

REVISIÓN

Artículo bilingüe inglés/español

Biomarcadores predictivos de respuesta a los inhibidores de los puntos de control inmunitario

Predictive biomarkers of response to immune checkpoint inhibitors

María Sacramento Díaz-Carrasco¹, Eva González-Haba²,
Juana Inés García-Soler¹, Alberto Espuny-Miró¹

¹Servicio de Farmacia, Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca, El Palmar, Murcia. España. ²Servicio de Farmacia, Hospital Gregorio Marañón, Madrid. España.

Autor para correspondencia

María Sacramento Díaz Carrasco
Servicio de Farmacia
Hospital Clínico Universitario
Virgen de la Arrixaca
Ctra. Cartagena s/n.
30120 El Palmar (Murcia), España.

Correo electrónico:
msacramento.diaz@carm.es

DOI: 10.7399/fh.11328

Resumen

Objetivo: El objetivo del presente trabajo es identificar mediante revisión bibliográfica los factores dependientes del tumor que condicionan la respuesta a los inhibidores de los puntos de control inmunitario, incidiendo especialmente en aquellos que se postulan como posibles biomarcadores predictivos.

Método: Búsquedas en Pubmed con los términos *biomarkers*, PD-1, PD-L1, CTLA-4, *checkpoint inhibitors*, en el título o el *abstract*, seleccionando aquellos que incluyeran información relevante sobre factores tumorales que condicionan la respuesta a los inhibidores de los puntos de control inmunitario. Se priorizaron estudios en humanos (ensayos clínicos y revisiones) publicados entre enero de 2015 y junio de 2019, en idiomas inglés y español.

Resultados: La revisión pone de manifiesto las complejas relaciones entre sistema inmunitario y tumor, con factores que influyen en la respuesta a los inhibidores de los puntos de control inmunitario variados, y aun poco conocidos, lo cual dificulta la obtención de biomarcadores predictivos sencillos y/o universales.

Conclusiones: Actualmente los únicos biomarcadores utilizados en práctica clínica, en algunos escenarios, son la expresión del ligando del receptor de muerte celular programada-1 y la inestabilidad de microsatélites/deficiencias en las enzimas de reparación de los apareamientos erróneos durante la replicación del ácido desoxirribonucleico, aunque su utilidad es limitada. La carga mutacional y las firmas génicas asociadas a interferón gamma se postulan como biomarcadores útiles, una vez sistematizadas las técnicas de determinación y los puntos de corte.

PALABRAS CLAVE

Biomarcadores; Inhibidores puntos de control inmunitario; Inmunoterapia; Receptor de muerte celular programada-1.

KEYWORDS

Biomarkers; Immune checkpoint inhibitors; Immunotherapy; Programmed cell death-1 receptor.

Abstract

Objective: The present paper provides a literature review aimed at identifying the tumor-dependent factors capable of influencing a subject's response to immune checkpoint inhibitors, with a special emphasis on those that may act as predictive biomarkers.

Method: A search was performed of the terms *biomarkers*, PD-1, PD-L1, CTLA-4, and *checkpoint inhibitors* in the title and the abstract of the records in the PubMed database. Articles including relevant information on the tumor-dependent factors capable of influencing a subject's response of immune checkpoint inhibitors were selected. Priority was given to studies in humans (clinical trials and reviews) published between January 2015 and June 2019, in English and Spanish.

Results: The literature review exposed the complex relationship that exists between the immune system and tumors. It also revealed that the factors capable of influencing a subject's response to immune checkpoint inhibitors are multiple, heterogeneous and ill understood, which makes it difficult to obtain simple and/or universal predictive biomarkers.

Conclusions: The only biomarkers currently used in clinical practice include the expression of the programmed cell death ligand-1 and microsatellite instability/ deficient DNA mismatch repair, but their usefulness is limited. Tumor mutational burden and gene signatures associated to IFN- γ could become useful biomarkers once determination techniques and cutoff points are systematized.



Los artículos publicados en esta revista se distribuyen con la licencia
Articles published in this journal are licensed with a
Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 4.0 International License.
<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>
La revista Farmacia no cobra tasas por el envío de trabajos,
ni tampoco por la publicación de sus artículos.

Introducción

Los inhibidores de los puntos de control inmunitario (ICI), antiantígeno 4 del linfocito T citotóxico (CTLA-4) y, en especial, antirreceptor de muerte celular programada-1 (PD-1) o su ligando (PD-L1), se han incorporado al tratamiento de múltiples tumores en los últimos años, prolongando de forma significativa la supervivencia de algunos pacientes¹⁻³. Por otra parte, son tratamientos asociados a un perfil de toxicidad nada despreciable^{4,5}.

El impacto asistencial y económico que supone esta estrategia de tratamiento pone el foco de la investigación y de la evaluación de la eficiencia en estos medicamentos. El principal problema es la ausencia casi total de biomarcadores predictivos de respuesta que permitan la correcta selección de los pacientes que se van a beneficiar, reduciendo la exposición a la toxicidad en aquellos pacientes con baja probabilidad de beneficio y reduciendo los costes para el Sistema Nacional de Salud.

Actualmente disponemos de muchos datos referentes a factores que condicionan la respuesta a la inmunoterapia. Estos factores van a depender del paciente, del tumor, del ambiente y de otros factores, como diversos tratamientos previos o concomitantes que esté recibiendo el paciente.

El objetivo principal de los estudios en este campo es conseguir, con estos factores, biomarcadores predictivos de respuesta al tratamiento inmunoterápico, que nos permitan la selección de aquellos pacientes con mayor probabilidad de beneficio clínico para maximizar la relación beneficio/riesgo de su uso y reducir costes innecesarios.

El desarrollo de biomarcadores para la inmunoterapia es un desafío mucho mayor que el desarrollo de biomarcadores para los tratamientos dirigidos a dianas. En este último caso, la búsqueda de biomarcadores se centra en las características específicas de las células tumorales y de las mutaciones *driver* que ocurren en ellas. En el caso de la inmunoterapia, además de las alteraciones de las células tumorales, están implicados otros factores, tan relevantes o más, como las características del microambiente tumoral y la respuesta inmunitaria del huésped⁶. Nos encontramos con un escenario dinámico, inducible, más heterogéneo y con marcadores con rangos de expresión continuos, con la dificultad adicional de tener que establecer puntos de corte.

En este contexto, el objetivo del presente trabajo es identificar, mediante revisión bibliográfica, los factores dependientes del tumor que condicionan la respuesta a los ICI, incidiendo especialmente en aquellos que se postulan como posibles biomarcadores predictivos.

Métodos

Se realizó una revisión bibliográfica estructurada, mediante búsqueda de artículos recogidos en la base de datos PubMed, con la finalidad de identificar los factores tumorales que condicionan la respuesta a los ICI. La estrategia de búsqueda incluyó los términos: *biomarkers*, PD-1, PD-L1, CTLA-4, *checkpoint inhibitors*, en el título o el *abstract*. Se han seleccionado ensayos clínicos, ensayos clínicos aleatorizados, revisiones, revisiones sistemáticas y metaanálisis; en humanos; idiomas inglés o español y fechas entre enero de 2015 y junio de 2019. A esta búsqueda inicial se añadieron referencias en los artículos seleccionados, consideradas como relevantes para la revisión.

