



***TRIPLE TERAPIA EN EL CÁNCER:
INHIBIDORES DE REPARACIÓN DE ADN,
RADIOTERAPIA E INMUNOTERAPIA***

Paula Gómez Estévez

Trabajo fin de grado

Departamento de Biología Celular

Grado en Biología, Universidad de Sevilla

Tutor: Daniel Gómez Cabello

Curso 2022-2023

Resumen

El presente trabajo fin de grado se centra en el estudio de la triple terapia en el cáncer: inhibidores de reparación de ADN, radioterapia e inmunoterapia. El objetivo principal de esta investigación es analizar la eficacia, así como la toxicidad de su aplicación, para garantizar una mayor supervivencia general obtenida.

En primer lugar, se realiza una introducción sobre la enfermedad y los tratamientos usados en la actualidad, para posteriormente abordar de forma individual cada una de las tres terapias en las que se enfoca el trabajo. Asimismo, se estudian ensayos clínicos y las posibles combinaciones de terapias dos a dos.

Por último, se lleva a cabo una revisión de las tres terapias en combinación, lo que hoy en día se conoce como la triple terapia en el cáncer, junto con los resultados obtenidos en diferentes ensayos terapéuticos.

Abstract

This thesis focuses on the study of triple therapy in cancer: DNA repair inhibitors, radiotherapy and immunotherapy. The main objective of this research is to analyse the efficacy, as well as the toxicity of its application, in order to guarantee a better overall survival.

First, an introduction to the disease and the treatments currently used is given, followed by an individual approach to each of the three therapies on which the work focuses. In addition, clinical trials and possible combinations of two-by-two therapies are discussed.

Finally, a review of the three therapies in combination, what is now known as triple therapy in cancer, and the results of different therapeutic trials are presented.

Palabras clave: cáncer, células tumorales, metástasis, DDR, radioterapia, radiación ionizante, inmunoterapia, efecto abscopal, puntos de control inmunitarios, células T, letalidad sintética, ambiente tumoral.

Abreviaturas: respuesta al daño del ADN (DDR) radioterapia (RT), radiación ionizante (IR), inhibidores de puntos de control inmunitarios (ICI), células asesinas naturales (NK), radioterapia corporal estereotáctica (SBRT), patrones moleculares asociados a daños (DAMP), microambiente tumoral (TME), transferencia lineal de energía (LET), recombinación homóloga (HR), unión de extremos no homólogos (NHEJ), receptores de reconocimiento de patrones (PRR), citoquina interferón (IFN).

Índice

1. Introducción	3
1.1. Historia del cáncer	3
1.2. Definición del cáncer y su impacto en la salud global	5
1.3. Tratamientos actuales para el cáncer y sus limitaciones.....	7
1.4. Base molecular del cáncer	8
2. Respuesta al daño en el ADN (DDR) y aplicaciones terapéuticas.....	9
3. Fundamentos científicos de la radioterapia.....	12
3.1. Principios de la radiación ionizante	12
3.2. Mecanismos de acción de la radioterapia en las células tumorales	13
3.3. Tipos de cáncer tratados con radioterapia.....	15
4. Fundamentos científicos de la inmunoterapia.....	16
4.1. Vías inmunitarias innatas	16
4.2. Vías inmunitarias adaptativas	17
4.3. Inmunooncología y DDR.....	18
4.4. Mecanismos de acción de la inmunoterapia en células tumorales.....	19
4.4.1. Inhibidores de puntos de control inmunitarios	20
4.1. Tipos de cáncer tratados con inmunoterapia.....	22
5. Radioterapia e inmunoterapia en combinación	23
5.1. Radiación ionizante y sistema inmunológico	23
5.2. Presentación de casos clínicos y resultados obtenidos	24
6. Triple terapia en el cáncer: inhibidor de DDR, radioterapia e inmunoterapia.....	25
6.1. Nuevos avances en la investigación de la triple terapia.....	25
6.2. Presentación de casos clínicos y resultados obtenidos	27
7. Conclusiones	27
8. Bibliografía.....	28

1. Introducción

1.1. Historia del cáncer

El cáncer ha afectado a la humanidad desde tiempos prehistóricos. El primer caso de cáncer se produjo hace 76 millones de años: un osteosarcoma ubicado en el peroné perteneciente a un *Centrosaurus apertus*, un dinosaurio herbívoro del Cretácico (Ekhtiari et al., 2020).

