



**Universidad**  
Zaragoza

**TRABAJO FIN DE GRADO**

Nuevas terapias frente al  
adenocarcinoma ductal pancreático

New therapies against pancreatic ductal  
adenocarcinoma

Autora: Lucía Galán Fernández

Directora: Sara Oliván García

Facultad de Medicina  
Universidad de Zaragoza  
Curso 2018/2019



## Índice

Resumen y Palabras clave	2
1- El páncreas y tipos de cáncer pancreático	4
2- Incidencia y mortalidad	6
3- Características histológicas	6
4- Clínica y diagnóstico	9
5- Terapias clásicas	
5.1- Cirugía	10
5.2- Quimioterapia	10
6- Terapias avanzadas	
6.1- Terapias dirigidas	12
6.2- Inmunoterapia	13
6.2.1.- Inhibidores del punto de control	14
6.2.2- Vacunas basadas en péptidos	16
6.2.3- Vacunas basadas en células enteras	18
6.2.4 - Terapia celular adoptiva	18
7- Nuevos modelos experimentales para el estudio del PDAC	20
7.1- Metodología para el desarrollo de los modelos preclínicos 3D	20
7.2- Hallazgos en modelos preclínicos 3D	22
Conclusiones	23
Anexos	24
Bibliografía	27



## Resumen

El adenocarcinoma ductal pancreático (PDAC) es uno de los tumores sólidos más difíciles de tratar. Representa la cuarta causa de muerte relacionado con el cáncer en el mundo, con una tasa de supervivencia a los 5 años inferior al 5%, mientras que la supervivencia a un año se logra en menos del 20% de los casos.

Las opciones terapéuticas disponibles actualmente son muy limitadas y están altamente ligadas al estado de la enfermedad. Además, se ha demostrado que el PDAC es capaz de desarrollar una rápida regulación de vías compensatorias al tratamiento, así como una densa reacción desmoplásica, que le proporcionan resistencia frente a las terapias ya existentes.

Entre las terapias la resección quirúrgica sigue siendo en la actualidad la principal opción terapéutica para los pacientes, pero desafortunadamente, menos del 20% de los pacientes son susceptibles de someterse a esta cirugía. De igual forma, el abordaje terapéutico de dicha enfermedad basado en la quimioterapia o la radioterapia, presentan una tasa de éxito muy baja. En pacientes tratados con gemcitabina, aceptado como fármaco quimioterapéutico de primera línea de referencia, la tasa de supervivencia general es de 5,6 meses, mientras que la tasa de supervivencia a un año es del 18%.

Como alternativa a estas terapias clásicas surge la inmunoterapia que consiste en la inducción de una respuesta inmune que potencie la acción antitumoral que el organismo presenta frente al cáncer. Sin embargo, los resultados obtenidos han sido contradictorios debido a la naturaleza poco inmunológica del tumor, el privilegio inmunitario, el complejo microentorno tumoral y la plasticidad genética de las células.

Una de las principales dificultades que surgen en el estudio de nuevas terapias es la falta de modelos experimentales que reproduzcan el complejo entorno tumoral. En los últimos años se han desarrollado nuevos modelos preclínicos basados en el cultivo tridimensional que permiten recrear la interacción entre los diferentes tipos de células presentes en el microentorno tumoral, así como mimetizar la arquitectura celular y el medio inmunosupresor de una forma más parecida a la real.

## Palabras Clave

Adenocarcinoma ductal pancreático, quimioterapia, inmunoterapia, modelos tridimensionales.



## Abstract

Pancreatic ductal adenocarcinoma (PDAC) is one of the most difficult solid tumors to treat. It constitutes the fourth cancer-related death cause in the world, with a 5-year survival rate under 5%, whereas one-year survival rate is under 20%.

Current therapeutic options are very limited and they are highly linked to the stage of the disease. Furthermore, research has shown that PDAC can develop a quick regulation of compensatory pathways to treatment, as well as a dense desmoplastic reaction, which make it resistant to the current therapies.

Among the current therapies, surgical resection still remains the main therapeutic option. However, unfortunately, less than 20% of patients may undergo surgery. At the same time, the success rate of a therapeutic approach based on chemotherapy or radiotherapy is very low. The average survival time among patients treated with gemcitabine, accepted as a reference first-line chemotherapy drug, is 5.6 months, whereas the one-year survival rate is 18%.

Immunotherapy constitutes an alternative to these traditional therapies. It consists in inducing an immune response which enhances the organism's antitumor reaction. The results obtained have nevertheless been contradictory due to the tumor's low immunological nature, the immune privilege, the complex tumor microenvironment, and genetic cells plasticity.

One of the main difficulties that arise when researching on new therapies is the absence of experimental models reproducing the complex tumor microenvironment. In the past few years, new preclinical models based on tridimensional culture have been developed. These models allow to recreate the interaction between the different types of cells in the tumor microenvironment, as well as to mimic cellular architecture and immunosuppressant environment in a more real way.

## Key words

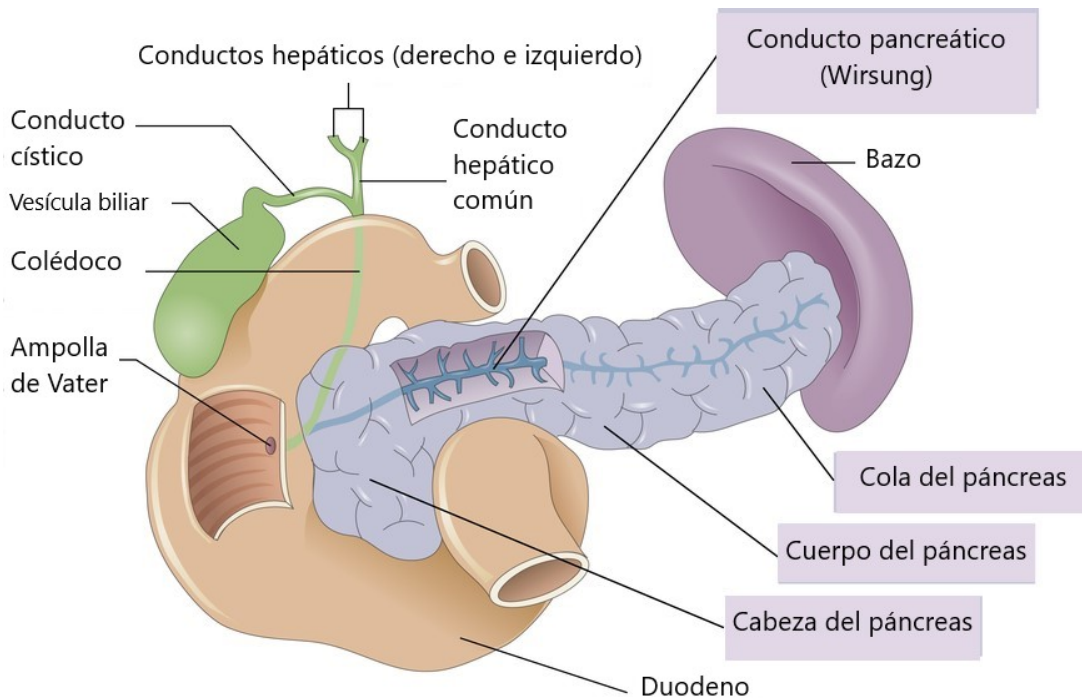
Pancreatic ductal adenocarcinoma, chemotherapy, immunotherapy, tridimensional models.



## 1- EL PÁNCREAS Y TIPOS DE CÁNCER PANCREÁTICO

El páncreas es un órgano alargado y angosto que está ubicado en la región postero superior izquierda del abdomen, detrás del estómago y paralelo a él. La porción más ancha de la glándula, conocida como porción cefálica, está envuelta por la concavidad del duodeno. El cuerpo del páncreas se extiende ligeramente hacia arriba y termina en la cola aproximándose en su parte final al bazo (Fig.1.). La cara posterior de la glándula contacta con la vena cava y la arteria aorta en sus porciones abdominales antes de que estos se dividan en los vasos ilíacos.

Se trata de una glándula de gran tamaño cuya estructura interna consiste en la combinación de distintas células encargadas de realizar la doble secreción que tiene, la exocrina y la endocrina.



*Figura 1: Esquema páncreas, duodeno, drenaje conductos y vías biliares, bazo.* [Bommas-Ebert, Teubner *Bauchspeicheldrüse (Pancreas)* 2011, 2011, <https://viamedici.thieme.de/lernmodule/anatomie/bauchspeicheldr%C3%BCse+pancreas>]

El páncreas exocrino constituye la mayor parte de la glándula (Fig 2). Se compone histológicamente por células glandulares de carácter seroso cuya función es sintetizar enzimas. Estas son transportadas por un sistema de conductos excretorios hasta la luz del duodeno donde ejercen su función participando en la digestión de los alimentos. La secreción pancreática contiene múltiples enzimas destinadas a la digestión de las tres clases principales de alimentos: proteínas, hidratos de carbono y grasas. También posee grandes cantidades de iones y bicarbonato, que desempeñan un papel importante en la neutralización del quimo ácido que, procedente del estómago, llega al duodeno.

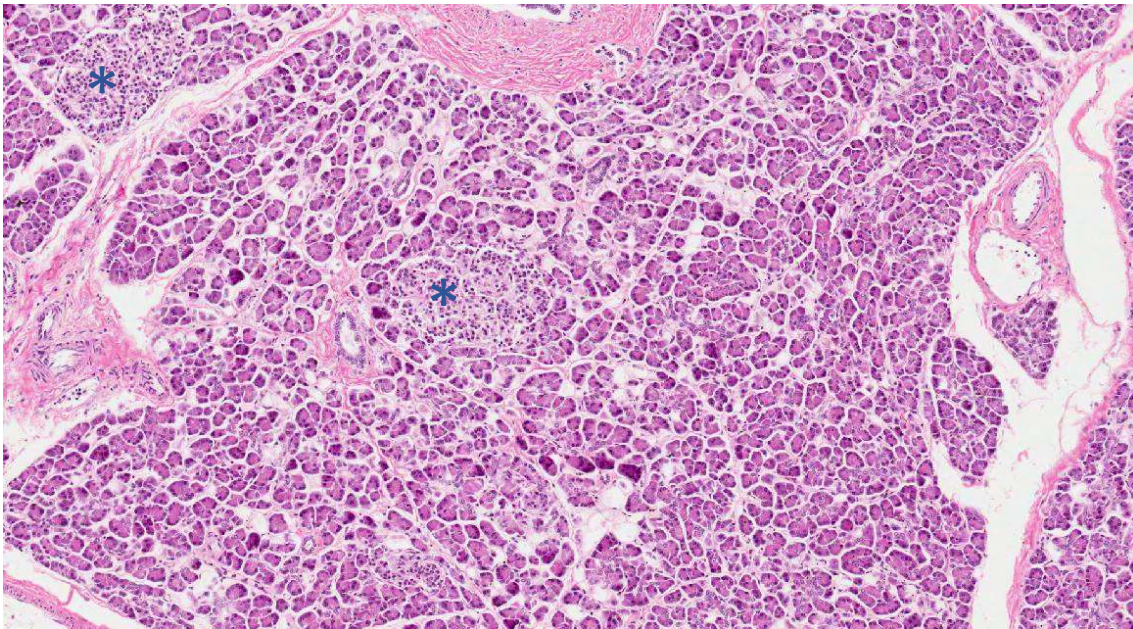
Las enzimas proteolíticas más importantes del páncreas son la tripsina, la quimotripsina y la carboxipolipeptidasa siendo la más abundante de todas ellas, con mucho, la tripsina. Esta y la quimotripsina degradan las proteínas completas o ya parcialmente digeridas a péptidos de diversos tamaños, aunque sin llegar a liberar los aminoácidos que los componen.