La selección de los estudios se realizó de manera independiente por dos autores; si el artículo pasaba un filtro inicial en función de la revisión del título y del *abstract*, el texto completo se revisaba para verificar si respondía al objetivo del estudio. En caso de información redundante, se seleccionaron los artículos en base a su mayor actualización, claridad y amplitud. La extracción de datos de los estudios también se realizó de manera independiente por los dos autores.

Resultados

De un total de 298 artículos (31 ensayos clínicos y 267 revisiones), fueron seleccionadas 50 referencias que cumplan el propósito del estudio (Tabla 1).

Los factores tumorales que se han relacionado con la eficacia o efectividad de los ICI se agrupan principalmente en aquellos que definen las características inmunitarias del microambiente tumoral, la presencia de determinadas poblaciones linfocitarias infiltrando el tumor, la expresión de PD-L1 por las células tumorales o los linfocitos presentes en el tejido tumoral, la carga de mutaciones del tumor o la presencia de déficits en las enzimas de reparación del ácido desoxirribonucleico (ADN) o inestabilidad

de microsátélites. Por último, se están desarrollando firmas génicas que permitan identificar los tumores con estas características que los hagan más susceptibles al tratamiento con ICI.

Perfiles inmunitarios en relación con el microambiente tumoral: inmunofenotipos

Se han descrito tres perfiles inmunitarios en relación con el microambiente tumoral^{6,7}, que se correlacionan con la respuesta frente a la terapia con anti-PD-1/L1: El fenotipo inflamado, que presenta infiltración por linfocitos CD8+, y otras células inmunitarias (en el parénquima tumoral), junto con la presencia de citoquinas proinflamatorias; el fenotipo inmunodesértico, sin presencia de infiltrado inmunitario, que puede ser consecuencia de mecanismos de tolerancia, ignorancia inmunitaria, o falta de imprimación o activación de células T; y el fenotipo inmunoexcluido, en el cual los linfocitos T CD8+ se acumulan alrededor del tumor, pero no lo infiltran. Puede deberse a la presencia de barreras o factores vasculares, presencia de citoquinas específicas o factores inhibitorios en el estroma.

Difícilmente un tumor con un microambiente tumoral de fenotipo desértico o inmunoexcluido va a responder a la inmunoterapia con ICI. El fenotipo inflamado confiere mayor probabilidad de respuesta, pero su presencia tampoco garantiza esa respuesta. La infiltración con células T efectoras CD8+ es necesaria, pero estas células, a su vez, pueden presentar un estado disfuncional, con un fenotipo exhausto o hiperexhausto. Pueden existir en el infiltrado otras células inmunitarias supresoras, como linfocitos T reguladores (Treg), células supresoras de origen mieloide, células B supresoras o fibroblastos asociados al cáncer. Además, las células tumorales, en estos tumores inflamados, pueden expresar factores inhibitorios, reducir la expresión de moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad clase I (necesarias para la presentación antigénica) u otras vías que reducen la sensibilidad a la inmunidad antitumoral⁶.

Cabe señalar que el uso de tratamiento previo o concomitante de otro tipo de terapias (radioterapia, quimioterapia, terapia dirigida, etc.) puede inducir la inflamación del microambiente tumoral, aumentando así la sensibilidad a los ICI. Esta es la base de múltiples estudios de combinación en curso⁸⁻¹⁰.

En abril de 2018, Thorsson *et al.*¹¹ publicaron los resultados de un análisis complejo inmunogenómico realizado sobre más de 10.000 tumores de 33 tipos de cáncer, utilizando datos del proyecto "The Cancer Genome Atlas". Los autores identificaron seis subtipos en base al microambiente tumoral: cicatrización de heridas, interferón γ (INF- γ) dominante, inflamatorio, deplecionado de linfocitos, poco activo inmunológicamente, y factor de crecimiento transformante β (TGF- β) dominante. Los autores indicaron que estos subtipos inmunitarios tienen un potencial pronóstico y terapéutico, proponiendo su uso para futuros estudios.

Linfocitos infiltrantes del tumor

La infiltración tumoral por distintas células inmunitarias ha demostrado un valor pronóstico en distintos tipos tumorales, por ejemplo, en cáncer de pulmón no microcítico (CPNM) resecao¹² o en CPNM metastásico¹³.

Usó *et al.*¹² describen relación entre la infiltración por células CD4+ y CD8+, en distintos compartimentos tumorales, y mayor supervivencia libre de progresión (SLP) y supervivencia global (SG) en pacientes con CPNM resecao. La infiltración por células FOXP3+ en el compartimento estromal se asoció con peor pronóstico.

En el metaanálisis de Geng *et al.*¹³, publicado en 2015, se refleja que la infiltración profunda de los tumores con células T CD8+ y CD4+ se correlaciona frecuentemente con mejor SG en pacientes con cáncer de pulmón metastásico. Por el contrario, una alta densidad de linfocitos Treg (FOXP3+) puede reconocerse como un factor pronóstico negativo.

Otros autores han observado correlación entre la presencia de linfocitos T CD8+ infiltrando el tumor y la respuesta a las terapias con ICI en otros tipos tumorales. Así, por ejemplo, Tumei *et al.*¹⁴, en un trabajo publicado en *Nature* en 2014, describen que la infiltración por células T CD8+, sobre todo en el margen invasivo del tumor, predice la respuesta al tratamiento con anti-PD-1 en pacientes con melanoma metastásico.

Daud *et al.*¹⁵, en 2016, van un paso más allá y analizan, mediante citometría de flujo multiparámetro, las poblaciones de linfocitos T CD8+ infiltrantes del tumor, en pacientes con melanoma metastásico en tratamiento con