En humanos, existen rastros históricos que se remontan al año 3000 a.C., en el Antiguo Egipto. Se han hallado importantes papiros, entre ellos, el papiro de Edwin Smith, el texto quirúrgico más antiguo de la historia. En él se recopilan 48 casos de lesiones en el cuerpo humano y sus posibles tratamientos. Cabe destacar que, de todas las lesiones expuestas, ocho de ellas hacían referencia a distintos tipos de cáncer, sobre todo de mama, aunque no se usaría el término como tal hasta varios siglos después. Para los diferentes tumores se proponía la cauterización con la llamada “horquilla de fuego” o, directamente, no hacer nada, ya que se pensaba que no existía tratamiento cuando las protuberancias se habían extendido por todo el pecho y éstas estaban frías y duras al tacto. También adquirió una gran relevancia el papiro de Ebers, donde se describe el cáncer de útero y posibles tratamientos como la fumigación con dátiles frescos y todo tipo de carne quemada (Grazioso & Djouder, 2023).

De la civilización sumeria se encontraron registros en los que se hablaba de “úlceras que se propagan”. En una de las tablillas encontradas aparece el poema *El descenso de Inanna al inframundo*, el cual relata la historia de un paciente tratado con radiaciones, lo cual hace pensar que ya desde entonces se conocía la existencia de minerales con radiactividad y usaban técnicas que se asemejan a lo que hoy en día conocemos como radioterapia (Guy B. Faguet, 2015).

En torno al año 440 a.C., se produjo la primera mastectomía. Heródoto relató en *Los Nueve Libros de la Historia* cómo Democedes, un esclavo griego, extirpó con total éxito un bulto sangrante del pecho de Atosa, la reina de Persia (Guy B. Faguet, 2015).

Es imposible hablar de la historia del cáncer sin mencionar a Hipócrates, conocido hoy en día como el padre de la medicina. Propuso la Teoría Humoral de Medicina, con la cual sostenía que son cuatro los fluidos del cuerpo humano: sangre, flema, bilis amarilla y bilis negra. Según Hipócrates, era el exceso de este último el causante del cáncer. Para hacer referencia a los tumores, usaba la palabra griega “karkinos”, que significa cangrejo. Esto

se debe a la similitud del crustáceo y sus patas con los tumores. Del griego, pasó al latín como “carcinós” o “carcinoma”, hasta finalmente acuñar el término cáncer. Galeno, gran investigador médico de la antigua Grecia y Roma, introdujo la palabra “onkos”, que derivó en el término oncología (López & Cardona, 2021).

En los comienzos del siglo XVII, quedó atrás la teoría de la bilis negra de Hipócrates, que fue reemplazada por la observación y estudio clínico de los casos patológicos. Se realizaron informes detallados sobre operaciones extensivas de cáncer (López & Cardona, 2021).

Giovanni Battista Morgagni, considerado el padre de la anatomía patológica moderna, practicó su primera autopsia en 1704. A partir de este momento, realizó cientos de autopsias que le permitieron descubrir hallazgos anormales en los cuerpos. Esta observación patológica permitió que, en 1713, Bernardino Ramazzini hablase del “factor de riesgo” en el cáncer. De este modo, en 1773 se señaló la relación de las neumopatías, cáncer de escroto y de pulmón, con los deshollinadores de Londres. Poco antes, el tabaco ya había sido asignado como responsable del cáncer oral y nasal (Guy B. Faguet, 2015).

En 1821, Virchow, usó la técnica de la microscopía para el estudio de los tejidos. Observó que el tumor estaba compuesto de células, por lo que el cáncer se trataba de una enfermedad celular y, además, propuso la hipótesis de que las células tumorales se pueden propagar a través del cuerpo y ocasionar nuevas lesiones, lo que hoy en día se conoce como metástasis (López & Cardona, 2021).

El siglo XIX trajo consigo la mayor desinfección y esterilización, además del uso de la anestesia, introducida con éxito por William Morton. Esto, sin lugar a duda, permitió el progreso en la cirugía del cáncer, concretamente en las mastectomías (American Cancer Society, 2014).

