome de lisis tumoral y el síndrome de activación de macrófagos. Hasta no descartar infección se deberá considerar el uso de antibioticoterapia (Gödel et al., 2017).

El tratamiento de CRS es complicado debido a que se tiene que tener un balance entre la necesidad de terapia inmunosupresora para disminuir la reacción

inflamatoria mientras se busca mantener la actividad terapéutica de la inmunoterapia.

Tocilizumab ha sido aprobado por la FDA ya que ha mostrado efectividad clínica como tratamiento interruptor del proceso inflamatorio en CRS pero se recomienda utilizarse solo en pacientes críticos. Los corticosteroides deberán usarse solo en casos severos de intoxicación neurológica o en casos refractarios a Tocilizumab (Gödel et al., 2017; Kroschinsky et al., 2017).

5.3.1. Agentes causantes de CRS

- Rituximab
- Ofatumumab
- Obinutuzumab
- Cetuximab
- Trastuzumab
- Blinatumomab
- Linfocitos T CAR

5.4. Toxicidad asociada a inhibidores de puntos de control (checkpoints) CTLA-4, PD-1 y PD-2

Estos MAbs están actualmente registrados como anti PD-1 (Pembrolizumab y Nivolumab), anti PD-L1 (Atezolizumab) y anti CTLA-4 (Ipilimumab) entre otros. Son indicados para el tratamiento de pacientes con melanoma, carcinoma pulmonar (células pequeñas y no pequeñas), linfoma de Hodgkin y carcinoma de vejiga, respectivamente.

Se ha observado que la toxicidad asociada a inhibidores de la muerte celular programada (PD-1) y los inhibidores del ligando de la muerte celular programada (PD-L1) suelen ser menos graves que los relacionados con los inhibidores del antígeno 4 de linfocitos T citotóxicos (CTLA-4) (Leon Rapoport, 2019; Leon Rapoport et al., 2017).

Las moléculas CTLA-4 y PD-1 son puntos de control inmunes que se encuentran expresados en la superficie de células presentadoras de antígeno en fase de iniciación y en fase efectora del proceso de activación de linfocitos T. Estos puntos

de control tienen como función modular y desactivar los efectos de los linfocitos T, por lo que su inhibición permite llevar a cabo sobreexpresión del sistema inmune, este proceso es un mecanismo importante para la eliminación de células tumorales.

Los inhibidores de estos puntos de control son co-receptores expresados por las células T, los cuales regulan negativamente la activación de células T y juegan un papel muy importante en el mantenimiento de la auto-tolerancia periférica. Los ligandos del receptor co-inhibidor se expresan de manera significativa en una gran cantidad de tumores malignos que da como resultado permitirles evadir al sistema inmune en un ataque contra el cáncer (Leon Rapoport, 2019; Leon Rapoport et al., 2017).

En diferentes ensayos clínicos se ha observado que el tratamiento con anticuerpos que inhiben los puntos de control inmunitarios son mejor tolerados por una gran mayoría de pacientes y su toxicidad es menor en comparación con los fármacos quimioterapéuticos habituales. Pero se deberá tener particular precaución en pacientes con enfermedades autoinmunes preexistentes ya que la seguridad de su uso no está bien establecida (Leon Rapoport et al., 2017).

La toxicidad que se ha observado con el uso de estos tratamientos son:

- **Dermatológicas:** erupciones cutáneas, erupciones maculopapulares, prurito, dermatitis liquenoide, psoriasis y xerostomía.
- **Gastrointestinales:** hiposalivación, disfunción del gusto, mucositis, úlceras aftosas, gastritis, colitis, pancreatitis, dolor abdominal, diarrea, hematoquecia y moco en las heces.
- **Pulmonares:** neumonitis, taquipnea, hipoxia, disnea y tos.
- **Hepáticas:** hepatitis autoinmunitaria, elevación asintomática de alanina aminotransferasa (ALT), aspartato aminotransferasa (AST) y/o de bilirrubina.
- **Oftalmológicas:** uveítis, conjuntivitis, episcleritis proptosis, iridociclitis bilateral y neovascularización coroidea bilateral.
- **Endocrinas:** generalmente son síntomas inespecíficos como fatiga, cambios en el estado mental, cefalea, mareos, debilidad. Mientras que la

hipofisitis, hipotiroidismo, hipertiroidismo y la insuficiencia adrenal son las más comunes.

- **Neurológicas:** encefalopatía posterior reversible, neuropatía entérica, meningitis aséptica, mielitis transversa, síndrome de Guillain-Barré, polineuropatía desmielinizante y miastenia gravis.
- **Miscelaneas:** Fiebre y en un porcentaje menor o raro las toxicidades renales, cardíacas, hematológicas, síndrome de Stevens-Johnson, necrólisis epidérmica tóxica o necrosis cutánea, vitíligo, diabetes y falla multiorgánica.

Existe un patrón de aparición de los efectos adversos en donde se ha observado que la piel es el primer órgano afectado, generalmente desde la segunda o tercer semana de tratamiento, posteriormente se manifiestan los efectos gastrointestinales y hepáticos durante la sexta y séptima semana y por último aparecen las endocrinopatías que pueden ser reversibles o definitivas.

Se deberá considerar el grado de complicación y severidad de los efectos asociados que pueden ser causa de una morbilidad significativa o la interrupción temporal o permanente de la inmunoterapia y en ciertos casos el inicio de terapia inmunosupresora (Hernando-Meliá & Berrocal Jaime, 2015; Leon Rapoport, 2019; Leon Rapoport et al., 2017).

Se debe estar consciente que los irAE suelen ser generalmente controlables y de bajo grado; sin embargo los oncólogos deben tener presente la alta gama de toxicidades distintivas adicionales y efectos secundarios que pueden presentarse de forma impredecible y que pueden llegar a ser de una naturaleza severa, por lo que se sugiere la intervención temprana y monitoreo continuo de cada paciente para evitar la exacerbación de los signos.

La prevención o recomendaciones clínicas para el manejo de los irAE dependerán de la experiencia y de un consenso clínico general ya que aún son insuficientes los ensayos clínicos prospectivos para la evaluación de estrategias adecuadas.

De la misma manera la detección temprana y el manejo proactivo y direccional es fundamental para disminuir la morbilidad y mortalidad.

Aunque suene ilógico y controvertido existen informes que relacionan la presencia de irAEs con una mejora en la supervivencia en pacientes con neoplasias avanzadas o recurrentes tratados con inhibidores de puntos de control inmunitarios (Leon Rapoport, 2019).

5.5. Toxicidad asociada a inhibidores de la angiogénesis

La angiogénesis es una característica esencial para la proliferación de células malignas y el crecimiento tumoral. Por lo tanto, el desarrollo de inhibidores de angiogénesis ha sido un objetivo clave para la ciencia.

Uno de estos inhibidores es Bevacizumab, un MAb dirigido hacia el factor de crecimiento vascular endotelial (VEGF), utilizado en pacientes con cáncer colorrectal metastásico, carcinoma de glándula mamaria y carcinoma pulmonar (de células no pequeñas); actualmente existe otro como Ramucirumab que es eficaz en el tratamiento de pacientes con cáncer colorrectal avanzado y carcinoma gástrico (Kroschinsky et al., 2017).

Los efectos adversos que se han observado en pacientes tratados con Bevacizumab y Trastuzumab son:

- Complicaciones tromboembólicas arteriales
- Mortalidad vascular
- Hemorragia gastrointestinal letal
- Hemorragia pulmonar
- Perforación de tracto gastrointestinal
- Eventos cerebrovasculares
- Hipotensión
- Disminución de la fracción de eyección del ventrículo izquierdo
- Insuficiencia cardiaca congestiva

Aún son muy limitados y deben mejorarse los conocimientos sobre la fisiopatología de los nuevos eventos secundarios, su manejo diagnóstico, terapéutico y recomendaciones pertinentes, así como las estrategias para la identificación de los pacientes con mayor riesgo de presentar diferentes

complicaciones. Por lo que aún se necesita investigación clínica y preclínica adicional (Kroschinsky et al., 2017).

5.6. Toxicidad asociada a terapia adoptiva con linfocitos CAR-T

El receptor de antígeno quimérico de linfocitos T (CAR), son moléculas diseñadas para identificar una proteína expresada en células tumorales generando una potente función efectora.

Este tratamiento se lleva a cabo en pacientes con leucemia linfocítica crónica de células B, linfoma no Hodgkin de células B y mieloma múltiple.

Aunque es un tratamiento prometedor, es capaz de producir efectos adversos como el síndrome de liberación de citocinas (CRS) y neurotoxicidades.

El CRS generalmente ocurre entre los días dos y 14 postratamiento, rara vez ocurriendo después de las dos semanas, generalmente resolviendo en dos o tres semanas después del inicio del CRS. Se llega a presentar en más del 90% de los pacientes que reciben linfocitos T CAR.

Se caracteriza por presentar altos niveles de citocinas séricas, marcadores inflamatorios, generalmente IL-6 (secretada por células mieloides activadas, células endoteliales y del estroma), IFN γ , ferritina y proteína C reactiva. Entre otras citocinas elevadas se pueden encontrar TNF- α , IL-10 e IL-2R α .

Clínicamente los signos inespecíficos que se pueden observar son fiebre, mialgias, rigores, artralgias, anorexia, malestar general y síntomas similares a gripa los cuales pueden ser reversibles o progresar hasta llegar a la hipotensión, pérdida capilar, hipoxia y disfunción multiorgánica. Además, puede causar signos clínicos similares al síndrome de activación de macrófagos (MAS) (Acharya et al., 2019; Brudno & Kochenderfer, 2019).

5.7. Toxicidad asociada a CAR-T

Constitucional: fiebre, fatiga, malestar, dolor de cabeza.

Cardiovascular: taquicardia sinusal, hipotensión, fracción de eyección ventricular izquierda disminuida, arritmias, prolongación del segmento QT y troponinemia.

Respiratorio: hipoxia, disnea, aumento de la frecuencia respiratoria, insuficiencia respiratoria, derrame pleural y síndrome de fuga capilar.

Renal: aumento de la creatinina sérica, insuficiencia renal, hiponatremia, hipocalemia, hipofosfatemia y síndrome de lisis tumoral.

Hepático y gastrointestinal: aumento de transaminasas hepáticas como: aspartato aminotransferasa (AST), alanina aminotransferasa (ALT), fosfatasa alcalina o bilirrubina directa, náuseas, vómito y diarrea.

Hematológico: anemia, trombocitopenia, neutropenia, aplasia de células B, hipogammaglobulinemia, prolongación de tiempo parcial de tromboplastina (PTT) o tiempo de protombina (PT), disminución de fibrinogeno, coagulación intravascular diseminada (CID), linfocitosis hemofagocítica.

Inmunológico: riesgo de infección viral, bacteriana y fungal.

Musculoesquelético: elevación de creatina fosfoquinasa (CPK) y mialgias.

Neurológico: delirio, encefalopatía, somnolencia, trastornos cognitivos, disfasias, temores, ataxia, mioclonos, defectos sensoriales, convulsiones y edema cerebral (Brudno & Kochenderfer, 2019).

Los pacientes con casos graves de CRS presentan mayor riesgo de presentar neurotoxicidad en donde se ha observado coagulación intravascular diseminada, fuga capilar y aumento en la permeabilidad de la barrera hematoencefálica (Acharya et al., 2019).

Existen factores de riesgo que se han asociado a la presencia de toxicidad por tratamiento con linfocitos T CAR. Estos factores se observan cuando existe una alta carga de enfermedad antes del tratamiento, ya que pacientes con mayor carga tumoral mostraron un aumento en las concentraciones séricas de IL-6 e IFN γ en comparación con pacientes con enfermedad residual mínima o indetectable. Así mismo, otros factores no menos importantes incluyen el tipo de tumor, trombocitopenia antes de la linfodepleción, grado de expansión de los linfocitos T-CAR, linfodepleción combinada con ciclofosfamida y fludarabina con dosis mayores del producto celular infundido y a dosis de administraciones únicas más elevadas en comparación con dosis fraccionadas. Por último, el riesgo también puede estar influenciado por la presencia e identidad del componente coestimulador adjunto a la construcción del CAR, debido a observaciones en las que CAR de segunda generación con dominios coestimuladores CD28 ha

mostrado tasas más altas de CRS que otros CAR de segunda generación; sin embargo, se debe considerar la comparación de estudios ya que cada uno difiere en sus criterios de inclusión/exclusión y en las estrategias de manejo del paciente según los diferentes sistemas de clasificación (Acharya et al., 2019; Brudno & Kochenderfer, 2019).