Tabla 1. Resumen de los estudios incluidos en la revisión

Autor	Año	País	Tipo de estudio	Muestra	Hallazgos principales
Planchard D ¹	2018	Suiza	Documento técnico	No aplica	Diagnóstico, biología molecular. Tratamiento. Seguimiento
Karlsson AK ²	2017	Reino Unido	Metaanálisis	3.628	Eficacia. Tolerabilidad
Escudier B ³	2019	Europa	Documento técnico	No aplica	Diagnóstico. Tratamiento. Seguimiento
Brahmer JR ⁴	2018	Estados Unidos	Documento técnico	No aplica	Manejo de toxicidad inmunomediada
Haanen JB ⁵	2017	Europa	Documento técnico	No aplica	Toxicidad. Manejo de toxicidad inmunomediada
Chen DS ⁶	2017	Estados Unidos	Revisión	No aplica	Biomarcadores implicados en la respuesta
Hegde PS ⁷	2016	Estados Unidos, Suiza	Revisión	No aplica	Mecanismo de acción. Biomarcadores implicados en la respuesta
Joshi S ⁸	2019	Estados Unidos	Revisión	No aplica	Estrategias combinadas
Amin A ⁹	2019	Estados Unidos	Revisión	No aplica	Estrategias combinadas en carcinoma de células renales
Hanna GG ¹⁰	2016	Reino Unido	Revisión	No aplica	Estrategias combinadas con radioterapia
Thorsson V ¹¹	2018	Bélgica, Brasil, Canadá, Estados Unidos, Qatar	Estudio observacional	> 10.000	Biomarcadores pronóstico
Usó M ¹²	2019	España	Estudio observacional	122	Subpoblaciones de linfocitos T como biomarcadores pronóstico
Geng Y ¹³	2015	China	Metaanálisis	8.600	Influencia de los linfocitos T infiltrantes en la supervivencia
Tumeh PC ¹⁴	2014	Estados Unidos, Francia	Estudio observacional	46	Influencia de los linfocitos T CD8+ infiltrantes en la respuesta
Daud A ¹⁵	2016	Austria, Estados Unidos	Estudio observacional	40	Influencia de los linfocitos T CD8+ infiltrantes en la respuesta
Berger KN ¹⁶	2018	Estados Unidos	Revisión	No aplica	Expresión de PD-L1 y su relación con la respuesta
Khunger M ¹⁷	2017	Estados Unidos	Metaanálisis	6.664	Expresión de PD-L1 y su relación con la respuesta
Grizzi G ¹⁸	2017	Italia	Revisión	No aplica	Biomarcadores predictivos de respuesta
Hansen AR ¹⁹	2016	Canadá	Revisión	No aplica	Test diagnósticos de PD-L1
Hirsch FR ²⁰	2017	Estados Unidos	Validez de pruebas diagnósticas	No aplica	Test diagnósticos de PD-L1: Evaluación clínica y analítica de los distintos test
Rimm DL ²¹	2017	Estados Unidos	Validez de pruebas diagnósticas	No aplica	Test diagnósticos de PD-L1: Rendimiento de los distintos test
Büttner R ²²	2017	Alemania, Canadá, España, Francia, Italia, Reino Unido	Revisión	No aplica	Test diagnósticos de PD-L1: Comparación entre los distintos test de determinación de PD-L1
Reck M ²³	2016	Alemania, Australia, Canadá, España, Hungría, Irlanda, Israel, Japón, Reino Unido	Ensayo clínico	305	Supervivencia libre de progresión y seguridad de pembrolizumab con respecto a platino en CPNM avanzado y expresión de PD-L1 superior al 50% de células tumorales
Herbst RS ²⁴	2016	Brasil, Corea del Sur, España, Estados Unidos, Francia	Ensayo clínico	1.034	Supervivencia de pembrolizumab frente a docetaxel en pacientes con CPNM avanzado previamente tratados y expresión de PD-L1
Powles T ²⁵	2017	Alemania, España, Canadá, Hungría, Japón, Reino Unido, Taiwán	Ensayo clínico	990	Supervivencia y seguridad de pembrolizumab en monoterapia y en combinación con quimioterapia basada en platino frente a quimioterapia en carcinoma urotelial metastásico
Galsky MD ²⁶	2018	Australia, España, Estados Unidos, Grecia, Japón, Suiza	Ensayo clínico	1.213	Supervivencia de atezolizumab en combinación con quimioterapia basada en platino frente a quimioterapia en 1º línea de carcinoma urotelial metastásico
Silva MA ²⁷	2018	España	Estudio observacional	50	Test diagnósticos de PD-L1
Inoue Y ²⁸	2016	Japón	Estudio observacional	654	Biomarcadores predictivos de respuesta: Número de copias de PD-L1
Paré L ²⁹	2018	España, Estados Unidos	Estudio observacional	773	Biomarcadores predictivos de respuesta: PD-1 ARNm y linfocitos T CD8+ activados
Snyder A ³⁰	2014	Estados Unidos	Estudio observacional	64	Bases genéticas predictivas de respuesta a anti-CTLA-4 en melanoma

Tabla 1 (cont.). Resumen de los estudios incluidos en la revisión

Autor	Año	País	Tipo de estudio	Muestra	Hallazgos principales
Carbone DP ³¹	2017	Alemania, Canadá, Estados Unidos, España, Holanda, República Checa Rumanía, Suiza	Ensayo clínico	423	Supervivencia de nivolumab en primera línea de tratamiento de CPNM avanzado en pacientes con expresión de PD-L1 mayor del 5%
Hellmann MD ³²	2018	Alemania, Australia, Chile, Estados Unidos, España, Francia, Holanda, Italia, Polonia, Rumanía	Ensayo clínico	1.004	Supervivencia libre de progresión de nivolumab junto a ipilimumab en CPNM y alta carga mutacional
Ramalingam SS ³³	2018	Alemania, Australia, Canadá, España, Estados Unidos	Ensayo clínico	288	La carga mutacional y su relación con la respuesta de nivolumab junto a ipilimumab a dosis bajas en primera línea de CPNM avanzado o metastásico
Ready N ³⁴	2019	Alemania, Australia, Canadá, España, Estados Unidos	Ensayo clínico	252	Supervivencia libre de progresión de nivolumab junto a ipilimumab a dosis bajas en primera línea de CPNM avanzado o metastásico independiente de la expresión de PD-L1
Rosenberg JE ³⁵	2016	Alemania, España, Estados Unidos, Francia, Holanda, Italia,	Ensayo clínico	310	Atezolizumab presenta mayor respuesta en pacientes con carcinoma urotelial refractarios a platino con una mayor expresión de PD-L1 en sus células tumorales
Balar AV ³⁶	2017	Alemania, España, Estados Unidos, Francia, Holanda, Italia, Reino Unido	Ensayo clínico	119	Atezolizumab presenta una mayor respuesta y supervivencia en primera línea de tratamiento de carcinoma urotelial independientemente de la expresión de PD-L1
Cristescu R ³⁷	2018	Estados Unidos	Estudio observacional	> 300	Carga mutacional, expresión de PD-L1 y expresión génica de marcadores de inflamación como factores predictivos de respuesta a pembrolizumab
Nadal E ³⁸	2018	España	Revisión	No aplica	Actualización de biomarcadores en inmunoncología
Chan TA ³⁹	2019	Alemania, Estados Unidos, Reino Unido, Suiza	Revisión	No aplica	Carga mutacional, biomarcador relacionado con la respuesta
Samstein RM ⁴⁰	2019	Estados Unidos	Estudio observacional	1.662	Carga mutacional, biomarcador relacionado con la eficacia
Le DT ⁴¹	2017	Estados Unidos	Ensayo clínico	86	Deficiencia de MMR, biomarcador relacionado con la respuesta
Scarpa A ⁴²	2016	Europa	Documento técnico	No aplica	Biomarcadores
Bonneville R ⁴³	2017	Estados Unidos	Estudio observacional	1.139	Presencia de inestabilidad de microsatélites en diversos tumores
Abida W ⁴⁴	2019	Estados Unidos	Estudio observacional	1.346	Prevalencia de deficiencia de MMR e inestabilidad de microsatélites en el cáncer de próstata e influencia en la respuesta
Lemery S ⁴⁵	2017	Estados Unidos	Artículo de opinión	No aplica	Indicación terapéutica de pembrolizumab según biomarcador
Viale G ⁴⁶	2017	Italia	Revisión	No aplica	Deficiencia de MMR como biomarcador relacionado con la respuesta
Schrock AB ⁴⁷	2019	Estados Unidos	Estudio observacional	22	Carga mutacional e inestabilidad de microsatélites como biomarcadores predictivos de respuesta en pacientes con cáncer colorrectal metastásico
Ayers M ⁴⁸	2017	Estados Unidos	Estudio observacional	220	Biomarcadores predictivos de respuesta, la expresión génica de IFN- γ
Solomon B ⁴⁹	2018	Australia	Revisión	No aplica	Biomarcadores predictivos de respuesta en el carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello
Fehrenbacher L ⁵⁰	2016	Alemania, Bélgica, Corea del Sur, España, Estados Unidos, Reino Unido	Ensayo clínico	287	Supervivencia global de atezolizumab frente a docetaxel en pacientes con CPNM previamente tratados