En 1899 Marie Curie y su esposo Pierre Curie descubrieron el radio y el polonio, lo cual sentó las bases para el estudio de la radiactividad. Cuatro años atrás, Wilhelm Roentgen había descubierto los rayos X. Había nacido la radioterapia en el tratamiento del cáncer. No obstante, no fue hasta finales del siglo XX, cuando se consiguió una mayor precisión en la ubicación de los tumores para una posterior radiación con las dosis adecuadas en cada caso (Guy B. Faguet, 2015).

Los avances en el cáncer y la búsqueda de tratamientos alternativos a la cirugía, radioterapia y quimioterapia no cesan. Es por este motivo por el que en la década de 1980, se estudió cómo las células del sistema inmunológico reconocen y destruyen las células tumorales, dando lugar al desarrollo de multitud de medicamentos inmunoterapéuticos.

El cáncer ha existido desde tiempos remotos, no es algo moderno como muchos piensan. Si bien, es cierto que, el aumento de la esperanza de vida junto con los distintos y cambiantes estilos de esta, ha traído consigo un incremento en la incidencia de cáncer, también atribuible a los avances en diagnóstico de esta enfermedad (López & Cardona, 2021).

1.2. Definición del cáncer y su impacto en la salud global

El cáncer es una enfermedad genética asociada a mutaciones en genes, causantes de la desregulación de procesos celulares como ciclo celular, reparación de ADN, proliferación y apoptosis, principalmente. Las células tumorales son capaces de invadir localmente y a distancia otros tejidos. La mayoría de los cánceres se desarrollan como consecuencia de daños en los genes de la regulación del ciclo celular. Se define la inestabilidad genómica como el aumento de la tendencia del genoma a producir mutaciones, responsable de la heterogeneidad de las células tumorales. (Jamasi et al., 2022).

En condiciones normales, las células crecen y se multiplican por el proceso que conocemos como ciclo celular, el cual consta de 2 fases: interfase y mitosis o división celular. La primera fase, la interfase, se divide a su vez en fase G1, S y G2 (Ong & Torres, 2020).

Durante la interfase, la célula se encuentra en crecimiento, replicando sus orgánulos y su ADN para la posterior división celular (Ong & Torres, 2020). La mitosis, constituida por la profase, metafase, anafase y telofase, tiene como resultado la formación de dos células hijas idénticas (Wang, 2022).

Existen tres principales puntos de control conservados evolutivamente para asegurar que los procesos críticos hayan sido llevados a cabo correctamente antes de pasar a la siguiente fase y garantizar así la correcta división celular, evitando la formación de células tumorales. El primer punto de control, también conocido como punto de restricción, se produce en el paso de la fase G1 a la fase S. Antes de entrar la célula en mitosis, se produce el segundo punto de control de daños en el ADN. Por último, hay un punto de control de ensamblaje del huso denominado SAC (Matthews et al., 2022).

Según Global Cancer Observatory, en el año 2020 se registraron 19,3 millones de nuevos casos de cáncer en el mundo (18,1 millones sin incluir el cáncer de piel no melanoma) y casi 10 millones de muertes por cáncer (9,9 millones sin incluir el cáncer de piel no melanoma). Se espera que, en las próximas dos décadas, la carga mundial de cáncer sea de 28 millones de pacientes al año, aunque la realidad puede variar debido a los efectos de la pandemia de COVID-19 (Sung et al., 2021).

En las últimas décadas, el número absoluto de pacientes de cáncer en España ha aumentado como consecuencia del aumento poblacional, envejecimiento de la población y la exposición a factores de riesgo (tabaco, alcohol, contaminación y obesidad, entre otros). El cáncer de mama ha superado en frecuencia al cáncer de pulmón (fig.1), aunque este último ha continuado siendo la principal causa de muerte por cáncer si hacemos referencia a ambos sexos.