5.7.1. Clasificación de efectos adversos

En Estados Unidos de Norteamérica el Instituto Nacional de Cáncer desarrolló una terminología para describir los efectos adversos (The National Cancer Institute Common Terminology Criterial For Adverse Events) (CTCAE). Dentro de esta terminología no se ha descrito por completo el CRS asociado a linfocitos T-CAR por lo que se han utilizado otros sistemas de clasificación para describir las toxicidades en ensayos en lo que se utilizan linfocitos T-CAR. Las principales escalas utilizadas son: criterios Lee, escala Penn y criterios CARTOX CRS. Sin embargo, las grandes diferencias entre escalas provocan que las comparaciones de toxicidades entre ensayos clínicos sean complicadas (Acharya et al., 2019; Brudno & Kochenderfer, 2019).

La neurotoxicidad rara vez ocurre de manera independiente de CRS, se han encontrado poblaciones altas de linfocitos T-CAR y niveles altos de IL-6 en líquido cefalorraquídeo (LCR) en pacientes con neurotoxicidad asociado a disfunción vascular, así como un aumento en las concentraciones séricas de angiopoyetina-2 (ANG2), relación ANG2/angiopoyetina-1 y factor de Von Willebrand (vWF). Por lo que se sugiere que la activación de células endoteliales desempeña un papel muy importante en la inducción de neurotoxicidad (Acharya et al., 2019).

Los factores de riesgo son los mismos que están asociados a CRS, sin embargo se ha identificado la presencia de comorbilidades neurológicas preexistentes.

Los signos y síntomas clínicos pueden ser leves o graves siendo reportada la toxicidad clínica hasta en 50% de los casos. Se pueden presentar desde una afasia leve, confusión, delirio, somnolencia o cefalea, hasta afasia receptiva y expresiva, debilidad motora, alucinaciones, convulsiones, edema cerebral y muerte (Acharya et al., 2019; Brudno & Kochenderfer, 2019).

El manejo de CRS se lleva a cabo mediante la administración de un anticuerpo monoclonal humanizado llamado Tocilizumab, el cual inhibe de manera competitiva la capacidad de IL-6 de unirse a su receptor y bloquear la vía de señalización responsable de inducir respuestas inflamatorias después de la administración de linfocitos T-CAR y generalmente es bien tolerado. Su único inconveniente es su incapacidad para penetrar la barrera hematoencefálica por lo que es ineficaz bloqueando efectos por aumento de IL-6 en el sistema nervioso central (SNC).

También se han utilizado corticosteroides como parte fundamental del tratamiento para CRS, sin embargo, su efecto suele ser más tardado y existe la posibilidad de que su potencial linfotóxico pueda llegar a comprometer la eficacia del tratamiento con linfocitos T-CAR.

Otro anticuerpo utilizado es Siltuximab, antagonista alternativo de IL-6 aprobado por la FDA que ejerce sus efectos directamente sobre IL-6, facilitando su eliminación, siendo eficaz en CRS sistémico de alto grado, aunque aún es tema de investigación (Acharya et al., 2019).

El cuadro 5.1 muestra un ejemplo del sistema de clasificación de CRS en terapia con CAR-T en humanos.

Cuadro 5.1. Sistemas de clasificación CRS en terapia con CAR-T (Modificado de: Acharya et al., 2019).

CLASIFICACION	GRADO	TOXICIDAD
CTCAV v5.0	1	-Fiebre con o sin síntomas
	2	-Hipotensión que responde a terapia de líquidos -Hipoxia que responde a <40% de O2
	3	-Hipotensión -Hipoxia que requiere ≥40% de O2
	4	-Consecuencias potencialmente mortales -Está indicada una intervención urgente

	5	-Muerte
Lee Scale	1	-Reacción leve que no requiere de interrupción de la infusión
	2	-Está indicada la interrupción de la infusión pero responde rápidamente al tratamiento sintomático -Medicamentos profilácticos están indicados ≤ de 24 horas
	3	Cualquiera de los siguientes signos graves: -Caída de la presión arterial 20% o más de la basal que no responde a terapia de líquidos -Disfunción respiratoria grado 3 -Creatitina grado 3 indicativo de falla renal -Disfunción neurológica grado 3
	4	-Consecuencias potencialmente mortales, está indicado soporte ventilatorio mecánico o un vasopresor
Penn Scale	1	-Reacciones leves que solo requieren de antieméticos o antipiréticos
	2	-Reacciones moderadas que requieren de terapia de líquidos o nutrición parenteral -Signos de falla orgánica -Hospitalización para el tratamiento de síntomas relacionados con CRS incluida fiebre y neutropenia
	3	Reacciones graves como: -Hospitalización requerida para el manejo de síntomas de falla orgánica -Hipotensión que requiere de terapia de líquidos o bajas dosis de vasopresores
	4	-Coagulopatía

	5	-Hipoxia que requiere suplementación de O2 -Complicaciones potencialmente mortales -Hipotensión que requiere vasopresores a dosis altas -Hipoxia que requiere ventilación mecánica -Muerte
CARTOX	1	-Fiebre y/o toxicidad orgánica grado 1
	2	-Hipotensión que responde a terapia de líquidos o dosis bajas de vasopresores o FiO2 <40% o toxicidad orgánica grado 2
	3	-Hipotensión que requiere altas dosis o múltiples vasopresores o FiO2 >40% o toxicidad orgánica grado 3 o transaminitis grado 4
	4	-Hipotensión potencialmente mortal o insuficiencia respiratoria que requiera asistencia respiratoria o toxicidad orgánica grado 4 excepto transaminitis grado 4

El manejo de la neurotoxicidad debe iniciar con la prevención mediante la identificación e intervención temprana de consecuencias potencialmente mortales. Para los pacientes que presentan características clínicas de neurotoxicidad se debe considerar la posibilidad de realizar un examen neurológico exhaustivo, resonancia magnética cerebral, electroencefalograma (EEG), punción lumbar y evaluación de LCR para eliminar causas metabólicas o infecciosas.

En casos específicos puede utilizarse anticonvulsivos de manera preventiva como levetiracetam; los corticoesteroides y el Tocilizumab al igual que en CRS son buena opción terapéutica. En casos severos de edema cerebral la transferencia a la unidad de cuidados intensivos para el manejo adecuado es esencial.

La terapia con linfocitos T-CAR es cada vez más utilizada en la terapéutica humana por lo que las posibles toxicidades asociadas con la activación exacerbada del sistema inmune y un buen manejo plantean un gran desafío para la ciencia. Siendo su objetivo principal mitigar las complicaciones potencialmente

mortales mientras se conservan los efectos antineoplásicos máximos (Acharya et al., 2019).

5.8. Toxicidad asociada a inmunoterapia con citocinas

El uso de este tratamiento mediante la administración de citocinas exógenas puede producir la activación de diversas cascadas de citocinas mediadoras de la inflamación, de DCs y linfocitos T específicos de tumor.

Las toxicidades mejor conocidas son las relacionadas a IFN- α 2b y a IL-2.

La IL-2 se ha utilizado en pacientes con carcinoma renal avanzado y melanoma, entre otros; sin embargo su uso se ve muy limitado por causar gran producción de citocinas tóxicas proinflamatorias como TNF y IFN γ que actúan sobre las células del endotelio vascular causando el síndrome de permeabilidad capilar.

Este síndrome se manifiesta con edema periférico, edema pulmonar, derrames serosos e hipovolemia, resultando en oliguria, alteraciones renales, isquemia cerebral y miocárdica. También se han observado alteraciones cutáneas, hematológicas, hepáticas, hipotiroidismo, hipertiroidismo, náuseas, vómito, diarrea y complicaciones infecciosas (Abbas et al., 2018f; Hernando-Meliá & Berrocal Jaime, 2015).

El IFN- α se ha utilizado en pacientes con melanoma, linfoma, leucemia y sarcoma de Kaposi. Las toxicidades que se han observado son frecuentemente de forma aguda y son: fiebre, náuseas, vómito, mialgia, fatiga, mielosupresión, trastornos neuropsiquiátricos y alteraciones en enzimas hepáticas, así como signos asociados a una gripe presentándose poco tiempo después de su administración, con una duración de 4 a 8 horas. El 98% de los pacientes ha presentado este tipo de efecto.

El manejo de los efectos adversos asociados a ambas interleucinas (IL-2 e IL-6) se lleva a cabo mediante la reducción de la dosis, la suspensión temporal o definitiva del tratamiento con el fármaco y el tratamiento correspondiente para el control de los síntomas (Abbas et al., 2018f; Hernando-Meliá & Berrocal Jaime, 2015).

5.9. Respuesta, sobrevida y calidad de vida asociada a la inmunoterapia

Value in Health (ViH) es la publicación principal de la Sociedad Internacional de Farmacoeconomía e Investigación de Resultados (ISPOR) y el objetivo principal de esta revista es publicar las mejores aplicaciones de farmacoeconomía e investigación de resultados. Estos han presentado grandes cambios a lo largo de 20 años (1998-2018) y un área muy importante que ha evolucionado significativamente ha sido la oncología, en donde las opciones de tratamiento han cambiado, desde las quimioterapias inespecíficas hasta la terapia dirigida y más recientemente la inmuno-oncología.

El tratamiento oncológico con quimioterapéuticos constituyó un importante avance hasta el inicio de este siglo, pero los efectos adversos observados a células sanas condujeron a toxicidades severas. El impacto de esto hizo evaluar los riesgos y beneficios que podrían conllevar sobre la calidad de vida.

Actualmente se han desarrollado fármacos que inhiben la inmunosupresión inducida por células tumorales permitiendo así que el propio sistema inmune del hospedero sea capaz de generar una adecuada respuesta inmune frente a estas células malignas.

Esta sociedad de investigación se dio a la tarea de revisar estudios que contuvieran datos acerca de la sobrevida y calidad de vida de pacientes con ciertos tipos de cáncer en un lapso de 20 años y se dio cuenta que esta evaluación no existía como tal, sino que se plasmó solo durante el tiempo que duraron los ensayos clínicos por lo que decidieron investigar los años de vida ganados después del tratamiento, encontrando muchos desafíos ante esta duda debido a esto destacaron la necesidad de crear un diseño de estudio riguroso para nuevos instrumentos e interpretación en el campo de calidad de vida relacionada con salud.

Esto mostró que existen múltiples factores que influyen en la evaluación de cada paciente, principalmente el manejo de los diversos tipos de tumores y que se presentan diferencias significativas en función de bienestar entre pacientes (Kim et al., 2019).

Las implicaciones financieras también son un punto muy importante, ya que se tienen datos que informan que el costo del primer mes en un paciente con cáncer de pulmón es de aproximadamente 10 mil dólares por mes durante los primeros 6 meses y de 2 mil dólares los meses subsecuentes. Esto es una limitante de gran peso que se tiene que considerar (Kim et al., 2019).

La evaluación clínica de la terapéutica contra el cáncer es muy útil en los ensayos clínicos e incluye dos criterios de valoración muy importantes: observar la reducción del tumor (respuesta objetiva) y observar la progresión de la enfermedad.

RECIST (Response Evaluation Criteria in Solid Tumors), es una herramienta estándar enfocada a evaluar la respuesta al tratamiento y el curso de la enfermedad en tumores sólidos en humanos (Eisenhauer et al., 2009). El uso de estos criterios minimiza la variabilidad en la evaluación del tumor y permite la comparación de los resultados a lo largo del tiempo. Sin embargo, han surgido muchas preguntas y problemas tras la introducción del tratamiento con inmunoterapias, por este motivo estos criterios se han modificado en una versión 1.1 (Eisenhauer et al., 2009).

RECIST 1.1. incluye cinco categorías de respuesta:

1. Respuesta completa (RC): resolución completa de todas las lesiones diana no ganglionares y la normalización de todas las lesiones ganglionares diana.
2. Respuesta parcial (RP): reducción de la suma de los diámetros de las lesiones diana de al menos el 30% con respecto a la situación basal.
3. Progresión de la enfermedad (PE): cuando la suma de los diámetros de las lesiones diana aumenta un 20% y se produce un incremento absoluto de al menos 5mm; la aparición de nuevas lesiones corresponden a esta categoría.
4. Enfermedad estable (EE): no cumple ninguno de los criterios mencionados.
5. No evaluable (NE): cuando la suma de las lesiones diana no puede calcularse a causa de factores tales como la calidad de la imagen, la

administración de una terapia focal o local, o a la presencia de lesiones poco definidas (Eisenhauer et al., 2009).

Los aspectos principales a evaluar que incluye RECIST 1.1. son:

1. Número de lesiones a evaluar: máximo de cinco lesiones en total y no seleccionar más de dos por órgano, considerando los órganos pares y los linfonodos como un órgano.
2. Evaluación de los linfonodos patológicos: linfonodos que miden menos de 10mm en su eje corto se consideran normales y entre 10 y 14mm se consideran anormales pero no medibles y linfonodos mayores a 15mm se consideran medibles y evaluables como lesiones diana.
3. Progresión de la enfermedad: aumento del 20% de la suma del diámetro de las lesiones, aumento absoluto de al menos 5mm y cuando el total de la suma es muy pequeña.
4. Guía de imágenes: evaluación anatómica óptima de lesiones mediante tomografía computarizada (TC) con medio de contraste o mediante resonancia magnética (RM) sin contraste, no se recomienda el uso de PET-CT (tomografía computarizada por emisión de positrones) y por último puede ser aceptable una radiografía de tórax simple si la lesión en cuestión tiene al menos un tamaño de 20mm y se localiza dentro de un campo pulmonar ventilado (Eisenhauer et al., 2009).