ARNm: ácido ribonucleico mensajero; CPNM: cáncer de pulmón no microcítico; CTLA-4: antígeno 4 del linfocito T citotóxico; IFN- γ : interferón γ ; MMR: apareamientos erróneos; PD-1: antirreceptor de muerte celular programada-1; PD-L1: su ligando del antirreceptor de muerte celular programada-1.

nivolumab o pembrolizumab. Los pacientes con más de un 20% de células con alta expresión de CTLA-4 y PD-1 mostraron respuestas más favorables al tratamiento, respecto a aquellos pacientes con poblaciones del 20% o inferiores. Los autores indican que sus datos sugieren que la abundancia relativa de linfocitos infiltrantes del tumor CD8+, parcialmente exhaustos, predice la respuesta al tratamiento con anti-PD-1. Sin embargo, la técnica utilizada es de difícil implementación en práctica clínica.

Expresión de PD-L1

El papel de PD-L1 en la respuesta inmunitaria a los tumores se resume de forma sencilla: los neoantígenos expresados en la superficie de las células cancerosas son reconocidos como extraños, induciendo una respuesta antitumoral mediada por los linfocitos infiltrantes del tumor; como parte de esta respuesta, se produce INF- γ , el cual, a su vez, induce la expresión de PD-L1; la unión de PD-L1 a su receptor, PD-1, inhibe las funciones efectoras de los linfocitos¹⁶.

La expresión de PD-L1 ha sido el primer biomarcador predictivo de respuesta incorporado en la práctica clínica para dirigir el uso de fármacos anti-PD-1/PD-L1 en algunos escenarios clínicos. No obstante, es un biomarcador imperfecto: una mayor expresión se correlaciona generalmente con una mayor probabilidad de respuesta/beneficio clínico¹⁷; sin embargo, ni su expresión elevada garantiza la respuesta, ni la falta de expresión garantiza la ausencia de beneficio y, por tanto, no puede usarse para excluir pacientes del tratamiento con estos fármacos, salvo contadas excepciones, asociadas principalmente al diseño de los ensayos clínicos. El valor predictivo puede depender también de la histología tumoral¹⁷.

En el CPNM se ha estudiado ampliamente el valor predictivo de la expresión de PD-L1, observándose asociación con la SG en los pacientes tratados con distintos inhibidores de PD-1/PD-L1 en monoterapia¹⁸.

El desarrollo clínico y la aprobación de los distintos compuestos se ha realizado en base a distintos test diagnósticos para la cuantificación de la expresión de PDL1¹⁹. Las diferencias críticas entre estos test derivan del uso de distintos anticuerpos, el estudio del marcador en diferentes tipos celulares y compartimentos tisulares, así como el umbral de positividad de tinción definido en cada estudio. El uso de distintos test puede originar distinta clasificación de los pacientes, incluyendo poblaciones distintas en los diversos ensayos clínicos y, por tanto, no permite la comparación indirecta de los resultados de los distintos estudios. Este escenario complica la selección de pacientes en la práctica asistencial.

La comparación entre los distintos test de determinación ha sido abordada por varios autores^{20,21}. En la revisión publicada en 2017 por Büttner *et al.*²², valorando este aspecto en CPNM, se pone de manifiesto una alta concordancia interensayo y reproducibilidad entre observadores para tres de las plataformas disponibles (siempre que hablemos de medida en células tumorales) (28-8 PharmDx, 22C3 PharmDx y SP263 Assay). La variabilidad en células inmunitarias es mayor intra e interensayo. Los autores sugieren que estas tres técnicas serían intercambiables para uso clínico en CPNM. La técnica SP142 Assay se asoció con la detección de menor expresión de PD-L1, incluso en membrana de células tumorales.

A pesar de todas las deficiencias, hay escenarios en los que la determinación de PD-L1 sí condiciona la selección de pacientes, por ejemplo en el caso de pembrolizumab en primera línea de CPNM con PD-L1 mayor del 50%²³ y en segunda línea mayor del 1%²⁴, porque fue el criterio de inclusión en los ensayos clínicos que le dieron las indicaciones. En el carcinoma urotelial, en pacientes no candidatos a platino (inicialmente aprobado sin selección por PD-L1), porque datos preliminares de estudios fase III en curso demostraron menor supervivencia en pacientes con baja expresión del biomarcador, en tratamiento con pembrolizumab (Keynote-361)²⁵ o atezolizumab (IMvigor130)²⁶, en comparación con quimioterapia. Este hallazgo llevó a la Food and Drug Administration (FDA) y la European Medicines Agency a restringir la utilización de estos fármacos en monoterapia a pacientes con cáncer urotelial localmente avanzado/metastásico, no candidatos a cisplatino y cuyos tumores expresen PD-L1 $\geq 10\%$ con una puntuación positiva combinada en el caso de pembrolizumab y $\geq 5\%$ para atezolizumab.

Se están buscando activamente otros enfoques alternativos o complementarios a la determinación inmunohistoquímica de PD-L1.

Por ejemplo, Silva *et al.*²⁷ proponen diferenciar entre patrones de tinción del PD-L1 reactivo *versus* constitutivo para, de este modo, mejorar la precisión del biomarcador. Por otra parte, Inoue *et al.*²⁸, en un estudio realizado en 654 pacientes con CPNM resecaado, sugieren el uso adicional o alter-

nativo de la determinación del número de copias de PD-L1 para mejorar el valor predictivo.

En el estudio de Paré *et al.*²⁹ se relaciona la expresión de PD-1, mediante determinación de ácido ribonucleico (ARN) mensajero (plataforma nCounter), con la respuesta global y la SLP en distintos tipos tumorales. Es un estudio retrospectivo en el que se analizan muestras parafinadas de tumores tratados con nivolumab o pembrolizumab. Estos autores no encuentran correlación entre la determinación inmunohistoquímica de PD-L1 y la expresión génica de PD-1. Según los autores, la expresión de PD-1 se asocia con la sensibilidad a los fármacos anti-PD-1 de forma más fuerte que cualquier otro marcador inmunitario evaluado. Esta expresión estaría asociada a la presencia de linfocitos CD8+ activados. No obstante, se trata de un estudio limitado a un grupo heterogéneo de pacientes con diversos tumores y se precisarían estudios prospectivos, aleatorizados, para establecer la utilidad clínica y el umbral de positividad óptimo.