La enzima pancreática que digiere los hidratos de carbono es la amilasa pancreática, que hidroliza los almidones, el glucógeno y la mayor parte de los hidratos de carbono restantes (salvo la celulosa), hasta formar disacáridos y algunos trisacáridos.

Las enzimas principales para la digestión de las grasas son: la lipasa pancreática, capaz de hidrolizar las grasas neutras a ácidos grasos y monoglicéridos; la colesterol esterasa, que hidroliza los ésteres de colesterol, y la fosfolipasa, que separa los ácidos grasos de los fosfolípidos [1].

Por otro lado, la parte endocrina del páncreas representa el 1% de su volumen. Se encarga de sintetizar hormonas que vierte en la vecindad de las paredes de los capilares sanguíneos para que sean transportadas por la sangre hacia la totalidad del organismo. Está formado por células epiteliales glandulares que se agrupan y constituyen los Islotes de Langerhans (Fig 2. Asteriscos). En estas estructuras se diferencian tres tipos celulares:

- Células alfa: son las células que sintetizan glucagón. El glucagón es una hormona hiperglucemiante que se encarga de movilizar sustratos energéticos en tiempo de carencia. No solamente moviliza la glucosa, sino que también moviliza ácidos grasos. Tiene como principal tejido diana el hígado, pero además va a tener influencia en el tejido adiposo.
- Células Beta: son las más abundantes. Se encargan de la producción de insulina. La función fundamental de esta hormona es facilitar la entrada de glucosa en los tejidos (músculo, tejido adiposo, cerebro, hígado...). Es una hormona que tiene actividad anabólica. Su producción está regulada por la glucemia y es la glucemia la responsable de su producción.
- Células gamma: generan somatostatina. Esta actúa inhibiendo la hormona de crecimiento [2]. De esta manera interviene indirectamente en la regulación de la glicemia, e inhibe la secreción de insulina y glucagón.



**Figura 2:** Corte histológico de páncreas. Con el asterisco se señala la parte endocrina de la glándula siendo el resto la porción exocrina. [Contamina Gonzalvo,P.; Parra Gerona,P.; García Rojo,M. ATLAS DE HISTOLOGÍA. Preparaciones histológicas virtuales. Prensas Universitarias de Zaragoza, 2013, ISBN: 978-84-15770-14-5, Páncreas\_15-4]

Los distintos tipos de cáncer se clasifican según el componente histológico desde el que se inicia el desarrollo de células malignas.

Los tumores de origen exocrino constituyen el tipo más frecuente de cáncer de páncreas, y entre ellos, el adenocarcinoma ductal pancreático (PDAC, por sus siglas en inglés) es el más común. Se trata de una neoplasia infiltrante con diferenciación glandular que se deriva del árbol ductal pancreático. Existen variantes de PDAC como: el carcinoma adenoescamoso, el carcinoma coloide, el carcinoma no diferenciado o anaplásico, el carcinoma indiferenciado con células gigantes similares a osteoclastos (UCOCGC), el carcinoma en anillo de sello, el carcinoma medular y carcinoma hepatoide.

Dentro de los tumores neuroendocrinos o tumores de células de los islotes podemos encontrar: el Insulinoma, Glucagonoma, Gastrinoma, Somatostatina, VIPomas, PPomas [3]. Representan el 1% de los casos de cáncer de páncreas y son denominados de acuerdo con la hormona que fabrican.

## **2- INCIDENCIA Y MORTALIDAD**

El cáncer de páncreas más común es PDAC, como se ha comentado anteriormente. Es uno de los tumores malignos más letales representando la cuarta causa de muerte relacionado con el cáncer en el mundo. Cada año son diagnosticados más de 350.000 casos nuevos y provoca la muerte en el 97% de los mismos [4]. A lo largo de los últimos años los casos de PDAC y la mortalidad han variado. Su incidencia está aumentando. Algunos informes estiman un aumento de más del doble en el número de casos nuevos y muertes por PDAC para el 2030 [5]. La tasa de supervivencia actual a los 5 años es inferior al 5% mientras que la supervivencia a un año se logra en menos del 20% de los casos.

A nivel geográfico, la mayor incidencia de PDAC se registra entre los afroamericanos y la población indígena en Oceanía (aproximadamente 1 por 10,000 habitantes); y es mayor en los países desarrollados y las poblaciones urbanas. Los estudios en poblaciones migrantes sugieren que los factores ambientales y la dieta juegan un papel importante en la etiología [6]. Hasta la fecha, las causas del cáncer de páncreas son aun insuficientemente conocidas; aunque se han identificado algunos factores de riesgo, como la obesidad, la genética, la diabetes, la dieta y la inactividad. Sin embargo, el factor de riesgo más conocido para el PDAC es el consumo de tabaco, que se asocia con un riesgo 2 a 3 veces mayor que en los no fumadores [4].

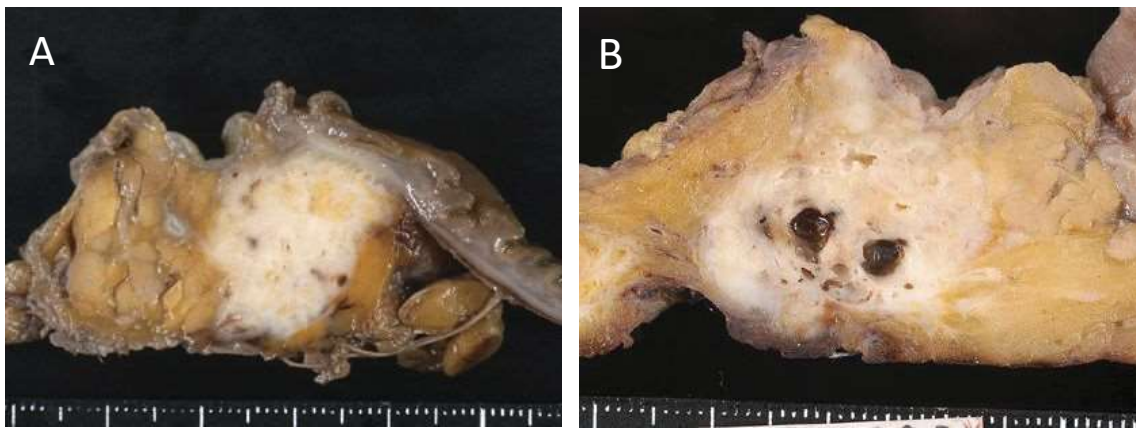
La detección precoz de este cáncer en estadios iniciales habitualmente se produce de forma accidental, es por ello que la prevención primaria es esencial [6]. Evidentemente, la falta de métodos para una detección del PDAC en las etapas iniciales influye en que la respuesta a los tratamientos no sea eficaz [7].

## **3- CARACTERÍSTICAS HISTOLÓGICAS**

Aproximadamente en el 60-70% de los casos, los PDAC se localizan en la cabeza de la glándula; pero hasta en un 15% de las ocasiones surgen en el cuerpo y/o cola del páncreas, respectivamente [4].

La proliferación celular, la supervivencia y la capacidad invasiva del PDAC se deben al aumento de la activación de vías de señalización relacionadas con el crecimiento y la proliferación celular, así como a la expresión alterada de genes supresores de tumores. El amplio repertorio de variaciones genéticas y metabólicas que se producen permite a este tumor sobrevivir en condiciones difíciles y aumenta su capacidad proliferativa.

En general, el PDAC suele ser una lesión solitaria, pero también puede presentarse como una enfermedad multifocal. Desde el punto de vista anatomopatológico, son masas firmes, duras, escleróticas y mal definidas, con una superficie de corte blanquecina, que reemplazan la arquitectura lobular normal del páncreas (Fig 3. A) [8].

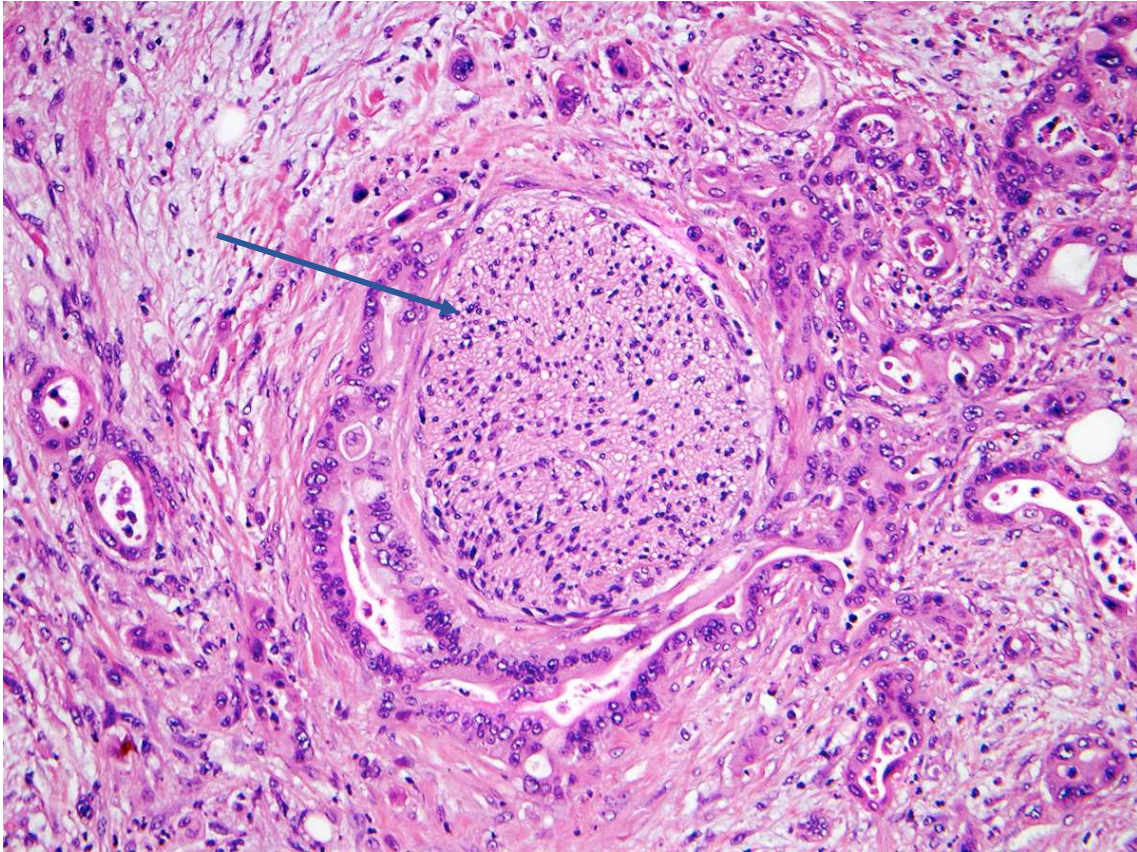


*Figura 3: Imágenes representativas de PDAC A) Corte transversal de un adenocarcinoma ductal infiltrante. B) Adenocarcinoma infiltrante con degeneración quística focal. [Hruban,R.H.; Fukushima, N. Pancreatic adenocarcinoma: update on the surgical pathology of carcinomas of ductal origin and PanINs. Modern Pathology, 2007, 20, 61-70]*