Comparando el tratamiento con quimioterapia estándar y la inmunoterapia contra el cáncer, esta última puede ocasionar varios patrones de respuesta atípicos; uno de estos patrones atípicos es que puede producirse un retraso en la respuesta, durante el cual la activación y proliferación de células inmunitarias provoquen un periodo prolongado que puede ir de semanas a meses de inflamación antes de que se observe un efecto clínico medible y otro patrón es una aparente progresión radiológica de las lesiones existentes, seguido por la regresión del tumor, lo que se le conoce como “seudoprogresión” (Pennock et al., 2012). Esta afluencia de células inflamatorias da lugar a un aumento de la masa tumoral, que puede parecer como una progresión de la enfermedad en las imágenes, pero que en realidad refleja una respuesta positiva al tratamiento. Con estas observaciones, se

ha definido el desarrollo de nuevos criterios RECIST relacionados con la inmunidad (irRC). Estos criterios definen el desarrollo de la lesión, su medición y su valoración, además de una confirmación del tiempo de tratamiento en términos de respuesta vistos cuando se emplean *checkpoints* como ipilimumab (Pennock et al., 2012).

Por desgracia este tipo de herramientas de evaluación bien desarrolladas en medicina veterinaria no están bien estandarizadas, pero un grupo de oncólogos veterinarios en USA ha utilizado RECIST 1.1. como marco para establecer procedimientos estándar de la evaluación de respuesta en tumores sólidos caninos (cRECIST 1.0) (S. M. Nguyen et al., 2015).

A continuación se describen algunos ensayos clínicos realizados en medicina veterinaria en donde se menciona el tiempo de sobrevida con la utilización de nuevos tratamientos inmunoterapéuticos.

La inmunoterapia con L-MTP-PE ha sido evaluada en varios estudios en veterinaria y el beneficio en la sobrevida de los pacientes se ha observado en perros con osteosarcoma apendicular (OSA) en donde estos recibieron L-MTP-PE después de realizarles amputación observando una media de sobrevida de 222 días comparado con 77 días en aquellos pacientes que recibieron placebo. También se ha administrado L-MTP-PE a perros con OSA después de tratamiento con quimioterapia con cisplatino y se observó una sobrevida de 14.4 meses con desarrollo de metástasis en 73% de los pacientes comparado con 9.8 meses y el desarrollo de metástasis en 93% en aquellos que solo recibieron cisplatino (Dow & Guth, 2020; Kurzman et al., 1995).

También se ha utilizado en pacientes con hemangiosarcoma (HSA) y se observó que pacientes que recibieron L-MTP-PE en combinación con quimioterapia (doxorubicina más ciclofosfamida) después de realizar esplenectomía tuvieron una sobrevida de nueve meses comparado con los 5.7 meses en pacientes que solo recibieron quimioterapia (doxorubicina más ciclofosfamida). La mediana de supervivencia libre de enfermedad en general fue de 149 días y la mediana de supervivencia global fue de 163 días (Dow & Guth, 2020; Vail et al., 1995).

Por último, en un estudio se observó en 80% de los pacientes con melanoma oral una sobrevida mayor a dos años en aquellos a los cuales después de la cirugía recibieron L-MTP-PE pero que no presentaban enfermedad avanzada comparado con aquellos que recibieron L-MTP-PE solo o en combinación con factor estimulante de la colonia de granulocitos macrófagos (rcGM-CSF) y con enfermedad avanzada en donde no se observó ningún beneficio clínico (Dow & Guth, 2020; MacEwen et al., 1999).

El uso intravenoso de CLDCs (cationic lipid-DNA complexes) que codifica IL-2 canina ha sido utilizado en perros con metástasis pulmonares de osteosarcoma siendo bien tolerada a dosis bajas y provocando una regresión parcial o completa de las metástasis. Ya que fue un estudio de fase I para observar la seguridad y toxicidad del agente, no se incluyó un grupo control con placebo comparando resultados solo con datos históricos de perros emparejados con el estudio. Encontrando así que los pacientes con datos históricos no tratados tuvieron una mediana de sobrevida de 81 días comparado con los pacientes tratados que fue de 228 días (Dow et al., 2005; Dow & Guth, 2020).

Otro estudio utilizó CLDCs que contenía ADN de endostatina canina o ADN que codifica un gen de luciferasa en perros con sarcoma de tejidos blandos encontrando que ocho de los pacientes mantuvieron la enfermedad estable durante el ensayo, dos tuvieron respuestas objetivas, uno con regresión parcial y el otro con regresión completa pero lo más sobresaliente fue que en 12 de los 13 pacientes del estudio se observó mediante biopsia una disminución significativa en la microvasculatura tumoral, lo que sugiere que esta terapia puede ayudar a inhibir la angiogénesis tumoral.

Esta terapia tiene gran potencial en veterinaria utilizándose sola o en combinación con otras terapias antitumorales (Dow & Guth, 2020; Kamstock et al., 2006).

Los virus oncolíticos son virus capaces de replicar y lisar células tumorales, con lo que se han convertido en candidatos efectivos para la probable administración de fármacos y genes contra tumores.

El virus de Newcastle fue utilizado en un estudio preclínico en 2015 como alternativa terapéutica en el linfoma B de células grandes en humano y en perros

encontrando resultados prometedores, sin embargo es necesaria la realización de estudios posteriores para continuar con su investigación (Dow & Guth, 2020; Sánchez et al., 2015).

En 2017 se ha estudiado y utilizado el virus de la estomatitis vesicular (VSV) que replica ARN de la familia Rhabdoviridae con tropismo natural para las células malignas.

Se ha utilizado en perros con diferentes tipos de tumor de aparición espontánea como linfoma, osteosarcoma, mieloma, melanoma cutáneo y adenocarcinoma anal en donde se han observado respuestas como estabilidad de la enfermedad, en un perro con osteosarcoma una sobrevida de seis meses, en dos perros con linfoma de células T disminución de hasta 60% del tamaño de los linfonodos con una remisión transitoria de 36 días antes de la recaída y un perro que después de 45 días de la administración intravenosa del virus se le pudo realizar resección quirúrgica de adenocarcinoma anal (Dow & Guth, 2020; Naik et al., 2018).

Estos estudios han demostrado que gran cantidad de ensayos inmunoterapéuticos están siendo desarrollados con éxito pero aún falta experiencia con modelos específicos para comprobar su eficacia y seguridad en cada uno de ellos.

5.10. Inmunoterapias autorizadas por la FDA (Food and Drug Administration) y USDA (United States Department of Agriculture) en perros y gatos

Las terapias mencionadas a continuación son las que actualmente están autorizadas por la FDA y USDA con posibilidad de encontrarse disponibles en el mercado para su utilización en perros y gatos.

- ✓ **Vacuna contra osteosarcoma canino, vector vivo de *Listeria*. (AT-014 Aratana Therapeutics)**

Es un liofilizado de *Listeria* recombinante, viva modificada y atenuada que expresa HER-2/neu + y tiene como función conforme a lo reportado con activar linfocitos T citotóxicos.

Fue aprobada por la USDA en 2017 y es administrada vía intravenosa en perros con osteosarcoma apendicular, tres dosis cada tres semanas con refuerzo cada seis meses. Este ensayo se realizó en aquellos pacientes que previamente fueron sometidos a amputación y quimioterapia con carboplatino sin evidencia de metástasis.

En donde obtuvieron como resultado un intervalo libre de enfermedad de 615 días y una mediana de tiempo de supervivencia de 956 días, comparada con el grupo de control histórico que solo fue tratado con cirugía y quimioterapia. Observando efectos adversos como náuseas, diarrea, vómito, letargo y fiebre.

Concluyendo en una reducción en la incidencia de enfermedad metastásica y prolongando la supervivencia general en perros.

Solo se encuentra disponible en EEUU (Philip J. Bergman, 2019; Johannes, 2019; Mason et al., 2016; Mochel et al., 2019).

✓ **Vacuna contra linfoma canino ADN de células B (Merial/Boehringer Ingelheim)**

Es una vacuna ADN contra CD20 murino xenogénico para perros con linfoma de células B.

Fue aprobada en 2015 por la USDA para pacientes que previamente fueron tratados con un protocolo quimioterapéutico CHOP (Ciclofosfamida, doxorubicina, vincristina y prednisona) y presentaron remisión favorable.

En 2014 se inició un ensayo multicéntrico internacional aleatorizado de seguridad controlada y eficacia en perros con linfoma B de células grandes en donde se administraron cuatro dosis con intervalos de dos semanas y el cual actualmente está pendiente la publicación de los resultados.

En 2016 se inició otro estudio aleatorizado multicéntrico en perros con linfoma de células B grandes concurrente con quimioterapia CHOP. Actualmente se está evaluando la respuesta humoral del anticuerpo CD20, los resultados actualmente aún no están publicados (Johannes, 2019).

✓ **Vacuna inmunomoduladora felina de IL-2 (Merial/Boehringer Ingelheim)**

Es una vacuna con un canaripox virus recombinante de la viruela del canario (ALVAC) que expresa IL-2 felina.

Fue aprobada por la Agencia Europea de Medicamentos en 2013 Oncept IL-2 (Merial) y por la USDA en 2015 como tratamiento adyuvante a la cirugía con el objetivo de retrasar la aparición de recidivas quirúrgicas de fibrosarcoma en gatos.

En 2014 se realizó un ensayo clínico aleatorizado, monocéntrico, controlado de grupo paralelo en donde se evaluó la eficacia y seguridad del virus recombinante de viruela del canario expresando IL-2 en donde se administraron seis dosis consecutivas por vía subcutánea intratumoral los días 0, 7, 14, 21, 35 y 49 en donde obtuvieron como resultados un promedio de tiempo previo a la recaída de más de 730 días en comparación con el grupo de control que fue de 287 días (Philip J. Bergman, 2019; Jas et al., 2015; Johannes, 2019).

En 2015 inició un nuevo ensayo aleatorio controlado y multicéntrico para evaluar nuevamente la eficacia y seguridad de la vacuna como complemento de la resección quirúrgica de fibrosarcoma primario en 75 gatos. Actualmente los resultados no se han publicado (Johannes, 2019).

✓ **Blontress®/Aratana (Anticuerpo monoclonal anti CD-20)**

El rituximab (Anticuerpo monoclonal anti CD-20) ha revolucionado el tratamiento contra el linfoma de linfocitos B en humanos, ya que aumentó el tiempo de supervivencia comparado con el uso de quimioterapia sola en humanos. Sin embargo, rituximab no se une al CD-20 de perros por lo que actualmente no puede usarse en pacientes veterinarios (Philip J. Bergman, 2019; Elliott, 2017; Johannes, 2019; Mochel et al., 2019).

✓ **Tactress®/Aratana (Anticuerpo monoclonal anti CD-52)**

Algunos linfomas de linfocitos T humano expresan la proteína de membrana CD-52 el cual puede ser diana del anticuerpo monoclonal anti CD-52 alemtuzumab. Esto ha permitido tener éxito en ciertos tratamientos de

pacientes con distintos tipos de linfoma de células T. Sin embargo, aún no se tiene un objetivo identificado en linfomas de perros, por lo que actualmente no está en uso en pacientes veterinarios (Philip J. Bergman, 2019; Elliott, 2017; Johannes, 2019; Mochel et al., 2019).

✓ **Tanovea®-CA1 (Rabacfosadine, VetDC) (primer nombre GS-9219, después VDC-1101)**

Es un análogo del nucleótido 9 (2-fosfonilmetoxetil) guanina (PMEG).

Fue aprobado por la FDA en 2017 administrado como infusión intravenosa de 30 minutos para el tratamiento de linfoma multicéntrico en perros, linfoma cutáneo de linfocitos T en perros, linfoma multicéntrico en perros sin tratamiento previo, mieloma múltiple espontáneo en perros y linfoma recidivante de linfocitos B en perros, actuando a nivel de ADN polimerasa, demostrando actividad antiproliferativa y proapoptótica en líneas celulares neoplásicas de perros. En resultados generales se observó un 77% de respuesta (45% remisión completa y 32% remisión parcial).

Este producto es una buena opción para los propietarios que opten por un tratamiento de un solo agente con lo que se evita las visitas continuas que requiere el protocolo CHOP con multiagentes convencionales. También es potencialmente usado como segunda o tercera línea de tratamiento después de los protocolos con multiagentes (De Clercq, 2018; Johannes, 2019; Mochel et al., 2019). Para más detalles se puede visitar la página: <http://vet-dc.com/news/vetdc-receives-fda-conditional-approval-tanovea-ca1-first-new-animal-drug-treating-lymphoma-dogs/>

✓ **Immunocidin®**

Es una fracción de la pared celular de *Mycobacterium* (MCWF) con ácido nucleico bacteriano (ADN y ARN) que ha demostrado desencadenar apoptosis de las células tumorales.