Carga mutacional del tumor

El estudio de Snyder *et al.*³⁰, publicado en 2014, es uno de los primeros ensayos que aporta datos de carga mutacional (TMB: *tumor mutation burden*), mediante análisis del exoma completo, en pacientes con melanoma metastásico en tratamiento con ipilimumab.

Por una parte, se observó una diferencia significativa en la carga mutacional entre pacientes con beneficio clínico prolongado (superior a seis meses) y aquellos con un beneficio clínico mínimo o nulo. Cabe señalar que no se observó que ningún gen estuviera mutado de forma universal en los pacientes con un beneficio sostenido.

Por otra parte, dividiendo a la población de pacientes entre aquellos que tenían un número alto de mutaciones en el exoma (estableciendo como punto de corte más de 100 mutaciones) y los que tenían un número menor, se observa una diferencia marcada en las curvas de supervivencia, con diferencias estadísticamente significativas en las medianas de SG entre estos dos grupos de pacientes. Estos resultados animaron a proponer la carga mutacional del tumor como un biomarcador predictivo para seleccionar pacientes candidatos a recibir inmunoterapia.

El mecanismo subyacente que se ha propuesto relaciona una elevada carga de mutaciones con un aumento en el número de neoantígenos tumorales, que aumentarían su inmunogenicidad, al ser reconocidos como extraños por las células T, originando la respuesta inmunitaria antitumoral.

En 2017 se publicaron los resultados del estudio CheckMate 026³¹, que resultó negativo para nivolumab frente a quimioterapia en primera línea de CPNM (escamoso y no escamoso), tanto en pacientes con expresión de PD-L1 mayor del 5% (objetivo principal), como en el global mayor del 1% (objetivo secundario). Sin embargo, los autores realizan un análisis de subgrupos exploratorio y no preespecificado, en el que comparan los resultados de SLP en función del TMB; realizan análisis de exoma completo, definiendo carga mutacional elevada como más de 243 mutaciones. En los pacientes con TMB elevado, la SLP favorece al grupo de nivolumab, mientras que en pacientes con TMB bajo o moderado, la SLP fue mayor con quimioterapia.

Sobre esta base, el estudio CheckMate 227 es el primer estudio fase III en utilizar el biomarcador TMB en la selección de pacientes, mostrando su utilidad de forma prospectiva³². Se trata de un estudio en primera línea en CPNM, que compara tres ramas: ipilimumab asociado a nivolumab, quimioterapia o nivolumab en monoterapia.

Los resultados muestran que la SLP en pacientes con un alto TMB es mayor, con diferencia estadísticamente significativa, con la combinación nivolumab-ipilimumab que con quimioterapia y que este efecto es independiente de la histología (escamoso *versus* no escamoso) o de la expresión de PD-L1 ($\geq 1\%$ *versus* $< 1\%$).

En este estudio, la carga de mutaciones se determinó mediante un panel de genes, con la plataforma FoundationOne CDx. El punto de corte para considerar un TMB elevado se estableció en 10 o más mutaciones por megabase, en base a los resultados del ensayo fase II CheckMate 568^{33,34}. Este fase II, de nivolumab más ipilimumab en pacientes con CPNM, identificó ese umbral de TMB como un punto de corte efectivo para seleccionar pacientes con mayor probabilidad de respuesta, independientemente del nivel de expresión de PD-L1 tumoral.

Se ha descrito relación entre el TMB y la eficacia en otros escenarios clínicos como el carcinoma urotelial, en tratamiento con atezolizumab^{35,36}, o múltiples tumores en tratamiento con pembrolizumab³⁷.

La utilización del TMB como biomarcador predictivo presenta la ventaja de ser cuantitativo y más reproducible que la determinación inmunohistoquímica de la expresión de PD-L1. Sin embargo, también presenta inconvenientes: en los diferentes ensayos clínicos que se están llevando a cabo con análisis de TMB, no existe homogeneidad en la metodología o en la terminología empleada, ni tampoco hay consenso en el criterio de positividad para determinar qué pacientes poseen una TMB alta, moderada o baja^{38,39}; incluso, el punto de corte puede ser distinto para distintos tipos tumorales⁴⁰.

Además, el análisis molecular de las muestras del ensayo clínico Check-Mate 227 ha puesto de manifiesto que solo el 58% de las muestras parafinadas fueron aptas para el estudio de la carga mutacional, lo que despierta dudas en cuanto a las posibilidades de implantación de estos abordajes en la práctica clínica.

Alteración de los genes de la reparación/ inestabilidad de microsatélites

Los tumores con deficiencias en el sistema de reparación de los "mal apareamientos" o apareamientos erróneos durante la replicación del ADN (MMRd: *mismatch repair deficient*), presentan una cantidad excepcionalmente alta de mutaciones somáticas en su genoma. Los datos aportados por los estudios de Le *et al.*⁴¹ (fase II) soportan la hipótesis de que la elevada carga de neoantígenos procedentes de las mutaciones en los cánceres con deficiencias en MMR los hace sensibles al bloqueo con ICI, independientemente del tejido de origen del tumor.

Estos autores evalúan la eficacia del bloqueo de PD-1, con pembrolizumab, en pacientes con 12 tipos tumorales diferentes que presentaban deficiencia en MMR, obteniendo una tasa de respuestas objetivas del 53%, con un 21% de respuestas completas. La SLP estimada a 12 y 24 meses fue de 64% y 53%, respectivamente, con estimaciones de SG a los mismos tiempos de 76% y 64%. Estos datos son superiores a lo esperable en base al estado avanzado de la enfermedad en la cohorte de pacientes incluidos. No se observaron diferencias significativas en estos parámetros entre pacientes con cáncer colorrectal y el resto de pacientes o entre pacientes con y sin síndrome de Lynch.

Los autores realizan, además, una estimación del porcentaje de tumores con MMRd, sobre una muestra de 12.000 tumores de 32 tipos histológicos distintos. Observan MMRd en más del 2% de los adenocarcinomas de endometrio, estómago, intestino delgado, colon y recto, cérvix, próstata, tracto biliar e hígado, así como tumores neuroendocrinos, cánceres de ovario no epiteliales y sarcomas uterinos. Dados los resultados espectaculares con la terapia anti-PD-1 en su estudio, los autores proponen la realización de estudios de deficiencia de MMR en todos los pacientes refractarios al tratamiento habitual, para identificar aquellos que podrían beneficiarse del bloqueo con anti-PD-1, al margen del tipo tumoral.

Los microsatélites son secuencias repetitivas de nucleótidos que existen en el ADN en condiciones normales. Estas secuencias repetitivas son muy propensas a presentar mutaciones, que habitualmente son reparadas por los genes reparadores de errores. Cuando estos genes se hallan inactivados, se produce el fenómeno conocido como inestabilidad de microsatélites (IMS). La identificación de IMS mediante test moleculares representa una prueba directa de MMRd⁴².