El PDAC se compone de estructuras glandulares de pequeño tamaño, bien o moderadamente diferenciadas, pero con patrones de crecimiento aleatorio. Sus células tienen capacidad de infiltrar en el tejido sano circundante. Es muy común que se visualice la presencia de invasión linfovascular, infiltración perineural (Fig 4) y la progresión de células metastásicas hacia los ganglios linfáticos. Citológicamente son células con mitosis particularmente atípicas en núcleos pleomorfos, agrandados e irregulares. Se asocia con una importante reacción estromal desmoplásica, pudiendo presentar restos necróticos glandulares.

En las distintas variantes de PDAC es posible apreciar una serie de modificaciones de la composición convencional de la estructura. Por ejemplo, el carcinoma adenoescamoso tiene una significativa diferenciación ductal además de escamosa en al menos el 30% del tumor. Por otro lado, el carcinoma coloide se caracteriza por la presencia de grandes acumulaciones de mucina estromal extracelular con las células neoplásicas suspendidas en ese medio, en al menos el 80% de la neoplasia (Fig 3.B). El carcinoma indiferenciado no muestra un patrón definitivo de diferenciación, mientras que la variante UCOCGC está compuesto de 2 tipos celulares: las células fusiformes y pleomórficas, las células neoplásicas reales y las células gigantes similares a los osteoclastos, que pueden tener más de 20 núcleos cada una, pero sin presentar un comportamiento maligno. En el carcinoma en anillo de sello encontramos que está constituido

casi exclusivamente por células en anillo de sello. El carcinoma medular tiene un patrón de crecimiento sincitial prominente con una diferenciación celular pobre. Y, finalmente, el carcinoma hepatoide, que presenta una importante población celular con características de diferenciación hepatocelular [4].



*Figura 4: Corte anatomía patológica de adenocarcinoma de páncreas donde se marca la invasión perineural. [Chen,W. Pancreas exocrine tumors ductal adenocarcinoma, NOS (not otherwise specified). 28 January 2019, 2017, October/1, <http://www.pathologyoutlines.com/topic/pancreasductal.html>]*

El sistema de calificación del adenocarcinoma pancreático se basa en una escala de 3 niveles: PDAC bien diferenciado (G1), PDAC moderadamente diferenciado (G2) y PDAC poco diferenciado (G3) [4]. Esta calificación integra la evaluación combinada de las características histológicas y citológicas, así como la actividad mitótica del núcleo celular. Desempeña un papel importante en la estratificación pronóstica de los pacientes.

Los PDAC bien diferenciados se componen de glándulas con contornos irregulares o angulares de carácter infiltrante y tamaño mediano dispuestas al azar. Las células neoplásicas son cuboidales o columnares formando una capa de una sola célula. El citoplasma suele ser eosinófilo, y los núcleos son redondos u ovalados, pudiendo llegar a ser incluso 4 veces más grandes que los no neoplásicos. Es común la colonización de los conductos normales por células neoplásicas. Las membranas nucleares son afiladas y los distintos nucléolos, generalmente 2 o más, suelen ser grandes. La invasión linfovascular, la infiltración perineural y la metástasis a los ganglios linfáticos son características muy comunes. El epitelio neoplásico puede incluso

reemplazar completamente el endotelio, recubriendo el vaso con células epiteliales bien diferenciadas.

Los PDAC moderadamente diferenciados presentan una mezcla de estructuras. Los conductos son de tamaño mediano, mientras que las glándulas son tubulares con forma y tamaño variables. Hay una mayor variación en el tamaño celular y nuclear. Además, aparecen más figuras mitóticas y la producción de mucina es menor que en el PDAC bien diferenciado. Los núcleos tienen un polimorfismo moderado.

Los PDAC mal diferenciados están formados por pequeñas glándulas irregulares, densas y compactas. Presenta láminas sólidas y nidos, así como muchas células individualizadas. La respuesta desmoplásica a la neoplasia suele ser mínima, y pueden aparecer focos de hemorragia y necrosis. Las células muestran un pleomorfismo nuclear marcado, escasa o nula producción de mucina y alta actividad mitótica. Son glándulas poco diferenciadas, áreas sólidas y patrones de células individuales [8].

#### **4- CLÍNICA Y DIAGNÓSTICO**

Las manifestaciones clínicas de estos tumores son muy inespecíficas. Los síntomas y signos que aparecen pueden ser desde dolor de espalda, ictericia, prurito, pérdida de peso hasta diabetes mellitus, hipoglucemia e hipercalcemia.

La tomografía computerizada (TC) acompañada de la reconstrucción tridimensional (3D) es actualmente la principal opción para conocer la estadificación del PDAC. La ecografía endoscópica, la resonancia magnética y la laparoscopia también se utilizan para clasificar los tumores diagnosticados y, con este último, se pueden excluir o detectar la existencia de metástasis intraperitoneales. Además de las técnicas de imagen, la determinación de los niveles de CA19-9 también es de utilidad para la estadificación del PDAC una vez ha sido diagnosticado. Sin embargo, la principal función de los marcadores tumorales es evaluar la respuesta al tratamiento [8].

El diagnóstico diferencial más importante es con la pancreatitis crónica. La característica que más fácilmente puede diferenciar al PDAC de la pancreatitis crónica alcohólica u obstructiva es la afectación generalizada de la glándula con respecto al aspecto más focal que suele presentar la tumoración [8].

#### **5- TERAPIAS CLÁSICAS**

Las opciones terapéuticas disponibles actualmente son muy limitadas y están altamente ligados al estado de la enfermedad. Recientes investigaciones han descubierto que el PDAC es capaz de desarrollar una rápida regulación de vías compensatorias al tratamiento, así como una densa reacción desmoplásica, que le permite obtener resistencia frente a las terapias ya existentes y que anteriormente habían tenido resultados [8].

Entre las terapias clásicas encontramos la cirugía, la radiación y la quimioterapia. Como terapias más innovadoras la inmunoterapia y otras terapias dirigidas.

### 5.1- Cirugía

Desde el punto de vista quirúrgico el PDAC se puede clasificar según el sistema TNM, donde T (TX, T0-T4) hace referencia al tamaño del tumor primario, N (NX y N0-N1) a la extensión hacia ganglios regionales y M a las metástasis a distancia (M0 -M1). Sin embargo, para el manejo clínico, el PDAC es dividido en 4 categorías dependiendo de la extensión del tumor:

- Resecable
- Límite resecable, en el cual se pone como límite de la extensión la vena mesentérica superior, la vena Porta y el revestimiento de la arteria gastroduodenal.
- Localmente avanzado, cuando supera estos límites.
- Metastatizado, cuando hay extensión a distancia.

La resección quirúrgica libre de márgenes microscópicamente sigue siendo actualmente la principal opción potencialmente curativa para los pacientes con cáncer de páncreas. Desafortunadamente, menos del 20% de los pacientes tienen este nivel de resecabilidad en el diagnóstico [8]. Es por ello que se debe realizar resección completa seguida de tratamiento adyuvante, pues representa la única opción curativa realista para el PDAC. No solamente se tiene en cuenta el grado de extensión del tumor a la hora de determinar la opción quirúrgica, sino que también se impone el estado general del paciente, así como la localización del tumor. Como antes se ha mencionado, el límite para determinar que un tumor sea resecable es la extensión hasta la vena mesentérica superior, vena Porta y el revestimiento de la arteria gastroduodenal. Las opciones quirúrgicas disponibles son:

- Pancreaticoduodenectomía: Se extirpa cabeza-cuerpo del páncreas junto con la porción de duodeno que le rodea y la porción distal del estómago. Se trata de una técnica actualmente segura con una baja mortalidad y morbilidad. No obstante, no carece de complicaciones postquirúrgicas.
- Pancreatectomía distal: consiste en extirpar cola, cuerpo y bazo.
- Pancreatectomía total: Es un procedimiento quirúrgico que implica al páncreas entero y órganos cercanos. Queda reservada para algunas indicaciones concretas, pues la recuperación postoperatoria es significativamente peor.
- Cirugía paliativa: consistente en stent o bypass. Puede aliviar síntomas de la obstrucción de la salida biliar y gástrica [4].

### 5.2- Quimioterapia

Una vez ha metastatizado, el pronóstico de la enfermedad es malo. En este punto, la quimioterapia es la principal opción terapéutica, sin embargo, es poco exitosa en cuanto a la mejora de las posibilidades de supervivencia de los pacientes ofreciendo beneficios marginales. En ocasiones también se combina quimioterapia con radioterapia; sin embargo, los efectos alcanzados son principalmente una tasa de supervivencia ligeramente mayor y una pequeña disminución de los síntomas relacionados con el cáncer [4]. Debido a la alta toxicidad, el estado clínico inicial del paciente en el momento del diagnóstico y el grado de extensión del tumor será el que determine el tipo de tratamiento que se llevará a cabo.

El tratamiento que se empleó inicialmente, a finales de la década de 1960, a pesar de su toxicidad, fue el **5-fluorouracilo (5-FU)**, junto con sus análogos y sus combinaciones, mostrando una eficacia moderada para mejorar la vida de los pacientes. Pero desde 1997, **la gemcitabina** ha sido aceptada como fármaco terapéutico de primera línea de referencia para pacientes con un buen estado físico. En un estudio comparativo de fase III (n = 126) con gemcitabina y 5-FU, el 23,8% de los pacientes tratados con gemcitabina experimentó una respuesta de beneficio clínico en comparación con el 4,8% de los pacientes tratados con 5-FU. La supervivencia fue de 5,6 y

4,4 meses para los pacientes tratados con gemcitabina y 5-FU respectivamente, mientras que la tasa de supervivencia a un año fue del 18% para los pacientes tratados con gemcitabina y del 2% para los pacientes con 5-FU. También se demostró que la gemcitabina mejora sustancialmente los síntomas relacionados con la enfermedad de los pacientes y en aproximadamente el 30% de los pacientes una menor toxicidad sistémica.