Fue aprobada por la USDA en 2009 y se ha utilizado en administraciones intravenosas en perros con linfoma, metástasis pulmonares y carcinoma de glándula mamaria. En donde se observó que el tiempo promedio de supervivencia fue de 1.1 a 39.8 meses, para más detalles se puede visitar la

página <https://novavive.ca/article/immunocidin-demonstrates-an-acceptable-safety-profile-following-intravenous-administration-in-dogs-and-cats-with-various-malignancies>.

Este tipo de inmunoterapia también se ha utilizado en perros con carcinoma de células transicionales y hemangiosarcoma (Filion et al., 2017; Withers et al., 2019)

✓ **Oncept® (Merial)**

Es una vacuna autóloga diseñada a partir de varios tipos de tumores resecados combinada con adyuvante de partículas de matriz extracelular de la submucosa del intestino delgado de porcinos (SISECM).

Está autorizada por la USDA desde el 2010 para el tratamiento de melanoma oral en perros.

En Reino unido se llevó a cabo un estudio en 2017 con el objetivo de evaluar la supervivencia de los pacientes sometidos al tratamiento con la vacuna en donde observaron una mediana de supervivencia de 445 días en pacientes de estadio I y III y de 288 días en pacientes con estadio IV. Concluyendo que la vacuna podría considerarse un tratamiento paliativo aun en pacientes con enfermedad avanzada (Philip J. Bergman, 2019; Klingemann, 2018; Verganti et al., 2017).

5.11. Comparación de la respuesta a la inmunoterapia contra otras terapias oncológicas convencionales

La inmunoterapia y el conocimiento de la inmunología asociada a tumores es un campo de la medicina tanto humana como veterinaria que en la actualidad está siendo cada vez más estudiada.

Es poco probable que la inmunoterapia del cáncer se convierta en única modalidad de tratamiento, ya que se ha observado que funciona mejor de forma adyuvante o en combinación con las otras modalidades como la cirugía, la quimioterapia y la radioterapia cuando el entorno de enfermedad residual es mínimo.

La epidemiología del cáncer en perros y gatos proviene de número limitado de registros de tumores de países en donde existe un porcentaje de pacientes asegurados y muy pocas publicaciones están disponibles para mostrar el porcentaje de pacientes diagnosticados con cáncer y posteriormente tratados como lo hacen en EEUU. Esto causa que la evaluación de la demanda potencial en el mercado de la terapéutica oncológica veterinaria sea extremadamente desafiante. Por esta razón la mayoría de los tratamientos para perros y gatos dependen del uso de quimioterapia genérica humana (Mochel et al., 2019).

El alto costo del tratamiento con linfocitos T-CAR en humanos actualmente es de 475 mil pesos mexicanos para tisagenlecleucel y 373 mil pesos mexicanos para axicabtagene ciloleucel sin incluir costos de hospitalización, lo que plantea una limitante importante en la accesibilidad de esta terapia para su uso en medicina veterinaria (Mochel et al., 2019).

Sin embargo, el uso complementario de la inmunoterapia se está llevando a cabo con mayor frecuencia gracias a los múltiples ensayos clínicos para diferentes tipos tumorales en diferentes especies, ya que es un área de gran oportunidad en la inmunooncología, presentando resultados prometedores para los pacientes veterinarios que han mostrado una adecuada respuesta y mejora de la sobrevida cuando es usada sola o en combinación con las terapias habituales.

5.12. Conclusión

Para lograr el objetivo terapéutico de las variantes de inmunoterapia contra el cáncer, es esencial crear herramientas de evaluación de toxicidad unificadas, obtener parámetros bioquímicos confiables y algoritmos de tratamiento; sin embargo, la heterogeneidad de los estados de enfermedad tratados y las variaciones inmunológicas de cada individuo provocan que un enfoque estandarizado para el manejo sea en este momento muy difícil.

A pesar de esto, la inmunoterapia está ocupando un lugar importante en el ámbito de la oncología en pacientes que cuentan con opciones de rescate limitadas.

La terapia específica en veterinaria como los inhibidores de puntos de control y la terapia adoptiva con linfocitos T-CAR actualmente se encuentran en la vista de varias compañías relacionadas con salud animal a pesar de su difícil fabricación y el elevado costo de producción. En un futuro se espera tener la posibilidad de llevar a cabo su uso adecuado en pacientes veterinarios (Philip J. Bergman, 2019). *The American Society of Clinical Oncology* nombró a la inmunoterapia del cáncer como “el avance del año” en 2016 (Bujak et al., 2018).

Desafortunadamente los resultados favorables o desfavorables que se observan en modelos murinos criados en laboratorios frecuentemente no representan verdaderamente muchas de las características constitutivas del cáncer en humanos, perros y gatos. En contraste con los animales domésticos que comparten un mismo hábitat y son expuestos a los mismos agentes carcinogénicos ambientales que los humanos. También a diferencia de estos modelos de laboratorio, los tumores en perros y gatos se desarrollan de manera espontánea, es decir, sin manipulación genética. Los tumores en perros por lo general suelen tener características similares a los humanos como la genética, la aparición histológica, anomalías citogenéticas, respuesta terapéutica y resistencia adquirida. Los ensayos que se hacen con un objetivo traslacional son de gran ayuda para la ciencia en general, sin embargo para obtener resultados específicos de especie se necesita la realización de numerosos ensayos clínicos que a causa de varios factores como pueden ser sociales, éticos y económicos en ocasiones es complicado llevar a cabo (Mochel et al., 2019).

Espero con gran ímpetu que la inmunoterapia oncológica en pacientes veterinarios algún día llegue a desempeñar un papel tan importante como en medicina humana, tanto en la prevención como en el tratamiento del cáncer en nuestros pacientes no humanos.

REFERENCIAS

Abbas, A. K., Lichtman, A. H., & Pillai, S. (2015). Propiedades y generalidades de las respuestas inmunitarias. In *Inmunología celular y molecular* (8a ed., pp. 1–12). Elsevier Inc.

Abbas, A. K., Lichtman, A. H., & Pillai, S. (2018a). Activación de linfocitos T. In *Inmunología celular y molecular* (9th ed., pp. 209–224). Elsevier Inc.

Abbas, A. K., Lichtman, A. H., & Pillai, S. (2018b). Anticuerpos y antígenos. In *Inmunología celular y molecular* (9th ed., pp. 97–116). Elsevier Inc.

Abbas, A. K., Lichtman, A. H., & Pillai, S. (2018c). Apéndice I: Citocinas. In *Inmunología celular y molecular* (9th ed., pp. 519–522). Elsevier Inc.

Abbas, A. K., Lichtman, A. H., & Pillai, S. (2018d). Diferenciación y funciones de los linfocitos T efectores CD4+. In *Inmunología celular y molecular* (9th ed., pp. 225–250). Elsevier Inc.

Abbas, A. K., Lichtman, A. H., & Pillai, S. (2018e). Diferenciación y funciones de los linfocitos T efectores CD8+. In *Inmunología celular y molecular* (9th ed., pp. 243–250). Elsevier Inc.

Abbas, A. K., Lichtman, A. H., & Pillai, S. (2018f). Inmunidad antitumoral. In *Inmunología celular y molecular* (9th ed., pp. 397–416). Elsevier Inc.

Abbas, A. K., Lichtman, A. H., & Pillai, S. (2018g). Inmunidad innata. In *Inmunología celular y molecular* (9th ed., pp. 57–95). Elsevier Inc.

Abbas, A. K., Lichtman, A. H., & Pillai, S. (2018h). Presentación del antígeno a los linfocitos T y funciones de las moléculas del complejo principal de histocompatibilidad. In *Inmunología celular y molecular* (9th ed., pp. 117–144). Elsevier Inc.

Abbas, A. K., Lichtman, A. H., & Pillai, S. (2018i). Propiedades y generalidades de las respuestas inmunitarias. In *Inmunología celular y molecular* (9a ed., pp. 1–12).

Elsevier Ltd.

Abbas, A. K., Lichtman, A. H., & Pillai, S. (2018j). Tolerancia inmunitaria y autoinmunidad. In *Inmunología celular y molecular* (9th ed., pp. 325–350). Elsevier Inc.

Abbas, A. K., & Walker, L. S. K. (2017). Activation of CD4+ T lymphocytes. In *Cancer immunotherapy principles and practice* (1st ed., pp. 87–94). Demos Medical.

Acharya, U. H., Dhawale, T., Yun, S., Jacobson, C. A., Chavez, J. C., Ramos, J. D., Appelbaum, J., & Maloney, D. G. (2019). Management of cytokine release syndrome and neurotoxicity in chimeric antigen receptor (CAR) T cell therapy. *Expert Review of Hematology*, 12(3), 195–205. <https://doi.org/10.1080/17474086.2019.1585238>

Addissie, S., & Klingemann, H. (2018). Cellular immunotherapy of canine cancer. *Veterinary Sciences*, 5(4). <https://doi.org/10.3390/vetsci5040100>

Alberts, B., Johnson, A., Lewis, J., Morgan, D., Raff, M., Roberts, K., & Walter, P. (2015a). Cáncer. In *Biología Molecular de la Célula* (6th ed., pp. 1097–1150). OMEGA.

Alberts, B., Johnson, A., Lewis, J., Morgan, D., Raff, M., Roberts, K., & Walter, P. (2015b). El ciclo celular. In *Biología Molecular de la Célula* (6th ed., pp. 969–1026). OMEGA.

Alberts, B., Johnson, A., Lewis, J., Morgan, D., Raff, M., Roberts, K., & Walter, P. (2015c). Muerte celular. In *Biología Molecular de la Célula* (6th ed., pp. 1027–1040). OMEGA.

Alexander, A. N., Huelsmeyer, M. K., Mitzey, A., Dubielzig, R. R., Kurzman, I. D., MacEwen, E. G., & Vail, D. M. (2006). Development of an allogeneic whole-cell tumor vaccine expressing xenogeneic gp100 and its implementation in a phase II clinical trial in canine patients with malignant melanoma. *Cancer Immunology*,

Immunotherapy, 55(4), 433–442. <https://doi.org/10.1007/s00262-005-0025-6>

Anel, A., Melero, I., Pardo, J., & Martínez-Lostao, L. (2015). Inmunoterapia del cáncer. Introducción. In *Inmunoterapia del cáncer: Realidades y perspectivas* (1st ed., pp. 1–8). Elsevier Inc.

Argyle, D. J., Khanna, C., & Giancristofaro, N. (2020). Tumor Biology and Metastasis. In *Withrow, S. (ed) Small Animal Clinical Oncology* (6th ed., pp. 36–60). Elsevier Inc.

Barrera, L., Borbolla Escoboza, J. R., & Arrieta Rodríguez, O. G. (2016). Inmunoterapia del cáncer. In *Tratamiento del cáncer. Oncología médica, quirúrgica y radioterapia* (1st ed., pp. 185–199). Manual Moderno.

Beck, A., Goetsch, L., Dumontet, C., & Corvaia, N. (2017). Strategies and challenges for the next generation of antibody-drug conjugates. *Nature Reviews Drug Discovery*, 16(5), 315–337. <https://doi.org/10.1038/nrd.2016.268>

Bergman, P. J., Camps-Palau, M. A., McKnight, J. A., Leibman, N. F., Craft, D. M., Leung, C., Liao, J., Riviere, I., Sadelain, M., Hohenhaus, A. E., Gregor, P., Houghton, A. N., Perales, M. A., & Wolchok, J. D. (2006). Development of a xenogeneic DNA vaccine program for canine malignant melanoma at the Animal Medical Center. *Vaccine*, 24(21), 4582–4585. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2005.08.027>

Bergman, Philip J. (2017). Veterinary Oncology Immunotherapies. *Veterinary Clinics of North America - Small Animal Practice*, 48(2), 257–277. <https://doi.org/10.1016/j.cvsm.2017.10.004>

Bergman, Philip J. (2019). Cancer Immunotherapies. *Veterinary Clinics of North America - Small Animal Practice*, 49(5), 881–902. <https://doi.org/10.1016/j.cvsm.2019.04.010>

Bernal, M., Ruiz-Cabello, F., & Garrido, F. (2015). Respuesta inmunitaria frente al cáncer y mecanismos de escape tumoral. In *Inmunoterapia del cáncer: Realidades*

y *perspectivas* (1st ed., pp. 9–20). Elsevier Inc.