La inestabilidad de microsatélites/deficiencias en MMR se ha descrito en muchos tumores sólidos, a veces en proporciones elevadas, como es el caso de endometrio (33%), gástrico y colorrectal (15%), u ovario y duodeno (10%)⁴². Bonneville *et al.* identificaron IMS en un 3,8% de más de 11.000 muestras de 27 tumores distintos (provenientes del programa del Atlas del Genoma Humano), describiendo este fenómeno incluso en tumores más infrecuentes, como carcinoma adrenocortical o mesotelioma⁴³. Por otra parte, Abida *et al.* determinan una prevalencia de IMS del 3,1% en 1.033 pacientes con cáncer de próstata, describiendo que, en algunos casos, el fenotipo molecular fue adquirido a lo largo de la evolución de la enfermedad. Once pacientes con IMS/MMRd fueron tratados con inhibidores PD-1/L1, observándose respuestas prometedoras⁴⁴.

Su uso como biomarcador predictivo se ha incorporado a la práctica clínica en algunos escenarios. La FDA aprobó nivolumab en cáncer colorrectal con IMS en el año 2017 y, lo que es más relevante, ha dado lugar

a la primera aprobación de un fármaco, pembrolizumab, en base a un biomarcador, independientemente del tipo tumoral⁴⁵.

Se están realizando ensayos clínicos con ICI, solos o en combinación, que exploran el papel predictivo de la presencia de MMRd/IMS en diversos tumores sólidos⁴⁶.

En cáncer colorrectal con IMS se ha descrito recientemente, en un pequeño estudio retrospectivo, el valor predictivo adicional del TMB⁴⁷.

Firmas génicas o firmas de inflamación

Se están desarrollando distintas plataformas o firmas de expresión génica, de genes asociados con la activación del INF- γ (mediador de la activación de células T), también conocidas como firmas de inflamación. Consisten en la determinación a nivel de transcriptómica de expresión de genes que pueden evaluar la activación de las células T.

Ayers *et al.*⁴⁸ analizan perfiles de expresión génica, usando ARN de muestras basales de tumores de pacientes, con distintas histologías, tratados con pembrolizumab. Identifican una firma de 18 genes, asociados con la producción de INF- γ y la activación de linfocitos T, que se correlacionan con el beneficio clínico del tratamiento. El estudio piloto en muestras de pacientes con melanoma lo confirman en una cohorte mayor de pacientes con melanoma y en otras cohortes con tumores sólidos de distintos orígenes, como cabeza y cuello⁴⁹ y gástrico. Según los autores, sus datos confirman que un microambiente inflamado (caracterizado por señales activas de INF- γ ; moléculas efectoras citotóxicas, presentación antigénica y citoquinas activadoras de células T), es una característica común en la biología de los tumores que responden al tratamiento con ICI. Un conjunto reducido de genes puede identificar este perfil biológico y predecir la respuesta clínica en una amplia variedad de tumores.

Fehrenbacher *et al.*⁵⁰ publicaron en 2016 los resultados del estudio POPLAR, fase II, que compara atezolizumab con docetaxel en pacientes con CPNM previamente tratados. Como parte de un análisis exploratorio de biomarcadores, se analizan los resultados en función de una firma de genes asociados con la activación de los linfocitos T, la actividad citolítica inmunitaria y la expresión de INF- γ . Los autores describen que los pacientes con altos niveles de esta firma de activación responden mejor a la terapia con atezolizumab, presentando mayor SG. Sin embargo, en los pacientes que recibieron quimioterapia, el tener esta firma alta o baja no influyó en los resultados del tratamiento. Cabe señalar que la expresión alta de esta firma génica se asoció con la expresión de PD-L1 en las células inmunitarias infiltrantes del tumor, pero no con su expresión en las células tumorales.

Esta firma, que en principio se hacía valorando la expresión de unos 18 genes, pudo restringirse a la valoración únicamente de tres genes (PD-L1, INF- γ y CXCL9) y parece que también funciona bastante bien para discriminar a los pacientes que se van a beneficiar del tratamiento con atezolizumab.

Discusión

La irrupción en terapéutica de los ICI permite tratar numerosas patologías cancerosas de forma más precisa e individualizada, requiriéndose de forma urgente conocer los biomarcadores y factores condicionantes de la respuesta para seleccionar los pacientes candidatos al tratamiento. El estudio de revisión realizado presenta limitaciones derivadas de la dificultad de interpretación de los resultados de los distintos estudios, muchos de ellos retrospectivos, con datos preliminares, y de la variabilidad de escenarios clínicos estudiados. Las implicaciones para la práctica clínica aún son pobres, limitándose al uso de PD-L1 e IMS en algunos escenarios. La recogida y registro sistemáticos de aquellos factores accesibles, junto con los resultados en condiciones de práctica asistencial, podría contribuir a mejorar la selección de los pacientes.

En conclusión, la complejidad de las relaciones entre sistema inmunitario y tumor hace que los factores tumorales que influyen en la respuesta a los ICI sean muy variados, y aún poco conocidos en su conjunto, lo cual dificulta la obtención de biomarcadores predictivos sencillos y/o universales. Actualmente los únicos biomarcadores utilizados en práctica clínica, en algunos escenarios, son la expresión de PD-L1 y la IMS/MMRd, aunque su utilidad es limitada. La carga mutacional y las firmas génicas asociadas a INF- γ se postulan como biomarcadores útiles, una vez sistematizadas las técnicas de determinación y establecidos los puntos de corte significativos.

Financiación

Sin financiación.

Conflicto de intereses

Sin conflicto de intereses.