Recientemente se han diseñado nuevas formulaciones químicas a partir de la gemcitabina (como **CO-101** o **Aceralin**) con el objetivo de mejorar el ingreso del fármaco en las células cancerosas, así como disminuir las resistencias adquiridas por las células PDAC. Los datos obtenidos hasta ahora han demostraron que estas modificaciones aumentan la concentración intracelular de gemcitabina y garantizan la actividad del fármaco independientemente de los transportadores [8].

También se ha considerado el uso de los **taxanos** ya que pueden inhibir la división y reproducción de las células cancerosas; sin embargo, presentan una infiltración intratumoral muy insatisfactoria debido a su escasa solubilidad. Para mejorar su administración intratumoral se combinó el taxano con albúmina, dando lugar a **paclitaxel** (nab-paclitaxel, abraxane). En un ensayo de fase III (n = 861), los efectos de paclitaxel y gemcitabina en pacientes con cáncer pancreático avanzado, superaron significativamente al tratamiento con gemcitabina en monoterapia. Desafortunadamente la respuesta positiva se acompañaba de un aumento de los efectos adversos secundarios, que incluían neutropenia, leucopenia, neuropatía, neutropenia febril o fatiga [5].

Por otro lado, recientemente se ha probado una combinación de múltiples fármacos (**irinotecán, oxaliplatino, fluorouracilo y leucovorina**) llamado **FOLFIRINOX**. El efecto antitumoral se ha demostrado en un ensayo en fase I y se ha confirmado en una fase II-III, que exploró la respuesta especialmente en pacientes con cáncer de páncreas metastásico. Se ha reconocido la superioridad de FOLFIRINOX sobre la gemcitabina en la supervivencia general (11,1 frente a 6,8 meses), la supervivencia libre de progresión (6,4 frente a 3,3 meses) y la tasa de supervivencia a un año (48.8% vs. 20.6%). Se ha apreciado también una reducción del deterioro de la calidad de vida. Desafortunadamente el perfil de seguridad no ha sido tan favorable aumentando la toxicidad del tratamiento en forma de trombocitopenia, neutropenia, neutropenia febril, diarrea o alopecia. Actualmente, FOLFIRINOX es considerada como una opción de primera línea para pacientes con cáncer de páncreas avanzado y metastásico; sin embargo, su uso está restringido a pacientes menores de 75 años y con buen estado general [8]. **[VER ANEXO I]**

El objetivo de esta terapia es minimizar la carga tumoral microscópica que pueda quedar tras la resección. Se ha demostrado que la cirugía seguida de terapia adyuvante proporciona una supervivencia leve pero significativamente beneficiosa para los pacientes no metastásicos según varios estudios en fase III. En este momento, se combina la cirugía con gemcitabina y el 5-FU con quimiorradiación postoperatoria. La tasa de supervivencia mejora en un tiempo de 2 a 5 meses. Sin embargo, el retraso entre el diagnóstico y el inicio del tratamiento adyuvante, generalmente causado por la prolongada recuperación postoperatoria, puede favorecer la recidiva tumoral o la aparición de micrometástasis tempranas.

Por otro lado, el tratamiento neoadyuvante también plantea varias preocupaciones, como la progresión de la enfermedad durante el periodo preoperatorio o el aumento de las posibles complicaciones quirúrgicas.

Por ello, no ha habido consenso sobre las ventajas del tratamiento preoperatorio o postoperatorio, haciendo controvertido el uso de las terapias adyuvantes y neoadyuvantes [8].

## 6- TERAPIAS AVANZADAS

### 6.1- Terapias dirigidas

Las terapias dirigidas contra el cáncer son fármacos que bloquean el crecimiento y la diseminación del cáncer al interferir en moléculas específicas que participan en el crecimiento, el avance y la diseminación del cáncer [9].

El PDAC presenta gran variedad de mutaciones a nivel de las vías de señalización como la apoptosis, la proliferación y la diferenciación celular. Estas mutaciones resultan de gran interés, ya que, al ser conocidas, es posible elaborar tratamientos dirigidos a bloquear la acción de las proteínas que surgen de las mutaciones. De esta manera se puede aumentar la capacidad terapéutica disponible. La mayoría de tumores pancreáticos son portadores de mutaciones RAS, siendo, las más frecuentes las alteraciones en el gen KRAS o la inactivación de la quinasa dependiente de ciclina 2 (CDKN2). Otra mutación muy frecuente en los PDAC es en la proteína tumoral del gen p53 (TP53), que contribuye a la progresión maligna del tumor. Sin embargo, debido a la naturaleza heterogénea del cáncer de páncreas y las interacciones estromales complejas, la mayoría de las terapias dirigidas no están mostrando ningún beneficio clínico en comparación con el tratamiento estándar. La única excepción demostrada ha sido **erlotinib**, un inhibidor del receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR) que, en combinación con gemcitabina, mostró una mejoría moderada pero estadísticamente significativa en la supervivencia de los pacientes.

Otras estrategias de las terapias dirigidas se han centrado en el control de la angiogénesis, un proceso fundamental para el crecimiento del tumor y la metástasis. Se han iniciado muchos ensayos clínicos destinados a estudiar el bloqueo de moléculas implicadas en estos procesos, sin embargo, los agentes antiangiogénicos no exhiben resultados positivos o estadísticamente positivos. En la actualidad, se está evaluando el ensayo de fase II del nuevo agente antiangiogénico **TL-118** (NCT01509911).

Uno de los resultados más alentadores que hasta ahora se ha obtenido consiste en la inhibición de las vías JAK-STAT. La principal función de estas vías consiste en activar la migración, la proliferación y la apoptosis celular. En distintos análisis de expresión génica se observó que en el PDAC la vía JAK-STAT está sobreactivada. El tratamiento con **Capecitabina** y **ruxolitinib**, inhibidores de JAK1 y JAK2, no ha conseguido beneficios significativos en la supervivencia de pacientes. Sin embargo, mostró mejoras en el estado funcional y en el manejo del dolor en pacientes que son resistentes a la gemcitabina.

Otra posibilidad terapéutica para PDAC se centra en la ruta Poly ADP-Ribosa Polimerasa (PARP), enzimas que se activan en respuesta al daño en el ADN. Se ha demostrado que los pacientes con una vía de recombinación de ADN defectuosa pueden responder positivamente a los inhibidores de la PARP. Además, las mutaciones BRCA, también pueden ser objeto de estos compuestos. La administración de **Olaparib**, un inhibidor oral de la PARP, ha mostrado tener una actividad prometedora en diferentes tipos de cáncer que presentan mutaciones BRCA. Por ello se está probando actualmente en un ensayo de fase III para pacientes con cáncer pancreático mutado

con BRCA (NCT02184195). También se está evaluando la combinación de gemcitabina y cisplatino con otro inhibidor de la PARP que es el **veliparib** [8]. **[VER ANEXO II]**

## 6.2- Inmunoterapia

La inmunoterapia consiste en la inducción de una respuesta inmune que potencie la respuesta antitumoral que el organismo presenta frente a las células tumorales. El éxito de la inmunoterapia depende de la activación de la inmunidad en las células T de un modo potente y duradero en el tiempo [10]. Esta opción terapéutica ha demostrado ser extremadamente efectiva en diferentes tipos de cáncer en etapas avanzadas. Sin embargo, los resultados obtenidos en ensayos con inmunoterapia en PDAC han sido contradictorios. La naturaleza poco inmunológica del tumor, el privilegio inmunitario, el complejo microentorno tumoral y la plasticidad genética de las células, podrían explicar estos resultados tan poco exitosos de la inmunoterapia en el PDAC.

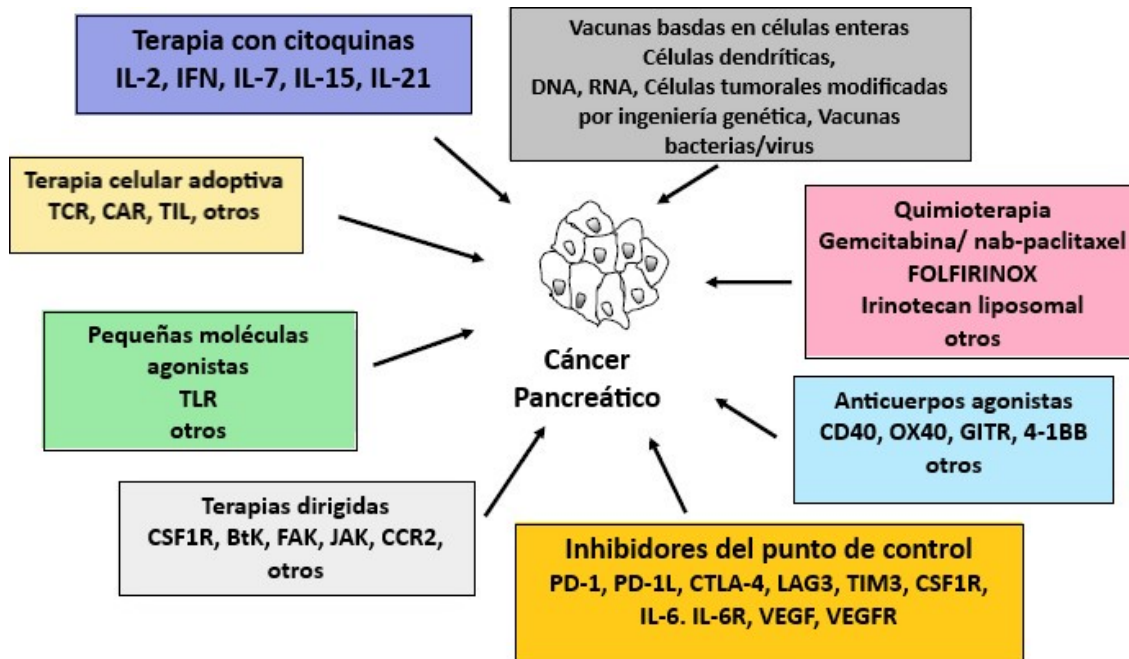
El privilegio inmunológico se entiende como la capacidad por parte de las células tumorales de bloquear la respuesta desencadenada por las células T específicas frente al antígeno tumoral; es decir, es capaz de producir una tolerancia inmunológica hacia el tumor [11]. Otro de los factores críticos para el éxito de la inmunoterapia es el microentorno tumoral constituido por el estroma que contiene matriz extracelular, fibroblastos, células estrelladas pancreáticas, células inmunorreguladoras y células endoteliales. Este microentorno constituye el 90% de los componentes del tumor, mientras que el 10% restante de los componentes son las células cancerosas [12]. El estroma forma una barrera natural que promueve un entorno hipóxico, rico en células inmunosupresoras y citoquinas, proporcionando el carácter de baja inmunogenicidad y no inflamatorio. Este microambiente inmunosupresor es importante para la progresión del tumor y la resistencia al tratamiento quimioterapéutico.