Billir, B. J. (2007). Cancer Immunotherapy for the Veterinary Patient. *Veterinary Clinics of North America - Small Animal Practice*, 37(6), 1137–1149. <https://doi.org/10.1016/j.cvsm.2007.07.001>

Bird, R. C., DeInnocentes, P., Church Bird, A. E., Van Ginkel, F. W., Lindquist, J., & Smith, B. F. (2011). An autologous dendritic cell canine mammary tumor hybrid-cell fusion vaccine. *Cancer Immunology, Immunotherapy*, 60(1), 87–97. <https://doi.org/10.1007/s00262-010-0921-2>

Borja, G. M., Ramírez, O. T., & Lara, A. R. (2013). Vacunas de ADN Plasmídico : Una herramienta terapéutica emergente. *BioTecnología*, 17(3), 87–109.

Breivik, J. (2005). The evolutionary origin of genetic instability in cancer development. *Seminars in Cancer Biology*, 15(1), 51–60. <https://doi.org/10.1016/j.semcancer.2004.09.008>

Brudno, J. N., & Kochenderfer, J. N. (2019). Recent advances in CAR T-cell toxicity: Mechanisms, manifestations and management. *Blood Reviews*, 34(xxxx), 45–55. <https://doi.org/10.1016/j.blre.2018.11.002>

Bujak, J. K., Pingwara, R., Nelson, M. H., & Majchrzak, K. (2018). Adoptive cell transfer: New perspective treatment in veterinary oncology. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 60(1), 1–13. <https://doi.org/10.1186/s13028-018-0414-4>

Cabezón, R., Flores, G., España, C., & Benítez-Ribas, D. (2015). Inmunoterapia basada en vacunas antitumorales y células dendríticas. In *Inmunoterapia del cáncer: Realidades y perspectivas* (1st ed., pp. 33–38). Elsevier Inc.

Cairns, R. A., Tannock, I. F., & Wouters, B. (2013). Tumor Growth, Microenvironmental and Metabolism. In *The Basic Science of Oncology* (5th ed., pp. 528–575). Mc Graw Hill Education.

Cemazar, M., Ambrozic Avgustin, J., Pavlin, D., Sersa, G., Poli, A., Krhac Levacic, A., Tesic, N., Lamprecht Tratar, U., Rak, M., & Tozon, N. (2017). Efficacy and safety

of electrochemotherapy combined with peritumoral IL-12 gene electrotransfer of canine mast cell tumours. *Veterinary and Comparative Oncology*, 15(2), 641–654. <https://doi.org/10.1111/vco.12208>

Cemazar, Maja, Jarm, T., & Sersa, G. (2010). Cancer Electrogene Therapy with Interleukin-12. *Current Gene Therapy*, 10(4), 300–311. <https://doi.org/10.2174/156652310791823425>

Chastain, E. C., & Pfeifer, J. D. (2016). Biología del cáncer: principios básicos de la oncogénesis molecular. In *Manual Washington de Oncología* (3th ed., pp. 1–10). Wolters Kluwer.

Chávez Sánchez, F. R., Rivera Jiménez, J., & Bottasso Lazareschi, O. (2016). Respuesta inmunológica innata. In *Inmunología molecular, celular y traslacional* (1st ed., pp. 72–85). Wolters Kluwer.

Chou, P. C., Chuang, T. F., Jan, T. R., Gion, H. C., Huang, Y. C., Lei, H. J., Chen, W. Y., & Chu, R. M. (2009). Effects of immunotherapy of IL-6 and IL-15 plasmids on transmissible venereal tumor in beagles. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 130(1–2), 25–34. <https://doi.org/10.1016/j.vetimm.2009.01.002>

Cicchelero, L., Denies, S., Haers, H., Vanderperren, K., Stock, E., Van Brantegem, L., de Rooster, H., & Sanders, N. N. (2017). Intratumoural interleukin 12 gene therapy stimulates the immune system and decreases angiogenesis in dogs with spontaneous cancer. *Veterinary and Comparative Oncology*, 15(4), 1187–1205. <https://doi.org/10.1111/vco.12255>

Clifford, C. A., Mackin, A. J., & Henry, C. J. (2000). Treatment of canine hemangiosarcoma: 2000 and beyond. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 14(5), 479–485. <https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.2000.tb02262.x>

Compte Grau, M., Ribas, A., & Sanz Alcober, L. (2015). Anticuerpos monoclonales: realidades y perspectivas en el tratamiento del cáncer. In *Inmunoterapia del cáncer: Realidades y perspectivas* (1st ed., pp. 21–32). Elsevier Inc.

Crusz, S. M., & Balkwill, F. R. (2015). Inflammation and cancer: Advances and new agents. *Nature Reviews Clinical Oncology*, 12(10), 584–596. <https://doi.org/10.1038/nrclinonc.2015.105>

Cullen, J. M., & Breen, M. (2017). An Overview of Molecular Cancer Pathogenesis, Prognosis and Diagnosis. In *Tumors in Domestic Animals* (5th ed., pp. 1–26). Wiley Blackwell.

Cutrera, J., Torrero, M., Shiomitsu, K., Mauldin, N., & Li, S. (2008). Intratumoral bleomycin and IL-12 electrochemogenetherapy for treating head and neck tumors in dogs. *Methods in Molecular Biology (Clifton, N.J.)*, 423(9), 319–325. https://doi.org/10.1007/978-1-59745-194-9_24

De Clercq, E. (2018). Tanovea® for the treatment of lymphoma in dogs. *Biochemical Pharmacology*, 154(May), 265–269. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2018.05.010>

De la Peña, C., & Loyola, V. M. (2017). Genética y epigenética: la importancia del “epi.” In *De la genética a la epigenética* (1st ed., pp. 168–172). Fondo de Cultura Económica.

De Maria, A., Moretta, L., Pietra, G., & Vitale, M. (2017). Natural killer cell effector mechanisms against solid tumors and leukemias and their exploitation in immunotherapy. In *Cancer immunotherapy principles and practice* (1st ed., pp. 147–171). Demos Medical.

Del Castillo Magán, N., & Ruano Barneda, R. (2017). Tratamiento oncológico. In *Manual de oncología para veterinarios clínicos. Cómo enfrentarse al paciente oncológico* (1st ed., pp. 116–146). SERVET.

Den Otter, W., Hack, M., Jacobs, J. J. L., Tan, J. F. V., Rozendaal, L., & Van Moorselaar, R. J. A. (2015a). Effective treatment of transmissible venereal tumors in dogs with vincristine and IL-2. *Anticancer Research*, 35(6), 3385–3391.

Den Otter, W., Hack, M., Jacobs, J. J. L., Tan, J. F. V., Rozendaal, L., & Van

Moorselaar, R. J. A. (2015b). Treatment of transmissible venereal tumors in dogs with intratumoral interleukin-2 (IL-2). A pilot study. *Anticancer Research*, 35(2), 713–717.

Dong, H. (2018). The basic concepts in cancer immunology and immunotherapy. In *The Basics of Cancer Immunotherapy* (1st ed., pp. 1–20). Springer.

Dow, S., Elmslie, R., Kurzman, I., MacEwen, G., Pericle, F., & Liggitt, D. (2005). Phase I study of liposome-DNA complexes encoding the interleukin-2 gene in dogs with osteosarcoma lung metastases. *Human Gene Therapy*, 16(8), 937–946. <https://doi.org/10.1089/hum.2005.16.937>

Dow, S., & Guth, A. (2020). Cancer Immunotherapy. In *Withrow, S. (ed) Small Animal Clinical Oncology* (6th ed., pp. 231–250). Elsevier Inc.

Dunn, G. P., Bruce, A. T., Ikeda, H., Old, L. J., & Schreiber, R. D. (2002). Cancer immunoediting: From immunosurveillance to tumor escape. *Nature Immunology*, 3(11), 991–998. <https://doi.org/10.1038/ni1102-991>

Dunn, G. P., Old, L. J., & Schreiber, R. D. (2004). The immunobiology of cancer immunosurveillance and immunoediting. *Immunity*, 21(2), 137–148. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2004.07.017>

Easwaran, H., Tsai, H. C., & Baylin, S. B. (2014). Cancer Epigenetics: Tumor Heterogeneity, Plasticity of Stem-like States, and Drug Resistance. *Molecular Cell*, 54(5), 716–727. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2014.05.015>

Eisenhauer, E. A., Therasse, P., Bogaerts, J., Schwartz, L. H., Sargent, D., Ford, R., Dancey, J., Arbuck, S., Gwyther, S., Mooney, M., Rubinstein, L., Shankar, L., Dodd, L., Kaplan, R., Lacombe, D., & Verweij, J. (2009). New response evaluation criteria in solid tumours: Revised RECIST guideline (version 1.1). *European Journal of Cancer*, 45(2), 228–247. <https://doi.org/10.1016/j.ejca.2008.10.026>

Elliott, J. (2017). New drug therapies for treating cancer in dogs and cats. *In Practice*, 39(1), 2–9. <https://doi.org/10.1136/inp.j55>

Estrada Parra, S., Chacón Salinas, R., & Estrada García, I. (2016). Historia de la inmunología. In *Inmunología molecular, celular y traslacional* (1st ed., pp. 4–17). Wolters Kluwer.

Fidler, I. J. (2003). The pathogenesis of cancer metastasis: the “seed and soil” hypothesis revisited. *Nature Reviews Cancer*, 3, 453–458. <https://doi.org/10.1111/j.1937-5956.1995.tb00040.x>

Filion, M. C., Rodrigues, L., Johannes, C., & Masic, A. (2017). The in vitro and in vivo anti-cancer potential of mycobacterium cell wall fraction (MCWF) against canine transitional cell carcinoma of the urinary bladder. *Acta Veterinaria*, 67(4), 477–494. <https://doi.org/10.1515/acve-2017-0039>

Gajewski, T. F. (2017). Introduction to principles of cancer immunotherapy. In *Cancer immunotherapy principles and practice* (1st ed., pp. 231–236). Demos Medical.

Gallardo, L. (2013). Síndromes de predisposición para cáncer hereditario y consejo genético. In *Manual de oncología. Procedimientos médico quirúrgicos* (5th ed., pp. 1150–1158). Mc Graw Hill.

García Carrancá, A. (2013). Oncogenes y genes supresores de tumores. In *Manual de oncología. Procedimientos médico quirúrgicos* (5th ed., pp. 26–35). Mc Graw Hill.

Garrido, F., Algarra, I., & García-Lora, A. M. (2010). The escape of cancer from T lymphocytes: Immunoselection of MHC class I loss variants harboring structural-irreversible “hard” lesions. *Cancer Immunology, Immunotherapy*, 59(10), 1601–1606. <https://doi.org/10.1007/s00262-010-0893-2>

Gattinoni, L., Finkelstein, S. E., Klebanoff, C. A., Antony, P. A., Palmer, D. C., Spiess, P. J., Hwang, L. N., Yu, Z., Wrzesinski, C., Heimann, D. M., Surh, C. D., Rosenberg, S. A., & Restifo, N. P. (2005). Removal of homeostatic cytokine sinks by lymphodepletion enhances the efficacy of adoptively transferred tumor-specific CD8+ T cells. *Journal of Experimental Medicine*, 202(7), 907–912.

<https://doi.org/10.1084/jem.20050732>

Gavazza, A., Lubas, G., Fridman, A., Peruzzi, D., Impellizeri, J. A., Luberto, L., Marra, E., Roscilli, G., Ciliberto, G., & Aurisicchio, L. (2013). Safety and efficacy of a genetic vaccine targeting telomerase plus chemotherapy for the therapy of canine B-cell lymphoma. *Human Gene Therapy*, 24(8), 728–738. <https://doi.org/10.1089/hum.2013.112>

Gill, V. L., Bergman, P. J., Baer, K. E., Craft, D., & Leung, C. (2008). Use of imiquimod 5% cream (Aldara™) in cats with multicentric squamous cell carcinoma in situ: 12 cases (2002-2005). *Veterinary and Comparative Oncology*, 6(1), 55–64. <https://doi.org/10.1111/j.1476-5829.2007.00144.x>

Gödel, P., Shimabukuro-Vornhagen, A., & von Bergwelt-Baildon, M. (2017). Understanding cytokine release syndrome. *Intensive Care Medicine*, 44(3), 371–373. <https://doi.org/10.1007/s00134-017-4943-5>

Goff, S. L., Dudley, M. E., Citrin, D. E., Somerville, R. P., Wunderlich, J. R., Danforth, D. N., Zlott, D. A., Yang, J. C., Sherry, R. M., Kammula, U. S., Klebanoff, C. A., Hughes, M. S., Restifo, N. P., Langhan, M. M., Shelton, T. E., Lu, L., Kwong, M. L. M., Ilyas, S., Klemen, N. D., ... Rosenberg, S. A. (2016). Randomized, prospective evaluation comparing intensity of lymphodepletion before adoptive transfer of tumor-infiltrating lymphocytes for patients with metastatic melanoma. *Journal of Clinical Oncology*, 34(20), 2389–2397. <https://doi.org/10.1200/JCO.2016.66.7220>

Grant, D. M. (2013). Chemical carcinogenesis. In *The Basic Science of Oncology* (5th ed., pp. 154–188). Mc Graw Hill Education.