Bibliografía

- Planchard D, Popat S, Kerr K, Novello S, Smit EF, Faivre-Finn C, *et al.* Metastatic non-small cell lung cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol.* 2018;29(Suppl 4):iv192-237. DOI: 10.1093/annonc/mdy275
- Karlsson AK, Saleh SN. Checkpoint inhibitors for malignant melanoma: a systematic review and meta-analysis. *Clin Cosmet Investig Dermatol.* 2017;10:325-39. DOI: 10.2147/CCID.S120877
- Escudier B, Porta C, Schmidinger M, Rioux-Leclercq N, Bex A, Khoo V, *et al.* Renal cell carcinoma: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol.* 2019;30(5):706-20. DOI:10.1093/annonc/mdw328
- Brahmer JR, Lacchetti C, Schneider BJ, Atkins MB, Brassil KJ, Caterino JM, *et al.* Management of immune-related adverse events in patients treated with immune checkpoint inhibitor therapy: American Society of Clinical Oncology Clinical Practice Guideline. *J Clin Oncol.* 2018;36(17):1714-68. DOI: 10.1200/JCO.2017.77.6385
- Haanen JBAG, Carbone F, Robert C, Kerr KM, Peters S, Larkin J, *et al.* Management of toxicities from immunotherapy: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol.* 2017;28(Suppl 4):iv119-42. DOI: 10.1093/annonc/mdx22
- Chen DS, Mellman I. Elements of cancer immunity and the cancer-immune set point. *Nature.* 2017;541(7637):321-30. DOI: 10.1038/nature21349
- Hegde PS, Karanikas V, Evers S. The where, the when, and the how of immune monitoring for cancer immunotherapies in the era of checkpoint inhibition. *Clin Cancer Res.* 2016;22(8):1865-74. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-15-1507
- Joshi S, Durden DL. Combinatorial approach to improve cancer immunotherapy: Rational drug design strategy to simultaneously hit multiple targets to kill tumor cells and to activate the immune system. *J Oncol.* 2019;5245034. DOI: 10.1155/2019/5245034
- Amin A, Hammers H. The evolving landscape of immunotherapy-based combinations for frontline treatment of advanced renal cell carcinoma. *Front Immunol* [Internet]. 2019 [consultado 07/02/2019];9:3120. Disponible en: <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fimmu.2018.03120/full>. DOI: 10.3389/fimmu.2018.03120
- Hanna GG, Illidge T. Radiotherapy and immunotherapy combinations in non-small cell lung cancer: A promising future? *Clin Oncol.* 2016;28(11):726-31. DOI: 10.1016/j.clon.2016.07.014
- Thorsson V, Gibbs DL, Brown SD, Wolf D, Bortone DS, Ou Yang TH, *et al.* The immune landscape of cancer. *Immunity.* 2018;48(4):812-830.e14. DOI: 10.1016/j.immuni.2018.03.023
- Usó M, Jantus-Lewintre E, Bremnes RM, Calabuig S, Blasco A, Pastor E, *et al.* Analysis of the immune microenvironment in resected non-small cell lung cancer: the prognostic value of different T lymphocyte markers. *Oncotarget* [Internet]. 2016 [consultado 29/01/2019];7(33):52849-52861. Disponible en: <http://www.oncotarget.com/fulltext/10811>. DOI: 10.18632/oncotarget.10811
- Geng Y, Shao Y, He W, Hu W, Xu Y, Chen J, *et al.* Prognostic role of tumor-infiltrating lymphocytes in lung cancer: A meta-analysis. *Cell Physiol Biochem Int J Exp Cell Physiol Biochem Pharmacol.* 2015;37(4):1560-71. DOI: 10.1159/000438523
- Tumeh PC, Harview CL, Yearley JH, Shintaku IP, Taylor EJ, Robert L, *et al.* PD-1 blockade induces responses by inhibiting adaptive immune resistance. *Nature.* 2014;515(7528):568-71. DOI: 10.1038/nature13954
- Daud AI, Loo K, Pauli ML, Sanchez-Rodriguez R, Sandoval PM, Taravati K, *et al.* Tumor immune profiling predicts response to anti-PD-1 therapy in human melanoma. *J Clin Invest.* 2016;126(9):3447-52. DOI:10.1172/JCI87324
- Berger KN, Pu JJ. PD-1 pathway and its clinical application: A 20 year journey after discovery of the complete human PD-1 gene. *Gene.* 2018;638:20-5. DOI: 10.1016/j.gene.2017.09.050
- Khunger M, Hernandez AV, Pasupuleti V, Rakshit S, Pennell NA, Stevenson J, *et al.* Programmed cell death 1 (PD-1) ligand (PD-L1) expression in solid tumors as a predictive biomarker of benefit from PD-1/PD-L1 axis inhibitors: A systematic review and meta-analysis. *JCO Precis Oncol.* 2017;1(1):1-15. DOI: 10.1200/PO.16.00030
- Grizzi G, Caccese M, Gkoutakos A, Carbone L, Tortora G, Bria E, *et al.* Putative predictors of efficacy for immune checkpoint inhibitors in non-small-cell lung cancer: Facing the complexity of the immune system. *Expert Rev Mol Diagn.* 2017;17(12):1055-69. DOI: 10.1080/14737159.2017.1393333
- Hansen AR, Siu LL. PD-L1 testing in cancer: Challenges in companion diagnostic development. *JAMA Oncol.* 2016;2(11):15-6. DOI: 10.1001/jamaoncol.2015.4685
- Hirsch FR, McElhinny A, Stanforth D, Ranger-Moore J, Jansson M, Kulangara K, *et al.* PD-L1 immunohistochemistry assays for lung cancer: Results from phase 1 of the Blueprint PD-L1 IHC Assay Comparison Project. *J Thorac Oncol.* 2017;12(2):208-22. DOI: 10.1016/j.jtho.2016.11.2228
- Rimm DL, Han G, Taube JM, Yi ES, Bridge JA, Flieder DB, *et al.* A prospective, multi-institutional, pathologist-based assessment of 4 immunohistochemistry assays for PD-L1 expression in non-small cell lung cancer. *JAMA Oncol.* 2017;3(8):1051-8. DOI: 10.1001/jamaoncol.2017.0013
- Büttner R, Gosney JR, Skov BG, Adam J, Motai N, Bloom KJ, *et al.* Programmed death-ligand 1 immunohistochemistry testing: A review of analytical assays and clinical implementation in non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol.* 2017;35(34):3867-76. DOI: 10.1200/JCO.2017.74.7642
- Reck M, Rodríguez-Abreu D, Robinson AG, Hui R, Csőszi T, Fülöp A, *et al.* Pembrolizumab versus chemotherapy for PD-L1-positive non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med.* 2016;375(19):1823-33. DOI: 10.1056/NEJMoa1606774
- Herbst RS, Baas P, Kim DW, Felip E, Pérez-Gracia JL, Han JY, *et al.* Pembrolizumab versus docetaxel for previously treated, PD-L1-positive, advanced non-small-cell lung cancer (KEYNOTE-010): a randomised controlled trial. *The Lancet.* 2016;387(10027):1540-50. DOI: 10.1016/S0140-6736(15)01281-7
- Powles T, Gschwend JE, Loriot Y, Bellmunt J, Geczi L, Vulsteke C, *et al.* Phase 3 KEYNOTE-361 trial: Pembrolizumab (pembro) with or without chemotherapy versus chemotherapy alone in advanced urothelial cancer. *J Clin Oncol.* 2017;35(15 suppl):TPS4590-TPS4590. DOI: 10.1200/JCO.2017.35.15_suppl.TPS4590
- Galsky MD, Grande E, Davis ID, De Santis M, Arranz Arija JA, Kikuchi E, *et al.* IMvigor30: A randomized, phase III study evaluating first-line (1L) atezolizumab (atezo) as monotherapy and in combination with platinum-based chemotherapy (chemo) in patients (pts) with locally advanced or metastatic urothelial carcinoma (mUC). *J Clin Oncol.* 2018;36(15 suppl):TPS4589-TPS4589. DOI: 10.1200/JCO.2018.36.15_suppl.TPS4589
- Silva MA, Ryall KA, Wilm C, Caldara J, Grote HJ, Patterson-Kane JC. PD-L1 immunostaining scoring for non-small cell lung cancer based on immunosurveillance parameters. Rosell R, editor. *PLoS One.* 2018;13(6):e0196464. DOI: 10.1371/journal.pone.0196464
- Inoue Y, Yoshimura K, Mori K, Kurabe N, Kahyo T, Mori H, *et al.* Clinical significance of PD-L1 and PD-L2 copy number gains in non-small-cell lung cancer. *Oncotarget.* 2016;7(22):32113-28. DOI: 10.18632/oncotarget.8528
- Paré L, Pascual T, Seguí E, Teixidó C, González-Cao M, Galván P, *et al.* Association between PD1 mRNA and response to anti-PD1 monotherapy across multiple cancer types. *Ann Oncol.* 2018;29(10):2121-8. DOI: 10.1093/annonc/mdy335
- Snyder A, Makarov V, Merghoub T, Yuan J, Zaretsky JM, Desrichard A, *et al.* Genetic Basis for Clinical Response to CTLA-4 Blockade in Melanoma. *N Engl J Med.* 2014;371(23):2189-99. DOI: 10.1056/NEJMoa1406498
- Carbone DP, Reck M, Paz-Ares L, Creelan B, Horn L, Steins M, *et al.* First-line nivolumab in stage IV or recurrent non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med.* 2017;376(25):2415-26. DOI: 10.1056/NEJMoa1613493
- Hellmann MD, Ciuleanu TE, Pluzanski A, Lee JS, Otterson GA, Audigier-Valette C, *et al.* Nivolumab plus ipilimumab in lung cancer with a high tumor mutational burden. *N Engl J Med.* 2018;378(22):2093-104. DOI: 10.1056/NEJMoa1801946
- Ramalingam SS, Hellmann MD, Awad MM, Borghaei H, Gainer J, Brahmer J, *et al.* Abstract CT078: Tumor mutational burden (TMB) as a biomarker for clinical benefit from dual immune checkpoint blockade with nivolumab (nivo) + ipilimumab (ipi) in first-line (1L) non-small cell lung cancer (NSCLC): identification of TMB cutoff from CheckMate 568. *Cancer Res.* 2018;78(13 Suppl):CT078-CT078. DOI: 10.1158/1538-7445.AM2018-CT078
- Ready N, Hellmann MD, Awad MM, Otterson GA, Gutierrez M, Gainer J, *et al.* First-line nivolumab plus ipilimumab in advanced non-small-cell lung cancer (CheckMate 568): Outcomes by programmed death ligand 1 and tumor mutational burden as biomarkers. *J Clin Oncol.* 2019; 37(12): 992-1000. DOI: 10.1200/JCO.18.01042
- Rosenberg JE, Hoffman-Censits J, Powles T, van der Heijden MS, Balar AV, Necchi A, *et al.* Atezolizumab in patients with locally advanced and metastatic urothelial carcinoma who have progressed following treatment with platinum-based chemotherapy: a single-arm, multicentre, phase 2 trial. *Lancet.* 2016;387(10031):1909-20. DOI: 10.1016/S0140-6736(16)00561-4
- Balar AV, Galsky MD, Rosenberg JE, Powles T, Petrylak DP, Bellmunt J, *et al.* Atezolizumab as first-line therapy in cisplatin-ineligible patients with locally advanced