Además de las características ya mencionados, algunos mecanismos que facilitan el escape de las células cancerosas del reconocimiento del sistema inmunológico y por tanto participan en la inmunomodulación son:

- La expresión abundante del ligando programado de muerte 1 (PD-L1) que induce la apoptosis de células T y evade la reacción inmune.
- La liberación de interferón gamma (IFN- $\gamma$ ), un mediador de la activación inmune y el cual produce un incremento en la expresión de PD-1, receptor del ligando de muerte programada que induce la apoptosis de los linfocitos T. Esto sugiere que las células cancerosas pueden contrarrestar la respuesta inmune a través de vías compensatorias minimizándola.
- Las células PDAC secretan el factor estimulante de colonias de granulocitos y macrófagos (GM-CSF) que favorece la infiltración de células derivadas de mieloides en el microentorno del tumor.
- La presentación de antígenos a través de células dendríticas es crucial para una respuesta eficaz de las células T antitumorales. Sin embargo, se encuentra una escasez y discapacidad de las mismas en el microambiente tumoral, al igual que en circulación.

En conjunto, el conocimiento de estos mecanismos, respalda que el empleo de la inmunoterapia en el cáncer pueda resultar un método eficaz [11].

En cuanto a su aplicación en el cáncer de páncreas se puede centrar en el uso de: inhibidores del punto de control, vacunas frente a péptidos, vacunas basadas en células enteras y transferencia de células adoptivas (Fig 5).



**Figura 5:** Estrategias inmunoterapéuticas para el tratamiento de PDAC. [Beatty,G.L.; Eghbali,S.; Kim,R. Deploying Immunotherapy in Pancreatic Cancer: Defining Mechanisms of Response and Resistance. American Society of Clinical Oncology, 2017, 8, 112, 267-279]

### 6.2.1.- Inhibidores del punto de control

Las moléculas del punto de control son proteínas, producidas por el tumor, que proporcionan señales negativas a las células T para limitar su expansión y actividad efectora en los tejidos. La interrupción de estas señales mediante el uso de anticuerpos bloqueadores ha demostrado un éxito notable en la estimulación de la inmunidad antitumoral de los linfocitos T favoreciendo la eliminación de las células tumorales [10].

La primera generación de anticuerpos que ha aparecido, funciona bloqueando las interacciones del receptor y/o ligando de moléculas como CTLA-4 y PD-1. Existen vacunas dirigidas contra PD-1 que como ya se ha mencionado antes, es el receptor de muerte programada que induce la apoptosis de los linfocitos T. También está en curso anticuerpos dirigidos contra la proteína 4 asociada a los linfocitos (CTLA-4). Sin embargo, los ensayos clínicos de monoterapias anti-PD-1 /PD-L1 (**BMS-936559, pembrolizumab, nivolumab y atezolizumab**) y anti-CTLA-4 (**ipilimumab**) no han mostrado efectos significativos en los pacientes con PDAC avanzado [12]. A pesar de ello, algo destacable en su uso, son los buenos perfiles de seguridad y toxicidad, lo que lleva a seguir teniendo interés en continuar investigando con estos anticuerpos.

Otra vía de investigación para futuros tratamientos inhibidores del punto de control son los antagonistas de CXCR4. Existen hallazgos adicionales que han sugerido que pueden ser efectivos para aumentar la infiltración de linfocitos T antitumorales en la región del tumor [11].

Por otro lado, el receptor 2 del factor de crecimiento endotelial vascular (VEGFR2) representa un regulador crucial en la conducción de la angiogénesis tumoral. El VEGFR2 junto con las células T reguladoras (Treg) muestran una actividad altamente inmunosupresora en el microambiente tumoral. Además, el VEGFR2 inhibe la maduración de las células dendríticas y aumenta la tolerancia inmune. Un estudio de fase I que combina anti-VEGFR2-169 con gemcitabina en PDAC avanzado demostró una tasa de control de la enfermedad del 67% y 8,7 meses de tiempo de supervivencia global promedio [12].

Si bien la actividad del inhibidor del punto de control como agente único ha sido mínima, los enfoques combinatorios con otros agentes inmunomoduladores como la quimioterapia, vacunas o radiación han demostrado ser prometedores [10]. Algunos de los más destacados son:

1. Actualmente se están esperando resultados de distintos ensayos clínicos que ha evaluado por ejemplo la combinación de **durvalumab** con **tremelimumab** (anticuerpos anti-PD-L1, anti-CTLA4) (NCT02558894), así como la combinación de **pembrolizumab**, **nivolumab**, con **FOLFIRINOX**, **gemcitabina**, y **Nab- paclitaxel**, en estudios de fase temprana para valorar la seguridad y eficacia (NCT02309177).
2. Así mismo, en la fase I/II del ensayo NCT02331251, 17 pacientes con PDAC metastásico fueron tratados con la combinación de **gemcitabina**, **nab-paclitaxel** y **pembrolizumab**. Si bien el estudio no cumplió con el punto final de la fase II del 15% de respuesta completa, entre los 11 pacientes evaluables para la respuesta, la tasa de control de la enfermedad fue del 100%. La mediana de supervivencia libre de progresión y la supervivencia generalizada fueron de 9,1 y 15 meses para los pacientes con PDA sin tratamiento previo.
3. Wainberg et al. han publicado los resultados preliminares de un estudio de fase I de **nivolumab** más **gemcitabina** y **nab-paclitaxel** en pacientes con PDAC metastásico [13]. La tasa de control de la enfermedad se logró en el 55% de los pacientes en el brazo A y en el 100% de los pacientes en el brazo B. Los pacientes continúan la inscripción en la parte B de este estudio.
4. Por otro lado, los investigadores que lideran el ensayo RAD-VAX de la Universidad de Pennsylvania están tratando de evaluar si el efecto abscopal, un fenómeno en el que la radiación local está asociada con la regresión del cáncer metastásico lejos del área radiada, puede ser empleado en pacientes con PDAC. Este efecto podría aumentar el efecto de la inmunoterapia y varios ensayos están centrados en ese enfoque. Por ejemplo, **pembrolizumab** en combinación con **radioterapia hipofraccionada** en PDAC avanzado (ensayo RADVAX, NCT02303990) [11]. En otro estudio los pacientes de una cohorte recibieron 24 Gy en 3 fracciones de **radiación estereotáxica** junto a **durvalumab** y **tremelimumab**. Por otro lado, los pacientes de la otra cohorte del estudio recibieron 17 Gy en una sola fracción de la radiación estereotáxica junto con durvalumab y tremelimumab. Se han descrito la existencia de casos regresión del tumor en los pacientes que recibieron la radioterapia estereotáxica progresiva [13]. Sin embargo, el ensayo sigue en curso, por lo que todavía hay que esperar a los resultados para llevar a cabo conclusiones.

5. Se ha visto que la CXCR2 (receptor de quimiocinas C-C tipo 2) es una molécula implicada en el reclutamiento de células supresoras derivadas de mieloides que también puede potenciar la inmunidad tumoral activando los macrófagos asociados a tumores. Un estudio reciente de fase Ib evaluó **PF-04136309**, un inhibidor de CXCR2, combinado con **FOLFIRINOX** en PDAC con características en el límite para ser reseccable y en PDAC localmente avanzado. Los autores informaron el uso seguro de PF-04136309 en combinación con FOLFIRINOX, y se objetivó una respuesta tumoral mejorada en el brazo experimental en comparación con FOLFIRINOX en monoterapia, presentando además mejor control de la enfermedad en un 97% frente al 80%. Sin embargo, el pequeño tamaño del estudio excluye las conclusiones definitivas.
6. La actividad inhibida deIDO (enzima indoleamina 2-3 deoxigenasa) produce aumento en la respuesta de las células T específicas de tumores y reduce la conversión a células similares a Treg. Se evaluó la combinación de **indoximol**, un inhibidor deIDO, con **gemcitabina** y **nab-paclitaxel** en pacientes sin tratamiento con PDAC metastásico. Los resultados provisionales de este estudio mostraron una respuesta objetiva en el 37% de pacientes, incluida una respuesta completa, que sugiere que puede haber un papel aditivo para el uso de inhibidores deIDO en combinación con quimioterapéuticos [11].
7. Finalmente, la evidencia preclínica sugiere que la inhibición de laHDAC (histona deacetilasa) contribuye a tres acciones: aumenta la presentación de MHC de clase I, disminuye la expresión de PDL1 y disminuye la actividad de la ornitina descarboxilasa. De esta manera crea una posible oportunidad sinérgica para combinarla con los inhibidores del punto de control. **Entinostat**, un inhibidor deHDAC I y III, se está combinando con **nivolumab** en un estudio en curso de fase II en pacientes con PDAC avanzado [NCT03250273] [13].

A la vista de los resultados obtenidos en los ensayos clínicos anteriores aún no hay nada determinante. Sin embargo, estas combinaciones entre la quimioterapia, la radioterapia y la inmunoterapia podría ser una de las claves para poder llegar a encontrar las respuestas terapéuticas esperadas.

### 6.2.2- Vacunas basadas en péptidos

La inmunoterapia basada en vacunas tiene como objetivo provocar respuestas inmunitarias pasivas mediante la administración de antígenos específicos [11]. Las células cancerosas son capaces de expresar antígenos potencialmente inmunogénicos debido a mutaciones que crean neoepítomos o simplemente debido a la expresión aberrante de ciertas proteínas. En las vacunas basadas en péptidos, la activación inmune contra el cáncer se genera a través de antígenos predeterminados específicamente [12].

1. La **CRS-207** es una vacuna que se compone de la bacteria *Listeria monocytogenes* viva doblemente atenuada y que en su superficie expresan mesotelina humana. La mesotelina es un péptido sobreexpresado en varios cánceres y se está evaluando como posible antígeno diana. Este antígeno tiene la capacidad de inducir en células T CD8+ innatas respuestas inmunes adaptativas mejorando los efectos antitumorales en el PDAC metastásico. Sin embargo, los resultados obtenidos en estudios en fase IIb en el que se combinaba **ciclofosfamida** con **GVAX** y **CRS-207** en pacientes con PDAC

metastásico previamente tratados no mostró una ventaja de supervivencia global en comparación con la quimioterapia [10].