Gros, A., Maus, M., & Borrego, F. (2015). Inmunoterapia antitumoral adoptiva con linfocitos T o células NK: pasado, presente y futuro. In *Inmunoterapia del cáncer: Realidades y perspectivas* (1st ed., pp. 39–52). Elsevier Inc.

Guedán Carrió, S., & Boronat Barado, A. (2015). Inmunoterapia antitumoral con linfocitos genéticamente modificados (CAR): una realidad con futuro. In

Inmunoterapia del cáncer: Realidades y perspectivas (1st ed., pp. 53–66). Elsevier Inc.

Guth, A., & Dow, S. (2013). Cancer Immunotherapy. In *Withrow, S. (ed) Small Animal Clinical Oncology* (5th ed., pp. 198–214). Elsevier Inc.

Gutkin, D., & Shurin, M. R. (2017). Tumor-Infiltrating immune cells of myeloid origin. In *Cancer immunotherapy principles and practice* (1st ed., pp. 427–448). Demos Medical.

Gyorffy, S., Rodriguez-Lecompte, J. C., Woods, J. P., Foley, R., Kruth, S., Liaw, P. C. Y., & Gauldie, J. (2005). Bone marrow-derived dendritic cell vaccination of dogs with naturally occurring melanoma by using human gp100 antigen. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 19(1), 56–63. [https://doi.org/10.1892/0891-6640\(2005\)19<56:BMDCVO>2.0.CO;2](https://doi.org/10.1892/0891-6640(2005)19<56:BMDCVO>2.0.CO;2)

Hampel, V., Schwarz, B., Kempf, C., Ko, R., Schillinger, U., Fenske, N., Brill, T., & Hirschberger, J. (2007). Adjuvant immunotherapy of feline fibrosarcoma with recombinant feline interferon omega. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 21, 1340–1346.

Hanahan, D., & Weinberg, R. A. (2000). The Hallmarks of Cancer. *Cell*, 100, 57–70.

Hanahan, D., & Weinberg, R. A. (2011). Hallmarks of cancer: The next generation. *Cell*, 144(5), 646–674. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2011.02.013>

Harding, S. M., Bristow, R. G., & Harrington, L. (2013). Genomic stability and DNA repair. In *The Basic Science of Oncology* (5th ed., pp. 189–240). Mc Graw Hill Education.

Hedlund, G., Forsberg, G., Nederman, T., Sundstedt, A., Dahlberg, L., Tiensuu, M., & Nilsson, M. (2013). Tumor-targeted superantigens. In *Fusion Protein Technologies for Biopharmaceuticals: Applications and Challenges* (1st ed., pp. 365–381). John Wiley and Sons, Inc.

Henry, C. J., Downing, S., Rosenthal, R. C., Klein, M. K., Meleo, K., Villamil, J. A., Fineman, L. S., McCaw, D. L., Higginbotham, M. L., & McMichael, J. (2007). Evaluation of a novel immunomodulator composed of human chorionic gonadotropin and bacillus Calmette-Guerin for treatment of canine mast cell tumors in clinically affected dogs. *American Journal of Veterinary Research*, 68(11), 1246–1251. <https://doi.org/10.2460/ajvr.68.11.1246>

Henry, C. J., & Flesner, B. K. (2020). Chemical, Physical and Hormonal Factors. In *Withrow, S. (ed) Small Animal Clinical Oncology* (6th ed., pp. 13–19). Elsevier Inc.

Hernando-Meliá, C., & Berrocal Jaime, A. (2015). Criterios en la monitorización. Marcadores predictivos y pronósticos. In *Inmunoterapia del cáncer: Realidades y perspectivas* (1st ed., pp. 67–80). Elsevier Inc.

Herrera, L. A., & Andonegui, M. A. (2013). Carcinogénesis. In *Manual de oncología. Procedimientos médico quirúrgicos* (pp. 15–25). Mc Graw Hill.

Herrera Montalvo, L. A., & Santibañez, M. (2008). Carcinogénesis. In *Biología molecular en cáncer* (1st ed., pp. 1–12). PLANEACION Y DESARROLLO EDITORIAL, S.A. DE C.V.

Hoeijmakers, J. H. J. (2009). DNA Damage, Aging, and Cancer. *The New England Journal of Medicine*, 361, 1475–1485.

Hogge, G. S., Burkholder, J. K., Culp, J., Albertini, M. R., Dubielzig, R. R., Yang, N. S., & MacEwen, E. G. (1999). Preclinical development of human granulocyte-macrophage colony-stimulating factor-transfected melanoma cell vaccine using established canine cell lines and normal dogs. *Cancer Gene Therapy*, 6(1), 26–36. <https://doi.org/10.1038/sj.cgt.7700015>

Huerta Yopez, S., Luria Perez, R., & Vega, M. I. (2016). Respuesta inmunológica a tumores. In *Inmunología molecular, celular y traslacional* (1st ed., pp. 508–525). Wolters Kluwer.

J., F. (1989). Successful treatment of an angiogenic disease. *The New England*

Journal of Medicine, 320(18), 1211–1212.

Jahnke, A., Hirschberger, J., Fischer, C., Brill, T., Köstlin, R., Plank, C., Küchenhoff, H., Krieger, S., Kamenica, K., & Schillinger, U. (2007). Intra-tumoral gene delivery of feIL-2, feIFN- γ and feGM-CSF using magnetofection as a neoadjuvant treatment option for feline fibrosarcomas: A phase-I study. *Journal of Veterinary Medicine Series A: Physiology Pathology Clinical Medicine*, 54(10), 599–606. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0442.2007.01002.x>

Jas, D., Soyer, C., De Fornel-Thibaud, P., Oberli, F., Vernes, D., Guigal, P. M., Poulet, H., & Devauchelle, P. (2015). Adjuvant immunotherapy of feline injection-site sarcomas with the recombinant canarypox virus expressing feline interleukine-2 evaluated in a controlled monocentric clinical trial when used in association with surgery and brachytherapy. *Trials in Vaccinology*, 4, 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.trivac.2014.11.001>

Johannes, C. M. (2019). New veterinary oncology therapeutics. *American Veterinarian*, 16–18.

Jones, P. T., Dear, P. H., Foote, J., Neuberger, M. S., & Winter, G. (1986). Replacing the complementarity-determining regions in a human antibody with those from a mouse. *Nature*, 324(6094), 227–231. <https://doi.org/10.1038/324227a0>

Jorgensen, P., & Haken, R. (2013). Cell Proliferation and Death. In *The Basic Science of Oncology* (pp. 238–435). Mc Graw Hill Education.

Kalluri, R., & Weinberg, R. A. (2009). The basics of epithelial-mesenchymal transition. *The Journal of Clinical Investigation*, 119(6), 1420–1428. <https://doi.org/10.1172/JCI39104.1420>

Kamstock, D., Guth, A., Elmslie, R., Kurzman, I., Liggitt, D., Coro, L., Fairman, J., & Dow, S. (2006). Liposome-DNA complexes infused intravenously inhibit tumor angiogenesis and elicit antitumor activity in dogs with soft tissue sarcoma. *Cancer Gene Therapy*, 13(3), 306–317. <https://doi.org/10.1038/sj.cgt.7700895>

- Kelly, W., Lotze, M. T., & Atkins, M. B. (2017). History of cancer immunotherapy. In *Cancer immunotherapy principles and practice* (1st ed., pp. 1–20). Demos Medical.
- Kerkar, S. P., & Restifo, N. P. (2012). Cellular constituents of immune escape within the tumor microenvironment. *Cancer Research*, *72*(13), 3125–3130. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-11-4094>
- Kim, H., Goodall, S., & Liew, D. (2019). Health Technology Assessment Challenges in Oncology: 20 Years of Value in Health. *Value in Health*, *22*(5), 593–600. <https://doi.org/10.1016/j.jval.2019.01.001>
- Klingemann, H. (2018). Immunotherapy for dogs: Running behind humans. *Frontiers in Immunology*, *9*(FEB), 5–10. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.00133>
- Klotz, D., Baumgärtner, W., & Gerhauser, I. (2017). Type I interferons in the pathogenesis and treatment of canine diseases. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, *191*, 80–93. <https://doi.org/10.1016/j.vetimm.2017.08.006>
- Krishnamurthy, A., & Jimeno, A. (2018). Bispecific antibodies for cancer therapy: A review. *Pharmacology and Therapeutics*, *185*(December 2017), 122–134. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2017.12.002>
- Kroschinsky, F., Stölzel, F., von Bonin, S., Beutel, G., Kochanek, M., Kiehl, M., & Schellongowski, P. (2017). New drugs, new toxicities: Severe side effects of modern targeted and immunotherapy of cancer and their management. *Critical Care*, *21*(1), 1–11. <https://doi.org/10.1186/s13054-017-1678-1>
- Kumar, V., Abbas, A. K., & Aster, J. C. (2015a). Inflamación y reparación. In *Patología estructural y funcional* (9th ed., pp. 69–111). Elsevier Inc.
- Kumar, V., Abbas, A. K., & Aster, J. C. (2015b). Neoplasias. In *Patología estructural y funcional* (9th ed., pp. 265–340). Elsevier Inc.
- Kumar, V., & Stricker, T. P. (2010). Neoplasias. In *Patología estructural y funcional* (8th ed., pp. 259–330). Elsevier Inc.

Kurzman, I. D., MacEwen, E. G., Rosenthal, R. C., Fox, L. E., Keller, E. T., Helfand, S. C., Vail, D. M., Dubielzig, R. R., Madewell, B. R., Rodriguez, C. O., Obradovich, J., Fidel, J., & Rosenberg, M. (1995). Adjuvant Therapy for Osteosarcoma in Dogs: Results of Randomized Clinical Trials Using Combined Liposome-Encapsulated Muramyl Tripeptide and Cisplatin. *Clinical Cancer Research*, 1(12), 1595–1601.

Larocca, C., & Schlom, J. (2011). Viral vector-based therapeutic cancer vaccines. *The Cancer Journal*, 17(5), 359–371.

Lascelles, B. D. X., Dernell, W. S., Correa, M. T., Lafferty, M., Devitt, C. M., Kuntz, C. A., Straw, R. C., & Withrow, S. J. (2005). Improved survival associated with postoperative wound infection in dogs treated with limb-salvage surgery for osteosarcoma. *Annals of Surgical Oncology*, 12(12), 1073–1083. <https://doi.org/10.1245/ASO.2005.01.011>

Lee, S. H., Shin, D. J., & Kim, S. K. (2015). Generation of recombinant canine interleukin-15 and evaluation of its effects on the proliferation and function of canine NK cells. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 165(1–2), 1–13. <https://doi.org/10.1016/j.vetimm.2015.04.002>

Leon Rapoport, B. (2019). Editorial: Management of immune-related adverse events for patients undergoing treatment with checkpoint inhibitors. *Frontiers in Oncology*, 9, 9–11. <https://doi.org/10.3389/fonc.2019.00365>

Leon Rapoport, B., van Eeden, R., Sibaud, V., Epstein, J. B., Klastersky, J., Aapro, M., & Moodley, D. (2017). Supportive care for patients undergoing immunotherapy. *Supportive Care in Cancer*, 25(10), 3017–3030. <https://doi.org/10.1007/s00520-017-3802-9>

Li, S. fang, Zhao, F. rong, Shao, J. jun, Xie, Y. li, Chang, H. yun, & Zhang, Y. guang. (2017). Interferon-omega: Current status in clinical applications. *International Immunopharmacology*, 52(August), 253–260. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2017.08.028>

Limón Rodríguez, J. A., Álvarez Avitia, M. A., & Aguilar Ponce, J. L. (2013). Angiogénesis, invasión y metástasis. In *Manual de oncología. Procedimientos médico quirúrgicos* (1st ed., pp. 47–61). Mc Graw Hill.

Linette, G. P., & Carreno, B. M. (2016). Inmunoterapia oncológica. In *Manual Washington de Oncología* (3a ed., pp. 79–85). Wolters Kluwer.

Lingaas, F., Comstock, K. E., Kirkness, E. F., Sørensen, A., Aarskaug, T., Hitte, C., Nickerson, M. L., Moe, L., Schmidt, L. S., Thomas, R., Breen, M., Galibert, F., Zbar, B., & Ostrander, E. A. (2003). A mutation in the canine BHD gene is associated with hereditary multifocal renal cystadenocarcinoma and nodular dermatofibrosis in the German Shepherd dog. *Human Molecular Genetics*, *12*(23), 3043–3053. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddg336>

Lozano Martín, M. (2017). El efecto Warburg y los cambios metabólicos asociados al cáncer: reversión por dicloroacetato en células de cáncer de colon. *Universidad de Valladolid*, *33*. <http://uvadoc.uva.es/handle/10324/24974>

MacEwen, E. G., Kurzman, I. D., Vail, D. M., Dubielzig, R. R., Everlith, K., Madewell, B. R., Rodriguez, C. O., Phillips, B., Zwahlen, C. H., Obradovich, J., Rosenthal, R. C., Fox, L. E., Rosenberg, M., Henry, C., & Fidel, J. (1999). Adjuvant therapy for melanoma in dogs: Results of randomized clinical trials using surgery, liposome-encapsulated muramyl tripeptide, and granulocyte macrophage colony-stimulating factor. *Clinical Cancer Research*, *5*(12), 4249–4258.