- and metastatic urothelial carcinoma: a single-arm, multicentre, phase 2 trial. *Lancet*. 2017;389(10064):67-76. DOI: 10.1016/S0140-6736(16)32455-2
37. Cristescu R, Mogg R, Ayers M, Albright A, Murphy E, Yearley J, *et al.* Pan-tumor genomic biomarkers for PD-1 checkpoint blockade-based immunotherapy. *Science*. 2018;362(6411):eaar3593. DOI: 10.1126/science.aar3593
 38. Nadal E, Losa JH. Updates Biomarkers in Immuno-Oncology. *ECO*. 2018;1(1):1-13.
 39. Chan TA, Yarchoan M, Jaffee E, Swanton C, Quezada SA, Stenzinger A, *et al.* Development of tumor mutation burden as an immunotherapy biomarker: utility for the oncology clinic. *Ann Oncol*. 2019;30(1):44-56. DOI: 10.1093/annonc/mdy495
 40. Samstein RM, Lee CH, Shoushtari AN, Hellmann MD, Shen R, Janjigian YY, *et al.* Tumor mutational load predicts survival after immunotherapy across multiple cancer types. *Nat Genet*. 2019;51(2):202-6. DOI: 10.1038/s41588-018-0312-8
 41. Le DT, Durham JN, Smith KN, Wang H, Bartlett BR, Aulakh LK, *et al.* Mismatch repair deficiency predicts response of solid tumors to PD-1 blockade. *Science*. 2017;357(6349):409-13. DOI: 10.1126/science.aan6733
 42. Scarpa A, Cataldo I, Salvatore L. Microsatellite Instability - Defective DNA Mismatch Repair. *OncologyPRO* [Internet]. 2016 [consultado 13/03/2019]. Disponible en: <https://oncologypro.esmo.org/Education-Library/Factsheets-on-Biomarkers/Microsatellite-Instability-Defective-DNA-Mismatch-Repair>
 43. Bonneville R, Krook MA, Kautto EA, Miya J, Wing MR, Chen HZ, *et al.* Landscape of Microsatellite Instability Across 39 Cancer Types. *JCO Precis Oncol*. 2017;1(1):1-15. DOI: 10.1200/PO.17.00073
 44. Abida W, Cheng ML, Armenia J, Middha S, Autio KA, Vargas HA, *et al.* Analysis of the Prevalence of Microsatellite Instability in Prostate Cancer and Response to Immune Checkpoint Blockade. *JAMA Oncol*. 2019;5(4):471-8. DOI: 10.1001/jamaoncol.2018.5801
 45. Lemery S, Keegan P, Pazdur R. First FDA Approval Agnostic of Cancer Site — When a Biomarker Defines the Indication. *N Engl J Med*. 2017;377(15):1409-12. DOI: 10.1056/NEJMp1709968
 46. Viale G, Trapani D, Curigliano G. Mismatch Repair Deficiency as a Predictive Biomarker for Immunotherapy Efficacy. *BioMed Res Int*. 2017;2017:1-7. DOI: 10.1155/2017/4719194
 47. Schrock AB, Ouyang C, Sandhu J, Sokol E, Jin D, Ross JS, *et al.* Tumor mutational burden is predictive of response to immune checkpoint inhibitors in MSI-high metastatic colorectal cancer. *Ann Oncol*. 2019;30(7):1096-103. DOI: 10.1093/annonc/mdz134
 48. Ayers M, Lunceford J, Nebozhyn M, Murphy E, Loboda A, Kaufman DR, *et al.* IFN- γ -related mRNA profile predicts clinical response to PD-1 blockade. *J Clin Invest*. 2017;127(8):2930-40. DOI: 10.1172/JCI91190
 49. Solomon B, Young RJ, Rischin D. Head and neck squamous cell carcinoma: Genomics and emerging biomarkers for immunomodulatory cancer treatments. *Semin Cancer Biol*. 2018;52(Pt 2):228-40. DOI: 10.1016/j.semcancer.2018.01.008
 50. Fehrenbacher L, Spira A, Ballinger M, Kowanetz M, Vansteenkiste J, Mazieres J, *et al.* Atezolizumab versus docetaxel for patients with previously treated non-small-cell lung cancer (POPLAR): a multicentre, open-label, phase 2 randomised controlled trial. *The Lancet*. 2016;387(10030):1837-46. DOI: 10.1016/S0140-6736(16)00587-0