2. Otra molécula que se ha considerado como un potencial objetivo de los fármacos contra el cáncer es la **telomerasa**, una ribonucleo-proteína sobreexpresada en 85-90% de los casos de cáncer de páncreas, y la **telomerasa transcriptasa inversa humana** (hTERT). **GV1001** es un péptido hTERT de 16 aa con capacidad para penetrar en las células y que facilita la activación de MHC mediada por la respuesta de célula T específicas. Una vacuna de **péptido telomerasa** podría interactuar con una variedad de moléculas HLA-clase II, provocando así las respuestas de los linfocitos T helper comúnmente encontradas en pacientes vacunados. Sin embargo, en un reciente ensayo de fase III, en el que tenía lugar la combinación de péptido telomerasa con quimioterapia, no se observó ninguna mejora en los resultados de supervivencia [7]. En otro ensayo de fase I / II de PDAC no resecable, se evaluaron diferentes dosis de **GV1001** combinadas con **GM-CSF** (factor estimulante de colonias de granulocitos y macrófagos) para determinar la respuesta inmune y la supervivencia en pacientes con PDAC no resecable. La supervivencia media para el grupo de dosis intermedia fue significativamente más larga que la que resultó en los grupos de dosis baja y alta [12].
3. Por otro lado, está la gastrina, una hormona que se expresa en el páncreas fetal en desarrollo; sin embargo, la expresión de gastrina a nivel pancreático desaparece y se expresa nuevamente en la neoplasia intraepitelial pancreática (PanIN). La vacuna **antigastrina-17** (G17DT) es bien conocida como un inmunógeno de gastrina con una proteína transportadora del toxoide de la difteria (DT) y desempeña un papel importante en la regulación del microentorno del tumor. Dos ensayos clínicos aleatorios mostraron una mejor supervivencia en pacientes a los que se les administró la vacuna en comparación con el placebo. Sin embargo, la administración combinada de **G17DT** con **gemcitabina** mostró una supervivencia inferior en comparación con la gemcitabina más placebo.
4. Se sabe que la **mutación de KRAS** desencadena la formación de la neoplasia intraepitelial pancreática haciendo que progrese hacia el desarrollo de PDAC. Los péptidos de KRAS mutantes se expresan y se presentan como antígenos extraños por ambas moléculas MHC de clase I o II, haciéndose accesibles para las células T citotóxicas. Se aprovecha estos péptidos para hacer una vacuna sintetizada de forma personalizada a la mutación correspondiente y se inyectan al paciente para inducir la respuesta inmune. Desafortunadamente, el uso inicial de la vacuna indujo una respuesta transitoria de linfocitos T, pero no proporcionó beneficios clínicos. La combinación con **GM-CSF** en el tratamiento adyuvante dio una tasa de respuesta del 58% y una mediana de supervivencia más prolongada de los respondedores que los no respondedores (148 días frente a 61 días, respectivamente). También se observó que la supervivencia de los pacientes resecables fue mejor que la de los pacientes no resecables en una Fase I / II de la prueba. Algunos estudios con seguimiento a largo plazo demostraron que el 85% de los pacientes tuvieron una buena respuesta inmunitaria con una supervivencia media de 28 meses. La supervivencia a 10 años fue del 20% frente a la ausencia de supervivientes en una cohorte no vacunada [11].

Al igual que ocurre con los inhibidores del punto de control, son terapias cuya investigación está todavía en fases muy iniciales, los ensayos están en fases de desarrollo. Además, la muestra del tipo paciente con los que se está realizando los ensayos no representan la totalidad de los estados en los que los enfermos de cáncer de páncreas pueden estar como para llegar a conclusiones claras.

### 6.2.3- Vacunas basadas en células enteras

Los estudios recientes de vacunas basadas en células enteras constituyen una gran promesa para el tratamiento del cáncer. Esta estrategia consiste en el empleo de células dendríticas que presentan la maquinaria completa para el procesamiento y presentación eficiente del antígeno en conjunto de las moléculas coestimuladoras. Estas células son capaces de movilizarse hacia los tejidos linfoides y activar tanto linfocitos T helper como linfocitos T citotóxicos. La vacuna basada en células dendríticas implica la carga de estas células con antígenos conocidos y específicos del tumor, péptidos antigénicos, ADN o ARN aislado del tumor [14].

En un estudio de fase I/II, 12 pacientes que se sometieron a resección quirúrgica recibieron células dendríticas autólogas pulsadas con **Mucin1** (MUC1) como terapia adyuvante. Aproximadamente el 25% tuvieron una supervivencia sin enfermedad de 4 años [11]. Se observaron fluctuaciones en las células CD4 $\beta$  y CD8 $\beta$  circulantes antes y después de las vacunaciones, lo que sugiere una regulación negativa en tiempo real de las células T activadas.

El **tumor de Wilms 1** (WT1) es un péptido mutado expresado en varios cánceres, incluido el PDAC, que se ha utilizado para sensibilizar a las células efectoras. Se diseñaron células dendríticas para presentar WT1 a través del sistema MHC clase I, II o I/II (modelo combinado) y se observó una mejor respuesta clínica con el modelo combinado MHC clase I/II que se asoció con un aumento de la reacción de hipersensibilidad retardada. Cuando se combina con **gemcitabina** también parece ser un enfoque seguro en pacientes con PDAC en estadio avanzado.

### 6.2.4 - Terapia celular adoptiva

Se trata de un tipo de inmunoterapia en la que se administran células T. Estas células se extraen de la sangre o el tejido tumoral del paciente, se produce una gran cantidad de copias en el laboratorio y se devuelven al paciente. En ocasiones, se crean clones de células T que se modifican en el laboratorio para mejorar su capacidad de dirigirse a las células cancerosas del paciente y destruirlas. Los tipos de terapia celular adoptiva incluyen la terapia de células T con receptor de antígeno quimérico (terapia de células T con CAR) y la terapia con linfocitos infiltrantes tumorales (LIT).

1. El **GVAX** está compuesto por células tumorales modificadas genéticamente a líneas celulares alogénicas que secretan como citoquina el factor estimulante de colonias de granulocitos y macrófagos (GM-CSF). GVAX estimula las células madre para producir granulocitos, monocitos y promueve la actividad citolítica contra las células tumorales [12].
  - a. Un estudio fase I de este enfoque terapéutico en PDAC mostró un perfil favorable para mejorar la inmunidad antitumoral. Sin embargo, uno de los desafíos más comunes observados en los ensayos clínicos es la infiltración compensatoria de las Tregs en el microambiente tumoral que conduce a respuestas inmunes no duraderas. Las Tregs son linfocitos T que regulan o

suprimen a otras células del sistema inmunitario controlando la respuesta inmunitaria. Por ello, en otro estudio de seguridad en fase I se combina **GVAX** con **ciclofosfamida** mejorando los datos de supervivencia a 4.3 meses frente a los 2.3 meses observados en las monoterapias de GVAX.

- b. En otro ensayo se combinó las células de la vacuna con **quimiorradiación** basada en 5-FU, mejorando los resultados clínicos en pacientes con PDAC resecaos. Este enfoque se desarrolló aún más en un ensayo clínico con la adición de **CRS-207** para estimular la respuesta del sistema inmunológico. Se iniciaron simultáneamente varios ensayos clínicos en los que se comparaba la combinación de ciclofosfamida (CY) y GVAX seguido de cuatro dosis de CRS-207 frente a seis dosis de ciclofosfamida y GVAX solo. Los autores reportaron una mejor valoración general de supervivencia en el brazo A (6.1 versus 3.9 meses). Además, se encontró que la presencia de **CRS-207** mejoraba el curso de la respuesta en ambos grupos [11].
- c. Otro ensayo de fase IIb (ECLIPSE) sobre pacientes previamente tratados con un PDAC avanzado, se inscribieron tres brazos para recibir **Ciclofosfamida, GVAX y CRS-207** versus **CRS-207 solo** versus la **elección del médico de quimioterapia** de agente único. Los resultados fueron decepcionantes observándose falta de eficacia para la combinación de CRS-207, ciclofosfamida y GVAX, comparado con quimioterapia sola [11].
- d. Actualmente se está examinando el uso de **ciclofosfamida, GVAX** y 6 dosis de **CSR-207** en combinación con **quimioterapia** y los **inhibidores del punto de control** para tratamientos neoadyuvantes (NCT02451982) [10].
- e. Por otro lado, se propuso la combinación de **CRS-207 y GVAX** con **ciclofosfamida** y **nivolumab** en pacientes con PDAC en el estudio STELLAR. En este ensayo en fase III, los pacientes metastásicos en segunda línea de tratamiento están siendo evaluados para determinar la supervivencia general. Los resultados están pendientes de ser publicados [13].

También se ha investigado los potenciales beneficios de GVAX en PDAC en distintos contextos clínicos: en entorno neoadyuvante, adyuvante, en la enfermedad localmente avanzada... Se objetivó tener entorno seguro y señales potenciales para mejores resultados cuando se combinó GVAX en individuos que recibieron después de 8-10 semanas de cirugía, seguido de **quimiorradiación** basada en **5-FU**.

2. **Algenpantucel-L** es una vacuna compuesta por dos líneas de células irradiadas alogénicas humanas modificadas para expresar alfa-1,3-galactosil transferasa murina (alfa GT), que conduce a la síntesis de residuos de alfa- Galactosil (alfa-Gal) en su superficie celular. Las células de la vacuna median en el rechazo hiperagudo y la fagocitosis para reforzar la respuesta inmune contra el cáncer a través de las células con expresión de alfa- Gal. Un estudio en fase II con **algenpantucel- L** además de **quimiorradioterapia** adyuvante estándar informó que la supervivencia libre de enfermedad a los 12 meses fue del 62% y que la supervivencia general a los 12 meses fue de 86%. Sin embargo, los ensayos aleatorios de fase III no mostraron diferencias de supervivencia general entre la quimiorradioterapia con o sin algenpantucel (30,4 meses en el control frente a 27,3 meses en el grupo de tratamiento) [12].

3. Por otro lado, se han estudiado **las células T citotóxicas reactivas a MUC1** en pacientes con PDAC. 8 pacientes con PDAC no resecable y 20 con PDAC resecable recibieron una infusión de células T reactivas a MUC1 que se expandieron ex vivo. Los primeros resultados mostraron una reducción en la recurrencia hepática con el tratamiento adoptivo con células T. Sin embargo, el tiempo medio de supervivencia fue similar al de los controles históricos y fue de 17.8 meses en pacientes que se sometieron a cirugía curativa con tasa de supervivencia de 1,2 y 3 años de 83.3%, 32.4% y 19.4%, respectivamente.
4. Los **linfocitos Natural Killer** inducidos por citoquinas que se dirigen a CD133 a través de anticuerpos biespecíficos también pueden prometer una mayor inmunidad tumoral al atacar selectivamente a más clones tumorigénicos. **[VER ANEXO III]**

El fracaso observado en los distintos estudios planteados para el tratamiento con terapia celular adoptiva se puede entender por la existencia de la barrera estromal en el microentorno del tumor provocando el agotamiento de las células T. Sin embargo, es importante remarcar que las señales inhibitorias acumulativas orquestadas por el estroma tumoral pueden ser una amenaza para el futuro de las terapias de células T adoptivas. Es por ello que el nuevo planteamiento terapéutico se debe centrar en células T adoptivas que superen el agotamiento progresivo mediante la modificación de sus señales inhibitorias [10].