MacEwen, E. G., Patnaik, A. K., Harvey, H. J., Hayes, A. A., & Matus, R. (1986). Canine oral melanoma: Comparison of surgery versus surgery plus corynebacterium parvum. *Cancer Investigation*, *4*(5), 397–402. <https://doi.org/10.3109/07357908609017520>

Macy, D. W. (2020). Cancer-Causing Viruses. In *Withrow, S. (ed) Small Animal Clinical Oncology* (6th ed., pp. 19–35). Elsevier Inc.

Maekawa, N., Konnai, S., Takagi, S., Kagawa, Y., Okagawa, T., Nishimori, A., Ikebuchi, R., Izumi, Y., Deguchi, T., Nakajima, C., Kato, Y., Yamamoto, K.,

Uemura, H., Suzuki, Y., Murata, S., & Ohashi, K. (2017). A canine chimeric monoclonal antibody targeting PD-L1 and its clinical efficacy in canine oral malignant melanoma or undifferentiated sarcoma. *Scientific Reports*, 7(1), 1–12. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-09444-2>

Maldonado Laguna, V., & Meléndez Zajgla, J. (2013). Ciclo celular y apoptosis. In *Manual de oncología. Procedimientos médico quirúrgicos* (1st ed., pp. 36–46). Mc Graw Hill.

Maldonado Laguna, V., & Ruiz Godoy Rivera, L. M. (2008). Reparación del ADN y cáncer. In *Biología molecular en cáncer* (1st ed., pp. 115–124). PLANEACION Y DESARROLLO EDITORIAL, S.A. DE C.V.

Mantovani, A., Allavena, P., Sica, A., & Balkwill, F. (2008). Cancer-related inflammation. *Nature*, 454(7203), 436–444. <https://doi.org/10.1038/nature07205>

Mantovani, A., & Sica, A. (2010). Macrophages, innate immunity and cancer: balance, tolerance, and diversity. *Current Opinion in Immunology*, 22(2), 231–237. <https://doi.org/10.1016/j.coi.2010.01.009>

Markovic, S. N., & Bangalore Kumar, A. (2018). Therapeutic targets of FDA-approved immunotherapies in oncology. In *The Basics of Cancer Immunotherapy* (1st ed., pp. 21–38). Springer.

Mason, N. J., Gnanandarajah, J. S., Engiles, J. B., Gray, F., Laughlin, D., Gaurnier-Hausser, A., Wallecha, A., Huebner, M., & Paterson, Y. (2016). Immunotherapy with a HER2-Targeting listeria induces HER2-Specific immunity and demonstrates potential therapeutic effects in a phase I trial in canine osteosarcoma. *Clinical Cancer Research*, 22(17), 4380–4390. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-16-0088>

Mata, M., Vera, J. F., Gerken, C., Rooney, C. M., Miller, T., Pfent, C., Wang, L. L., Wilson-Robles, H. M., & Gottschalk, S. (2014). Toward Immunotherapy With Redirected T Cells in a Large Animal Model. *Journal of Immunotherapy*, 37(8), 407–415. <https://doi.org/10.1097/cji.0000000000000052>

Mie, K., Shimada, T., Akiyoshi, H., Hayashi, A., & Ohashi, F. (2016). Change in peripheral blood lymphocyte count in dogs following adoptive immunotherapy using lymphokine-activated T killer cells combined with palliative tumor resection. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 177, 58–63. <https://doi.org/10.1016/j.vetimm.2016.06.007>

Milstein, C., & Köhler, G. (1975). Pillars Article : Continuous cultures of fused cells secreting antibody of predefined. *Nature*, 256(5517), 495–497.

Mitchell, L., Thamm, D. H., & Biller, B. J. (2012). Clinical and Immunomodulatory Effects of Toceranib Combined with Low-Dose Cyclophosphamide in Dogs with Cancer. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 26(2), 355–362. <https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.2011.00883.x>

Mito, K., Sugiura, K., Ueda, K., Hori, T., Akazawa, T., Yamate, J., Nakagawa, H., Hatoya, S., Inaba, M., Inoue, N., Ikehara, S., & Inaba, T. (2010). IFN γ markedly cooperates with intratumoral dendritic cell vaccine in dog tumor models. *Cancer Research*, 70(18), 7093–7101. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-10-0600>

Mittal, D., Gubin, M. M., Schreiber, R. D., & Smyth, M. J. (2014). New insights into cancer immunoediting and its three component phases-elimination, equilibrium and escape. *Current Opinion in Immunology*, 27(1), 16–25. <https://doi.org/10.1016/j.coi.2014.01.004>

Mochel, J. P., Ekker, S. C., Johannes, C. M., Jergens, A. E., Allenspach, K., Bourgois-Mochel, A., Knouse, M., Benzekry, S., Wierson, W., LeBlanc, A. K., & Kenderian, S. S. (2019). CAR T Cell Immunotherapy in Human and Veterinary Oncology: Changing the Odds Against Hematological Malignancies. *AAPS Journal*, 21(3). <https://doi.org/10.1208/s12248-019-0322-1>

Modiano, J. F., & Hyuk Kim, J. (2020). The Genetics Basis of Cancer. In *Withrow, S. (ed) Small Animal Clinical Oncology* (6th ed., pp. 1–13). Elsevier Inc.

Montaño Estrada, L. F., & Rendón Huerta, E. P. (2016). Citocinas. In *Inmunología molecular, celular y traslacional* (1st ed., pp. 258–297). Wolters Kluwer.

Moolgavkar, S. H., & Luebeck, E. G. (2003). Multistage Carcinogenesis and the Incidence of Human Cancer. *Genes Chromosomes and Cancer*, 38(4), 302–306. <https://doi.org/10.1002/gcc.10264>

Morrison, W. B. (2012). Inflammation and cancer: A comparative view. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 26(1), 18–31. <https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.2011.00836.x>

Mukaratirwa, S., Chitanga, S., Chimatira, T., Makuleke, C., Sayi, S. T., & Bhebhe, E. (2009). Combination therapy using intratumoral bacillus Calmette-Guerin (BCG) and vincristine in dogs with transmissible venereal tumours: Therapeutic efficacy and histological changes. *Journal of the South African Veterinary Association*, 80(2), 92–96. <https://doi.org/10.4102/jsava.v80i2.178>

Murphy, K. (2012). Manipulation of the immune response. In *Janeway's Immunobiology* (8th ed., pp. 669–716). Garland Science.

Nagy, R., Sweet, K., & Eng, C. (2004). Highly penetrant hereditary cancer syndromes. *Oncogene*, 23(38), 6445–6470. <https://doi.org/10.1038/sj.onc.1207714>

Naik, S., Galyon, G. D., Jenks, N. J., Steele, M. B., Miller, A. C., Allstadt, S. D., Suksanpaisan, L., Peng, K. W., Federspiel, M. J., Russell, S. J., & LeBlanc, A. K. (2018). Comparative oncology evaluation of intravenous recombinant oncolytic vesicular stomatitis virus therapy in spontaneous canine cancer. *Molecular Cancer Therapeutics*, 17(1), 316–326. <https://doi.org/10.1158/1535-7163.MCT-17-0432>

Nguyen, L. T., Lind, E. F., & Ohashi, P. S. (2013). The Immune System and Immunotherapy. In *The Basic Science of Oncology* (5th ed., pp. 982–1034). Mc Graw Hill Education.

Nguyen, S. M., Thamm, D. H., Vail, D. M., & London, C. A. (2015). Response evaluation criteria for solid tumours in dogs (v1.0): A Veterinary Cooperative Oncology Group (VCOG) consensus document. *Veterinary and Comparative Oncology*, 13(3), 176–183. <https://doi.org/10.1111/vco.12032>

Ni, L., & Lu, J. (2018). Interferon gamma in cancer immunotherapy. *Cancer Medicine*, 7(9), 4509–4516. <https://doi.org/10.1002/cam4.1700>

Noguera, R., Burgos-Panadero, R., Gamero-Sandemetro, E., de la Cruz-Merino, L., & Álvaro Naranjo, T. (2019). Una visión integral del cáncer (I). Microambiente tumoral: estudio, clasificación y reprogramación. *Revista Espanola de Patologia*, 52(2), 92–102. <https://doi.org/10.1016/j.patol.2018.11.003>

O'Connor, C. M., Sheppard, S., Hartline, C. A., Huls, H., Johnson, M., Palla, S. L., Maiti, S., Ma, W., Davis, R. E., Craig, S., Lee, D. A., Champlin, R., Wilson, H., & Cooper, L. J. N. (2012). Adoptive T-cell therapy improves treatment of canine non-Hodgkin lymphoma post chemotherapy. *Scientific Reports*, 2, 1–12. <https://doi.org/10.1038/srep00249>

Ortiz Navarrete, V., Hernández Ruiz, M., & López Medina, M. (2016). Complejo principal de histocompatibilidad. In *Inmunología molecular, celular y traslacional* (1st ed., pp. 202–217). Wolters Kluwer.

Pang, L. Y., & Argyle, D. J. (2009). Using naturally occurring tumours in dogs and cats to study telomerase and cancer stem cell biology. *Biochimica et Biophysica Acta - Molecular Basis of Disease*, 1792(4), 380–391. <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2009.02.010>

Panjwani, M. K., Smith, J. B., Schutsky, K., Gnanandarajah, J., O'Connor, C. M., Powell, D. J., & Mason, N. J. (2016). Feasibility and safety of RNA-transfected CD20-specific chimeric antigen receptor T cells in dogs with spontaneous B cell lymphoma. *Molecular Therapy*, 24(9), 1602–1614. <https://doi.org/10.1038/mt.2016.146>

Paoloni, M., Mazcko, C., Selting, K., Lana, S., Barber, L., Phillips, J., Skorupski, K., Vail, D., Wilson, H., Biller, B., Avery, A., Kiupel, M., Le Blanc, A., Bernhardt, A., Brunkhorst, B., Tighe, R., & Khanna, C. (2015). Defining the pharmacodynamic profile and therapeutic index of NHS-IL12 immunocytokine in dogs with malignant melanoma. *PLoS ONE*, 10(6), 1–20. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0129954>

Park, J. S., Withers, S. S., Modiano, J. F., Kent, M. S., Chen, M., Luna, J. I., Culp, W. T. N., Sparger, E. E., Rebhun, R. B., Monjazebe, A. M., Murphy, W. J., & Canter, R. J. (2016). Canine cancer immunotherapy studies: Linking mouse and human. *Journal for ImmunoTherapy of Cancer*, 4(1), 1–11. <https://doi.org/10.1186/s40425-016-0200-7>

Parodi, A. L., Misdorp, W., Mialot, J. P., Mialot, M., Hart, A. A. M., Hurtrel, M., & Salomon, J. C. (1983). Intratumoral BCG and Corynebacterium parvum therapy of canine mammary tumours before radical mastectomy. *Cancer Immunology Immunotherapy*, 15(3), 172–177. <https://doi.org/10.1007/BF00199160>

Pavlin, D., Cemazar, M., Cör, A., Sersa, G., Pogacnik, A., & Tozon, N. (2011). Electrogene therapy with interleukin-12 in canine mast cell tumors. *Radiology and Oncology*, 45(1), 30–39. <https://doi.org/10.2478/v10019-010-0041-9>

Pennock, G. K., Waterfield, W., & Wolchok, J. D. (2012). Patient responses to ipilimumab, a novel immunopotentiator for metastatic melanoma: How different are these from conventional treatment responses? *American Journal of Clinical Oncology: Cancer Clinical Trials*, 35(6), 606–611. <https://doi.org/10.1097/COC.0b013e318209cda9>

Penzo, C., Ross, M., Muirhead, R., Else, R., & Argyle, D. J. (2009). Effect of recombinant feline interferon- ω alone and in combination with chemotherapeutic agents on putative tumour-initiating cells and daughter cells derived from canine and feline mammary tumours. *Veterinary and Comparative Oncology*, 7(4), 222–229. <https://doi.org/10.1111/j.1476-5829.2009.00192.x>

Perez, H. L., Cardarelli, P. M., Deshpande, S., Gangwar, S., Schroeder, G. M., Vite, G. D., & Borzilleri, R. M. (2014). Antibody-drug conjugates: Current status and future directions. *Drug Discovery Today*, 19(7), 869–881. <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2013.11.004>

Pérez Tapia, S. M., Robledo Ávila, F. H., & Hernández Flores, M. (2016). Características generales de la respuesta inmunológica. In *Inmunología molecular*,

celular y traslacional (1st ed., pp. 18–38). Wolters Kluwer.