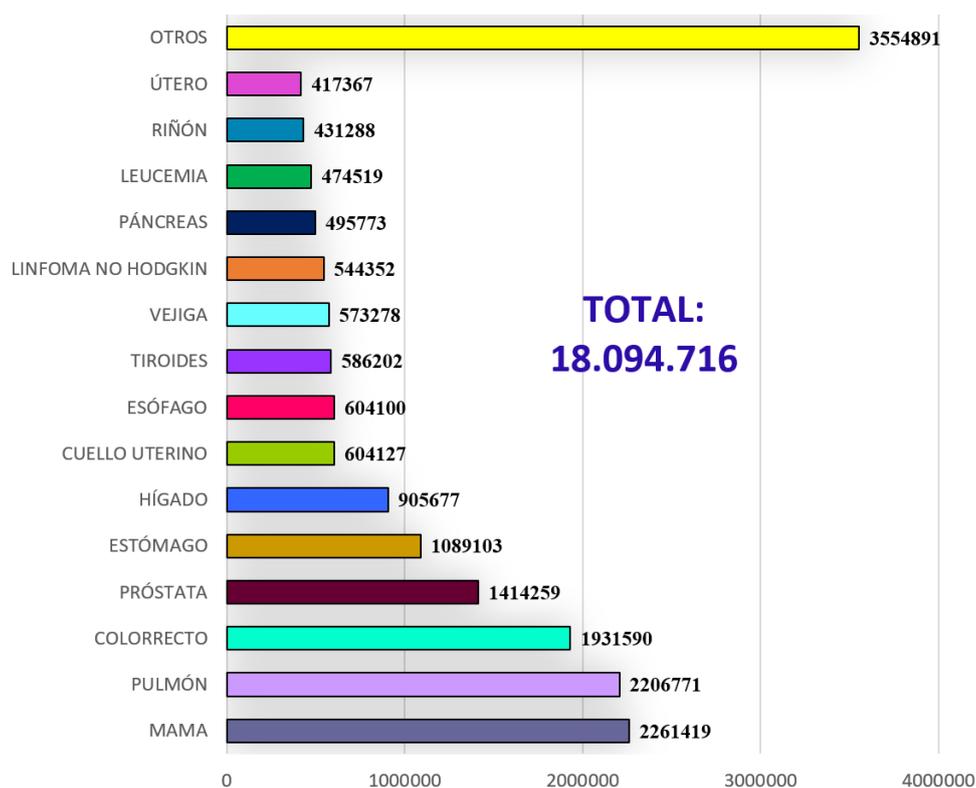


Figura 1: cánceres más frecuentes diagnosticados en el mundo en 2020. Incluidos ambos sexos.

En mujeres, el cáncer de pulmón ha pasado de ser el cuarto tumor más incidente en 2015, a situarse en el tercer puesto desde 2019 en adelante. Esto podría ser debido al aumento del tabaquismo en el sexo femenino a partir de los años 70, por lo que se prevé un aumento de los casos de cáncer de cavidad oral, faringe y vejiga urinaria. En hombres, se estima

que para 2023, el cáncer con más frecuencia diagnosticado sea el cáncer de próstata, seguido de colon y recto y, en tercer lugar, pulmón (Sung et al., 2021).

1.3. Tratamientos actuales para el cáncer y sus limitaciones

En la actualidad, la cirugía, la quimioterapia, la radioterapia, la inmunoterapia y la terapia génica suponen los pilares fundamentales para el tratamiento del cáncer. No obstante, existen otros enfoques terapéuticos de mayor novedad, como la edición de genes con la técnica CRISPR/Cas9, que permite corregir mutaciones en el ADN (Malik et al., 2021).

1. La cirugía constituyó la primera modalidad utilizada con éxito en el tratamiento del cáncer. De hecho, es la única terapia curativa para diversos tumores sólidos. Consiste en la extirpación del tumor y de cualquier tejido circundante afectado. El determinante para lograr el correcto progreso de la cirugía es la ausencia de metástasis. En multitud de ocasiones, la cirugía es usada en combinación con otras terapias (Ps, R., & Bj, S., 2017).
2. La quimioterapia, utiliza fármacos u otras moléculas capaces de afectar al crecimiento y a la propagación de células tumorales. Los quimioterapéuticos pueden ser derivados de plantas o sintéticos. En otras palabras, la quimioterapia administra agentes citotóxicos vía oral o intravenosa, por lo que destruye las células tumorales, ocasionando efectos adversos en algunas células no tumorales (Bukowski et al., 2020).
3. La radioterapia utiliza las radiaciones ionizantes para el tratamiento local del cáncer. Induce daños en el ADN de doble cadena, roturas de una sola cadena, reparaciones incorrectas y aberraciones cromosómicas en las células tumorales, con el objetivo de que estas mueran por apoptosis, catástrofe mitótica y necrosis, entre otras. Además, la radioterapia tiene cierta actividad inmunoestimuladora, potenciando la vigilancia de nuestro sistema inmunológico. La radioterapia localizada actúa con una mayor selectividad frente a la quimioterapia sistémica y cuenta con menos efectos secundarios (Jarosz-Biej et al., 2019).
4. La inmunoterapia potencia el sistema inmunitario del paciente para eliminar las células tumorales. Aunque sea una de las terapias más actuales, declarada por la revista *Science* en 2013 como el “Avance del año”, los fundamentos de este tratamiento fueron establecidos desde hace siglos (Abbott & Ustoyev, 2019).
5. La terapia génica está basada en la introducción de ácido nucleico exógeno mediante un vector, normalmente vírico, en las células diana, para alterar la