## **7- MODELOS PRECLÍNICOS 3D PARA EL PDAC**

Como se ha mencionado anteriormente, el PDAC es uno de los tumores malignos más letales en la actualidad. Esto es debido, principalmente, a las complejas interacciones existentes entre los distintos tipos celulares que forman parte del tumor, y a la prominente reacción desmoplásica (acumulación de un tejido fibrótico muy denso) que el tumor es capaz de producir. De esta manera el tumor puede progresar y desarrollar resistencia a los tratamientos [15].

Durante los últimos años, se ha demostrado que los sistemas de cultivo celular tradicionales en monocapa no pueden recrear estas características de manera óptima. Este hecho hace que las pruebas preclínicas de los medicamentos no sean capaces de predecir la realidad terapéutica a la que posteriormente se enfrentan cuando se emplean en los pacientes.

En consecuencia, se han desarrollado nuevos modelos tridimensionales que intenta reproducir las condiciones tumorales de una forma más fidedigna. Estos nuevos sistemas basados en cultivos tridimensionales permiten reproducir la comunicación entre los diferentes tipos de células que componen el tumor, así como imitar el microentorno y el medio inmunosupresor de una forma más parecida a la real, al recrear una estructura en las tres dimensiones del espacio [16].

Otra de las ventajas que ofrecen estos modelos es que proporciona una alternativa a los modelos de experimentación animal, superando las barreras éticas que éstos han supuesto para los investigadores durante muchos años.

### **7.1- Metodología para el desarrollo de los modelos preclínicos 3D**

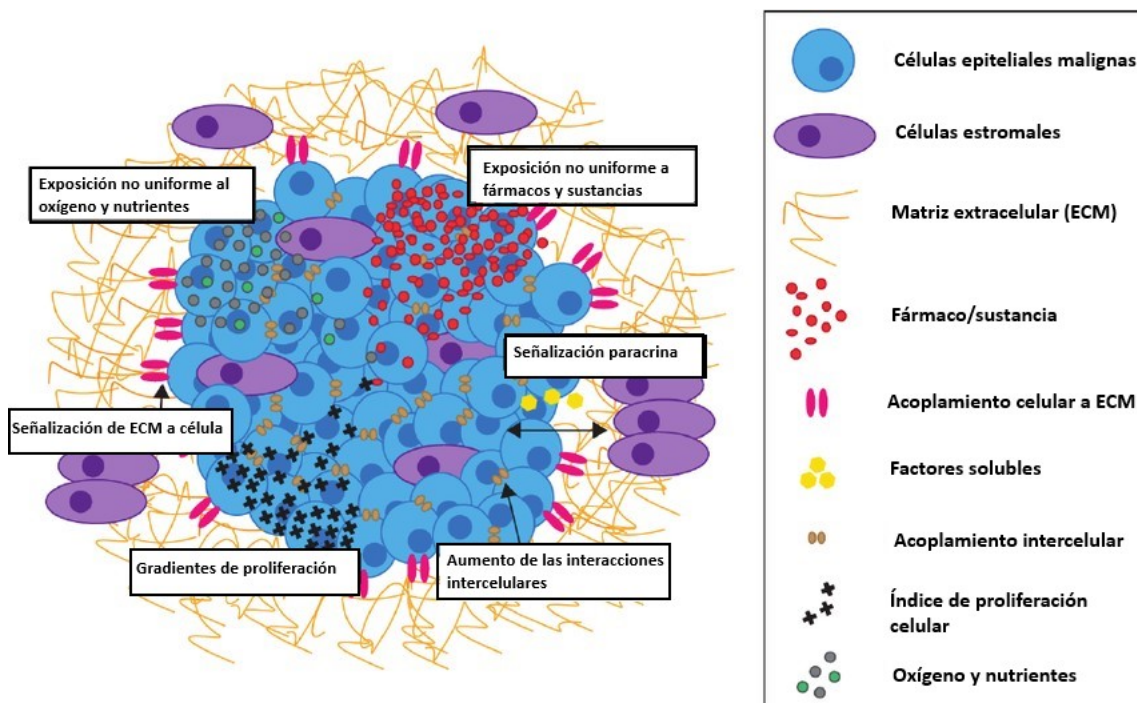
El desarrollo de estos modelos se inicia mediante la incorporación de materiales que proporcionen la arquitectura en 3D de estos sistemas. El empleo de matrices sólidas, como los

hidrogeles naturales (colágeno tipo I o fibronectina) y los polímeros, logran proporcionar un correcto entorno de soporte a las células. Además, el empleo de estas proteínas presentes en el medio extracelular agrega un mayor valor biológico a los modelos.

La agrupación de células cancerígenas recibe el nombre de esferoides. Se demostró que los esferoides hechos de células solo no permitían imitar adecuadamente la complejidad in vivo del PDAC [15]. Por ello, tras la elección de estas matrices, se incorporan las células cancerígenas dando lugar a los organoides. Estos modelos son capaces de reproducir algunos aspectos de los tumores primarios:

- El colágeno tipo I permite recrear la reacción desmoplásicas del estroma tumoral y modular las propiedades físicas de la matriz extracelular.
- La organización de las células en capas con diferente tasa de proliferación participa en la formación de gradientes de nutrientes, oxígeno y desechos metabólicos.
- Las interacciones celulares y las vías de señalización tienen lugar en las tres dimensiones del espacio.

La mejora y el desarrollo de nuevos modelos 3D incorpora más componentes propios del estroma [15]. La construcción de organoides más evolucionados se realiza añadiendo otro tipo de células presentes en el microentorno tumoral como fibroblastos (CAF), macrófagos asociados al tumor (TAM) y finalmente células endoteliales (HUVEC) [7]. Se establece así un modelo de triple co-cultivo más complejo. La presencia de CAF y TAM están implicados en la resistencia terapéutica [16]. Estos modelos ya son capaces de recrear con mayor precisión la invasión, la inmunotolerancia, la progresión y capacidad metastásica de los tumores [17].



**Figura 6:** Representación gráfica de un organoide con los elementos que lo constituyen. [Lovitt,C.J.; Shelper,T.; Avery,V.M. Advanced Cell Culture Techniques for Cancer Drug Discovery. *Biology*, 2014, 3, 2, 345-367]

Una de las principales ventajas de los sistemas es la sencillez y la espontaneidad con la que se puede crear “ex vivo” la histología del tumor primario del cual derivan las células. La presencia de los CAF y TAM hace que no sea necesario incorporar factores de crecimiento exógenos, pues son ellos los que proporcionarán los que habitualmente hay en el microambiente [16]. Además, se sabe que las interacciones celulares entre las células PDAC, los CAF y los TAMs guían la angiogénesis (Fig 6) [7].

Las células tumorales que conforman el esferoide pueden tener doble procedencia: a partir de líneas celulares comerciales (Panc-1 o HPAC, por ejemplo) o células tumorales procedentes del propio paciente. El origen de las células tumorales de pacientes puede proceder de muestras de resección quirúrgica, así como de biopsias con aguja fina. En estos cultivos se pueden observar las alteraciones alélicas de las mutaciones propias de cada individuo [20].

Los organoides derivados de pacientes pueden ser introducidos en los enfoques de medicina de precisión. Son muy adecuados para el desarrollo de pruebas terapéuticas preclínicas, incluida la selección terapéutica de alto rendimiento. Esto abre la posibilidad de que dichos cultivos puedan utilizarse para identificar las terapias más eficaces para cada paciente de una forma individualizada [16].

### **7.2- Hallazgos en modelos preclínicos 3D**

En la actualidad ya se han llevado a cabo algunos descubrimientos en estos modelos 3D sobre el verdadero comportamiento que el PDAC tiene a la hora de desarrollar la inmunotolerancia.

Kuen et al. han sido capaces de identificar algunos mecanismos que inducen la inmunosupresión en el microambiente tumoral. La formación del co-cultivo 3D incluyó células cancerígenas, CAFs y monocitos. Utilizando este modelo analizaron la influencia de las células tumorales y fibroblastos sobre los monocitos. Vieron que las células pancreáticas y los fibroblastos inducen la producción de citoquinas capaces de promover la polarización hacia macrófagos M2, así como a células mieloides supresoras. La función inmunosupresora de estas células fue demostrada por su habilidad para inhibir a los Linfocitos T CD4+ y CD8+. La Arginasa es una enzima que podría revertir este proceso al bloquear la polarización de los monocitos a macrófagos M2 [7].

Tiriac et al. han demostrado la gran heterogeneidad de respuestas a los distintos agentes quimioterapéuticos que pueden existir gracias a los organoides derivados de pacientes con cáncer de páncreas. Encontraron que los perfiles terapéuticos observados en los organoides derivados de los pacientes son paralelos a los resultados del paciente y que además permiten realizar una evaluación longitudinal en el tiempo de la quimiosensibilidad. También propusieron estrategias de tratamiento alternativas para los pacientes refractarios a la quimioterapia mediante el uso de perfiles terapéuticos de agentes dirigidos. Proponen la combinación de perfiles moleculares y terapéuticos de PDO puede predecir la respuesta clínica y permitir la selección terapéutica prospectiva [20].

## Conclusión

El desarrollo de los nuevos tratamientos, como las terapias dirigidas y la inmunoterapia, han supuesto una gran mejora a la hora de afrontar los distintos cánceres. Son métodos que están resultando ser eficaces y que presentan perfiles de seguridad muy buenos mejorando la calidad de vida para el paciente con respecto a los efectos adversos de la cirugía, la quimioterapia o la radioterapia.

En el PDAC hasta el momento no se han obtenido los resultados que se habían esperado de estas nuevas terapias. No obstante, debido a los resultados iniciales que se están observando en los distintos ensayos clínicos, todavía se consideran vitales para regular la actividad antitumoral en el cáncer de páncreas. Muchos de estos ensayos siguen en curso y por ello no hay resultados concretos. En ellos se están combinando las estrategias descritas hasta el momento como la quimioterapia, radioterapia, la terapia dirigida y los distintos tipos de inmunoterapia.

Una de las principales razones por las que se produce la resistencia terapéutica es debido a la existencia de la barrera estromal y del microentorno del tumor. Por ello el nuevo enfoque se está centrando en desarrollar terapias destinadas a eliminar esa barrera, para posteriormente combinarlo con los tratamientos que ya se disponen. A diferencia de otros tipos de neoplasias, la inmunidad pasiva es más crucial y actúa como un potenciador para el cáncer pancreático. Este tipo de inmunidad permite transformar el microentorno del tumor despertando la inmunovigilancia y la inmunoedición.

Para poder progresar en estos aspectos es fundamental que continúe el proceso de investigación y esto se consigue con el desarrollo de los modelos de cultivo más complejos que permiten recrear el microentorno tumoral. En ellos, no solamente se podría buscar una mejor respuesta terapéutica para el PDAC sino que, gracias a la mayor comprensión que sobre el comportamiento del tumor proporciona, sirva de base para desarrollar sistemas de detección precoz de la enfermedad.

Cabe destacar dentro del desarrollo de estos modelos, que con los organoides derivados de pacientes se está iniciando una nueva era de medicina personalizada. Una nueva línea de trabajo será introducir en los protocolos clínicos ya existentes estos nuevos modelos preclínicos para seleccionar el tratamiento más efectivo contra cada tumor concreto.