Pikor, L., Bell, J. C., & Kaufman, H. L. (2017). Oncolytic viruses. In *Cancer immunotherapy principles and practice* (1st ed., pp. 375–403). Demos Medical.

Pluhar, G. E., Grogan, P. T., Seiler, C., Goulart, M., SantaCruz, K. S., Carlson, C., Chen, W., Olin, M. R., Lowenstein, P. R., Castro, M. G., Haines, S. J., & Ohlfest, J. R. (2010). Anti-tumor immune response correlates with neurological symptoms in a dog with spontaneous astrocytoma treated by gene and vaccine therapy. *Vaccine*, *28*(19), 3371–3378. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2010.02.082>

Raval, R. R., & Carson III, W. E. (2017). Systemic measures of immune function in cancer patients: Other suppressive cellular mechanisms. In *Cancer immunotherapy principles and practice* (1st ed., pp. 533–538). Demos Medical.

Reed, S. D., Fulmer, A., Buckholz, J., Zhang, B., Cutrera, J., Shiomitsu, K., & Li, S. (2010). Bleomycin/interleukin-12 electrochemogene therapy for treating naturally occurring spontaneous neoplasms in dogs. *Cancer Gene Therapy*, *17*(7), 457–464. <https://doi.org/10.1038/cgt.2010.6>

Regan, D., Guth, A., Coy, J., & Dow, S. (2016). Cancer immunotherapy in veterinary medicine: Current options and new developments. *The Veterinary Journal*, *207*, 20–28. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2015.10.008>

Renwick, M. G., Argyle, D. J., Long, S., Nixon, C., Gault, E. A., & Nasir, L. (2006). Telomerase activity and telomerase reverse transcriptase catalytic subunit expression in canine lymphoma with Ki67 immunoreactivity. *Veterinary and Comparative Oncology*, *4*(3), 141–150.

Rescigno, M., Avogadri, F., & Curigliano, G. (2007). Challenges and prospects of immunotherapy as cancer treatment. *Biochimica et Biophysica Acta - Reviews on Cancer*, *1776*(1), 108–123. <https://doi.org/10.1016/j.bbcan.2007.07.003>

Riella, L. V., Paterson, A. M., Sharpe, A. H., & Chandraker, A. (2012). Role of the PD-1 pathway in the immune response. *American Journal of Transplantation*,

12(10), 2575–2587. <https://doi.org/10.1111/j.1600-6143.2012.04224.x>

Romano, E., & Margolin, K. (2017). T cell modulatory cytokines. In *Cancer immunotherapy principles and practice* (1st ed., pp. 270–284). Demos Medical.

Rosenberg, S. A. (2014). IL-2: The First Effective Immunotherapy for Human Cancer. *The Journal of Immunology*, 192(12), 5451–5458. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1490019>

Sánchez, D., Pelayo, R., Medina, L. A., Vadillo, E., Sánchez, R., Núñez, L., Cesarman-Maus, G., & Sarmiento-Silva, R. E. (2015). Newcastle disease virus: Potential therapeutic application for human and canine lymphoma. *Viruses*, 8(1), 1–12. <https://doi.org/10.3390/v8010003>

Schreiber, R. D., Old, L. J., & Smyth, M. J. (2011). Cancer immunoediting: Integrating immunity's roles in cancer suppression and promotion. *Science*, 331(6024), 1565–1570. <https://doi.org/10.1126/science.1203486>

Shay, J. W., & Wright, W. E. (2011). Role of telomeres and telomerase in cancer. *Seminars in Cancer Biology*, 21(6), 349–353. <https://doi.org/10.1016/j.semcancer.2011.10.001>

Siddiqui, F., Li, C. Y., Zhang, X., Larue, S. M., Dewhirst, M. W., Ullrich, R. L., & Avery, P. R. (2006). Characterization of a recombinant adenovirus vector encoding heat-inducible feline interleukin-12 for use in hyperthermia-induced gene-therapy. *International Journal of Hyperthermia*, 22(2), 117–134. <https://doi.org/10.1080/02656730500462309>

Singh, S., Tank, N. K., Dwiwedi, P., Charan, J., Kaur, R., Sidhu, P., & Chugh, V. K. (2018). Monoclonal antibodies. A review. *Current Clinical Pharmacology*, 13(2), 85–99. <https://doi.org/10.2174/1574884712666170809124728>

Slaney, C. Y., Von Scheidt, B., Davenport, A. J., Beavis, P. A., Westwood, J. A., Mardiana, S., Tschärke, D. C., Ellis, S., Prince, H. M., Trapani, J. A., Johnstone, R. W., Smyth, M. J., Teng, M. W., Ali, A., Yu, Z., Rosenberg, S. A., Restifo, N. P.,

Neeson, P., Darcy, P. K., & Kershaw, M. H. (2017). Dual-specific chimeric antigen receptor T cells and an indirect vaccine eradicate a variety of large solid tumors in an immunocompetent, self-antigen setting. *Clinical Cancer Research*, *23*(10), 2478–2490. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-16-1860>

Sodhi, A., Montaner, S., & Gutkind, S. (2008). Ciclo celular en cáncer. In *Biología molecular en cáncer* (1st ed., pp. 27–38). PLANEACION Y DESARROLLO EDITORIAL, S.A. DE C.V.

Srivastava, S., Salter, A. I., & Riddell, S. R. (2017). Adoptive T cell transfer. In *Cancer immunotherapy principles and practice* (1st ed., pp. 285–313). Demos Medical.

Steiner, M., & Neri, D. (2011). Antibody-radionuclide conjugates for cancer therapy: Historical considerations and new trends. *Clinical Cancer Research*, *17*(20), 6406–6416. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-11-0483>

Strachan, T., & Read, A. (2011). Cancer genetics. In *Human Molecular Genetics* (4th ed., pp. 537–568). Garland Science.

Streck, C. J., Zhang, Y., Miyamoto, R., Zhou, J., Ng, C. Y. C., Nathwani, A. C., & Davidoff, A. M. (2004). Restriction of neuroblastoma angiogenesis and growth by interferon- α/β . *Surgery*, *136*(2), 183–189. <https://doi.org/10.1016/j.surg.2004.04.014>

Suter, S. E., Chein, M. B., Von Messling, V., Yip, B., Cattaneo, R., Vernau, W., Madewell, B. R., & London, C. A. (2005). In vitro canine distemper virus infection of canine lymphoid cells: A prelude to oncolytic therapy for lymphoma. *Clinical Cancer Research*, *11*(4), 1579–1587. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-04-1944>

Sweis, R. F., & Luke, J. J. (2017). Immunotherapy based on blocking T cell inhibitory pathways. In *Cancer immunotherapy principles and practice* (1st ed., pp. 314–330). Demos Medical.

Thamm, D. H., Kurzman, I. D., King, I., Li, Z., Sznol, M., Dubielzig, R. R., Vail, D. M., & MacEwen, E. G. (2005). Systemic administration of an attenuated, tumor-targeting *Salmonella typhimurium* to dogs with spontaneous neoplasia: Phase I evaluation. *Clinical Cancer Research*, 11(13), 4827–4834. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-04-2510>

Thamm, D. H., Kurzman, I. D., MacEwen, E. G., Feinmehl, R., Towell, T. L., Longhofer, S. L., Johnson, C. M., Geoly, F. J., & Stinchcomb, D. T. (2003). Intralesional lipid-complexed cytokine/superantigen immunogene therapy for spontaneous canine tumors. *Cancer Immunology, Immunotherapy*, 52(8), 473–480. <https://doi.org/10.1007/s00262-003-0387-6>

Tizard, I. R. (2013). Resistance to Tumors. In *Veterinary Immunology* (9th ed., pp. 387–399). Elsevier Inc.

Turek, M. M., Thamm, D. H., Mitzey, A., Kurzman, I. D., Huelsmeyer, M. K., Dubielzig, R. R., & Vail, D. M. (2007). Human granulocyte-macrophage colony-stimulating factor DNA cationic-lipid complexed autologous tumour cell vaccination in the treatment of canine B-cell multicentric lymphoma. *Veterinary and Comparative Oncology*, 5(4), 219–231. <https://doi.org/10.1111/j.1476-5829.2007.00128.x>

U'Ren, L. W., Biller, B. J., Elmslie, R. E., Thamm, D. H., & Dow, S. W. (2007). Evaluation of a novel tumor vaccine in dogs with hemangiosarcoma. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 21(1), 113–120. [https://doi.org/10.1892/0891-6640\(2007\)21\[113:EOANTV\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1892/0891-6640(2007)21[113:EOANTV]2.0.CO;2)

Vail, D. M., MacEwen, E. G., Kurzman, I. D., Dubielzig, R. R., Helfand, S. C., Kisseberth, W. C., London, C. A., Obradovich, J. E., Madewell, B. R., Rodriguez, C. O., Fidel, J., Susaneck, S., & Rosenberg, M. (1995). Liposome-Encapsulated Muramyl Tripeptide Phosphatidylethanolamine Adjuvant Immunotherapy for Splenic Hemangiosarcoma in the Dog: A Randomized Multi-Institutional Clinical Trial. *Clinical Cancer Research*, 1(10), 1165–1170.

Valdespino Gómez, V. M. (2014a). Carcinogénesis, invasión y progresión del cáncer. In *Biología celular-molecular del cáncer* (1st ed., pp. 79–92).

Valdespino Gómez, V. M. (2014b). Marcas fenotípicas clásicas y no clásicas del cáncer. In *Biología celular-molecular del cáncer* (1st ed., pp. 93–112).

Valdespino Gómez, V. M., & Bologna Molina, R. (2014). Alteraciones en el microambiente tumoral. In *Biología celular-molecular del cáncer* (1st ed., p. 133144).

Valdespino Gómez, V. M., & Ortiz Muñiz, A. R. (2014). Alteraciones moleculares en el balance del mantenimiento y renovación en las células tumorales. In *Biología celular-molecular del cáncer* (pp. 113–132).

Verganti, S., Berlato, D., Blackwood, L., Amores-Fuster, I., Polton, G. A., Elders, R., Doyle, R., Taylor, A., & Murphy, S. (2017). Use of Oncept melanoma vaccine in 69 canine oral malignant melanomas in the UK. *Journal of Small Animal Practice*, *58*(1), 10–16. <https://doi.org/10.1111/jsap.12613>

Vesely, M. D., & Schreiber, R. D. (2013). Cancer immunoediting: antigens, mechanisms, and implications to cancer immunotherapy. *Annals of the New York Academy of Sciences*, *1284*(1), 1–5. <https://doi.org/10.1111/nyas.12105>

Wagner, S. D., Williams, G. T., Larson, T., Neuberger, M. S., Kitamura, D., Rajewsky, K., Xian, J., & Bruggemann, M. (1994). Antibodies generated from human immunoglobulin miniloci in transgenic mice. *Nucleic Acids Research*, *22*(8), 1389–1393. <https://doi.org/10.1093/nar/22.8.1389>

Walker, L. S. K., & Abbas, A. K. (2017). Regulation of cell-mediated immunity: The biology of checkpoints and regulatory T cells. In *Cancer immunotherapy principles and practice* (1st ed., p. 95105). Demos Medical.

Warburg, O. (1956). On the origin of cancer cells. *Science*, *123*(3191), 309–314. [https://doi.org/10.1016/S0306-9877\(96\)90136-X](https://doi.org/10.1016/S0306-9877(96)90136-X)

Weinberg, R. A. (2014). Crowd Control: Tumor Immunology and Immunotherapy.

In *The biology of cancer* (2nd ed., pp. 723–796). Garland Science.

Winter, G., Griffiths, A. D., Hawkins, R. E., & Hoogenboom, H. R. (1994). Making antibodies by phage display technology. *Annual Review of Immunology*, 12, 433–455. <https://doi.org/10.1146/annurev.iy.12.040194.002245>

Withers, S. S., Sparger, E. E., Boudreaux, B., & Mason, N. J. (2019). Utilizing Microbes to Treat Naturally Occurring Cancer in Veterinary Species. *Current Clinical Microbiology Reports*, 6(4), 200–212. <https://doi.org/10.1007/s40588-019-00130-7>

Wong Baeza, I., & Serafín López, J. (2016). Anticuerpos. In *Inmunología molecular, celular y traslacional* (1st ed., pp. 160–173). Wolters Kluwer.

Ziekman, P. G. P. M., Den Otter, W., Tan, J. F. V., Teske, E., Kirpensteijn, J., Koten, J. W., & Jacobs, J. J. L. (2013). Intratumoural interleukin-2 therapy can induce regression of non-resectable mastocytoma in dogs. *Anticancer Research*, 33(1), 161–166.