## Anexo I

Tratamiento	Fase Ensayo Clínico	Número de Pacientes	Tipo de pacientes	Nombre del ensayo	Referencia bibliográfica
Gemcitabina Vs 5- Fluorouracilo	III	126	NA	NA	8
Paclitaxel + gemcitabina	III	861	PDAC avanzado	NA	5
FOLFIRINOX	II/III	342	PDAC metastásico	NA	8

\*NA: No Aportado

## Anexo II

Tratamiento	Fase Ensayo Clínico	Número de Pacientes	Tipo de pacientes	Nombre del ensayo	Referencia bibliográfica
Erlotinib + gemcitabina	III	160		NCT00366457	8
TL-118	II	99	PDAC metastásico	NCT01509911	8
Capecitabina + Ruxolitinib	II	127	NA	NCT02646748	8
Gemcitabine + cisplatino + veliparib	III	145	PDAC con mutaciones BRCA	NCT02184195	8

\*NA: No Aportado

## Anexo III

Tratamiento	Fase Ensayo Clínico	Número de Pacientes	Tipo de pacientes	Nombre del ensayo	Referencia bibliográfica
anti-VEGFR2-169 + gemcitabina	II/III	159	PDAC no reseccable PDAC metastásico	NCT00622622	12
Durvalumab + tremelimumab	II	65	PDAC metastásico	NCT02558894	10
Pembrolizumab + nivolumab + FOLFIRINOX + gemcitabina + Nab- paclitaxel	I	114	PDAC metastásico	NCT02309177	10
Gemcitabina + nab-paclitaxel+ pembrolizumab	I/II	17	PDAC metastásico	NCT02331251	10
Nivolumab + gemcitabina+ nab-paclitaxel	I	17	PDAC metastásico	NCT02309177	13
Pembrolizumab + Radioterapia	I	60	PDAC avanzado	RADVAX	11
Radiación estereotáxica + durvalumab + tremelimumab	II	70	PDAC metastásico	NCT03482102	13
PF-04136309 + FOLFIRINOX	Ib	48	PDAC reseccable PDAC localmente avanzado	Nywening et al.	11
Indoximo + gemcitabina + nab-paclitaxel	I/II	157	PDAC metastásico	NCT02077881	11
Entinostat + nivolumab	II	54	PDAC avanzado	NCT03250273	13
CRS-207 + GVAX + ciclofosfamida	IIb	93	PDAC metastásico	NCT01417000	10
GV001 + gemcitabina	III	63	PDAC no reseccable	NCT00425360	10
GV1001 + GM-CSF	I/II	12	PDAC no reseccable	NCT01410968	12
Antigastrina-17 + gemcitabina	III	103	PDAC avanzado	NCT03200821	12
KRAS + GM-CSF	I/II	32	PDAC reseccable	NCT02261714	11

GVAX + ciclofosfamida	II	87	PDAC resecable	NCT00727441	13
GVAX+ 5-FU + CRS207 + ciclofosfamida	II	303	PDAC metastásico	NCT02004262	11
GVAX + CRS-207 + ciclofosfamida Vs CRS-207 monoterapia Vs CRS-207 + Qt	IIb	2000	PDAC Avanzado	ECLIPSE	11
GVAX + ciclofosfamida+ CRS-207 + Qt + Nivolumab + Urelumab	II	75	PDAC resecable	NCT02451982	10
GVAX + CRS-207 + ciclofosfamida + nivolumab	III	883	PDAC metastásico	STELLAR	13
Algenpantucel-L + Qt	III	197	PDAC resecable	IMPRESS	10
MUC1	I	35	PDAC no resecable PDAC resecable	Kondo et	10

\*NA: No Aportado

## Bibliografía

- 1- John E. Hall, P.D. Tratado de Fisiología Médica. Guyton & Hall. 2011, Elsevier Saunders, S.L., España, Duodécima edición.
- 2- Pié Juste, Juan. "Fisiología sistema endocrino. Páncreas endocrino". Fisiología IV. Universidad de Zaragoza. 20 marzo 2014.
- 3- American Society of Clinical Oncology. 2018, 05, <https://www.cancer.net/es/tipos-de-cancer/cancer-de-pancreas/introduccion>
- 4- Luchini, C.; Capelli, P.; Scarpa, A. Pancreatic Ductal Adenocarcinoma and Its Variants. Surgical Pathology, 2016, 9, 547-560
- 5- Foucher, E.; Ghigo, C.; Chouaib, S.; Galon, J.; Iovanna, J.; Olive, D. Pancreatic Ductal Adenocarcinoma: A Strong imbalance of Good and Bad immunological Cops in the Tumor Microenvironment. Frontiers in Immunology, 2018, 9, 1044
- 6- Ilic, M.; Irena Ilic, I. Epidemiology of pancreatic cancer. World Journal of Gastroenterology, 2016, 22, 44, 9694-9705
- 7- Kuen, J.; Darowski, D.; Kluge, T.; Majety, M. Pancreatic cancer cell/fibroblast co-culture induces M2 like macrophages that influence therapeutic response in a 3D model. PLoS ONE, 2017, 12, 7
- 8- Adamska, A.; Domenichini, A.; Falasca, M. Pancreatic Ductal Adenocarcinoma: Current and Evolving Therapies. International Journal of Molecular Sciences, 2017, 18, 1338, 1-43
- 9- Terapias dirigidas contra el cáncer fue publicado originalmente por el Instituto Nacional del Cáncer. 3 de mayo de 2019, <https://www.cancer.gov/espanol/cancer/tratamiento/tipos/terapia-dirigida/hoja-informativa-terapias-dirigidas> ]
- 10- Beatty, G.L.; Eghbali, S.; Kim, R. Deploying Immunotherapy in Pancreatic Cancer: Defining Mechanisms of Response and Resistance. American Society of Clinical Oncology, 2017, 8, 112, 267-279
- 11- Sahin, I.H.; Askan, G.; Hu, Z.L.; O'Reilly, M. Immunotherapy in pancreatic ductal adenocarcinoma: an emerging entity? Annals of Oncology, 2017, 28, 2950-2961
- 12- Wang, H.C.; Hung, W.C.; Chen, L.T.; Pan, M.R. From Friend to Enemy: Dissecting the Functional Alteration of Immunoregulatory Components during Pancreatic Tumorigenesis. International Journal of Molecular Sciences, 2018, 19, 3584
- 13- Das, S.; Berlin, J.; Cardin, D. Harnessing the Immune System in Pancreatic Cancer. Current Treatment Options in Oncology, 2018, 19, 48, 1-12
- 14- [Terapias dirigidas contra el cáncer fue publicado originalmente por el Instituto Nacional del Cáncer. 3 de mayo de 2019, <https://www.cancer.gov/espanol/cancer/tratamiento/tipos/terapia-dirigida/hoja-informativa-terapias-dirigidas> ]
- 15- Lazzari, Gianpiero.; Nicolas, Valérie; Matsusaki, Michiya; Akashi, Mitsuru; Couvreur, Patrick; Mura, Simona. Multicellular spheroid based on a triple co-culture: A novel 3D model to mimic pancreatic tumor complexity. Acta Biomaterialia, 2018, 78, 296-307
- 16- Goodwin, M.L.; Urs, S.K.; Simeone, D.M. Pancreatic Microtumors: A Novel 3D Ex Vivo Testing Platform. 2018, 77-80
- 17- Baker, A.L.; Tiriác, H.; Tuveson, D.A. Generation and Culture of Human Pancreatic Ductal Adenocarcinoma Organoids from Resected Tumor Specimens. 2018, 97-115
- 18- Binnewies, M.; Roberts, E.W.; Kersten, K.; Chan, V.; Fearon, D.F.; Merad, M.; Coussens, L.M.; G abrilovich, D.I.; Ostrand-Rosenberg, S.,

- Hedrick,C.C.; Vonderheide,R.H.; Pittet,M.P.; Jain,R.K.; Zou,W.; Howcroft,T.K.; Woodhouse,E.C.; Weinberg,R.A.; Krummel,M.F. Understanding the tumor immune microenvironment (TIME) for effective therapy. Nature Medicine, 2018, 24, 541-550
- 19- Riquelme,E.; Maitra,A.; McAllister,F. Immunotherapy for Pancreatic Cancer: More Than Just a Gut Feeling. Cancer Discovery, 2018, 8, 4, 386-394
- 20- Tiriac,H.; Belleau,P.; Engle,D.D.; Plenker,D.; Deschênes,A.; Somerville,T.D.D; Froeling,F.E.M.; Burkhart,R.A.; Denroche,R.A.; Jang,G.H.; Miyabayashi,K.; Young,C.M; Patel,H.; Ma,M.; LaC omb,J.F.; Palmaira,R.L.D.; Javed,A.A.J.; Huynh,J.C.; Johnson,M.; Arora,K.; Robine,N.; Shah, M.; Sanghvi,R.; Goetz,A.B.; Lowder,C.Y.; Martello,L.; Driehuis,E.; LeComte,N.; Askan,G.; Iacobuzio-Donahue,C.A.; Clevers,H.; Wood,L.D.; Hruban,R.H.; Thompson,E.; Aguirre,A.J.; Wolpin,B.M.; Sasson,A.; Kim,J.; Wu,M.; Bucobo,J.C.; Allen,P.; Sejpal,D.V.; Nealon,W.; Sullivan,J.D.; Winter,J.M.; Gimotty,P.A.; Grem,J.L.; DiMaio,D.J.; Buscaglia,J.M.; Grandgenett,P.M.; Brody,J.R.; Hollingsworth,M.A.; O’Kane,G.M.; Notta,F.; Kim,E.; Crawford,J.M.; Devoe,C.; Ocean,A.; Wolfgang,C.L.; Yu,K.H.; Li,E.; Vakoc,C.R.; Hubert,B.; Fischer,S.E.; Wilson,J.M.; Moffitt,R.; Knox,J.; Krasnitz,A.; Gallinger,S.;Tuveson,D.A. Organoid profiling identifies common responders to chemotherapy in pancreatic cancer. American Association for Cancer Research, 2018, 10.1158/2159-8290.CD-18-0349.
- 21- Puls,T.J.; Tan,X.; Husain,M.; Whittington,C.F.; Fishel,M.L.; Voytik-Harbin,S.L. Development of a Novel 3D Tumor-tissue Invasion Model for High-throughput, High-content Phenotypic Drug Screening. SCientific RePorTS, 2018, 8:1309
- 22- Baker,L.A.; Tuveson,D.A. Generation and Culture of Tumor and Metastatic Organoids from Murine Models of Pancreatic Ductal Adenocarcinoma. 2018, 117-133
- 23- Clevers,H.; Sato,T. Modeling Human Digestive Diseases With Q2 CRISPR-Cas9–Modified Organoids. The AGA Institute, 2018, 0016-5085, 1-15