expresión génica en células tumorales, con el objetivo de corregir los genes con expresión anómala. (Malik et al., 2021).

1.4. Base molecular del cáncer

El cáncer humano es una enfermedad de base genética y, gracias a los avances científicos, hoy en día es posible conocer muchos de los genes implicados en el proceso del desarrollo de la enfermedad, que se denomina oncogénesis o carcinogénesis. Los protooncogenes son los primeros factores reguladores de este proceso, resultando como factores de crecimiento, transductores de señales celulares y factores de transcripción nuclear, y que tienen una función normal en la célula. Las modificaciones que sufren los protooncogenes, como translocación cromosómica, mutación puntual o amplificación de genes, dan lugar a los oncogenes. Los oncogenes promueven la multiplicación celular y suprimen la apoptosis. Por el contrario, los genes supresores de tumores contribuyen al desarrollo normal de la célula, por lo que la inactivación de sus dos copias contribuye a la tumorigénesis (Kontomanolis et al., 2020). En conclusión, las alteraciones en los protooncogenes y los genes supresores de tumores inducen la independencia de la proliferación celular y las señales mitogénicas extracelulares y, por tanto, la carcinogénesis (Kontomanolis et al., 2020).

Hasta la fecha, se han reconocido hasta 60 oncogenes (Kontomanolis et al., 2020), siendo posible dividirlos en:

1. Factores de transcripción. Contribuyen a la expresión de otros genes y entre los más relevantes encontramos los oncogenes *MYC*, *FOS* y *JUN*. Codifican proteínas que se unen al ADN y activan la transcripción de genes que controlan la replicación del ADN. Cuando aumenta su expresión o se activan exageradamente se produce una proliferación celular no regulada (Dhanasekaran et al., 2022).
2. Factores de crecimiento. Se unen a sus receptores de membrana y activan señales de amplificación que provocan la proliferación. En este grupo destaca PDGF (factor de crecimiento derivado de plaquetas), proteína del oncogen *C-SIS*, entre otros. (Kontomanolis et al., 2020).
3. Receptores para factores de crecimiento. Si sufren alguna alteración, pueden provocar la síntesis de alguna proteína anómala que esté constitutivamente activa y no responda a las señales externas. Destaca el receptor del crecimiento epidérmico, EGF-R, proteína codificada por el gen *CERB* (Kontomanolis et al., 2020).

4. Transductores de señal. Comprenden las proteínas de la familia RAS, con actividad GTPasa. Estas proteínas se unen a la membrana celular, activando distintas vías de transducción de señales produciendo una desregulación en la proliferación celular (Kontomanolis et al., 2020).
5. Reguladores de la apoptosis. Regulan los procesos de muerte celular y senescencia. Es el caso de las proteínas BCL2 (Kontomanolis et al., 2020).

En lo que respecta a los genes supresores de tumores, estos frenan el crecimiento celular o inducen la apoptosis. Algunos genes actúan como factores de transcripción, encargados de dirigir la expresión de otros genes que codifican para proteínas responsables de detener la proliferación. Destaca el gen *P53*, conocido como el guardián del genoma. Además, con la función de corrección transcripcional, encontramos la proteína del retinoblastoma, que actúa en la primera parte de la fase G1. Por último, es imprescindible mencionar el gen *BRCA1* y *BRCA2*, cuyas mutaciones se asocian a la gran mayoría de los casos de cáncer de mama y ovario (Chen et al., 2020).

2. Respuesta al daño en el ADN (DDR) y aplicaciones terapéuticas

Cuando se habla de daño en el ADN, se hace referencia a cambios físicos o químicos que afectan a la interpretación del genoma y a la correcta transmisión de la información genética. El daño puede ser ocasionado por gran variedad de factores, tanto exógenos como endógenos: productos químicos, radiación, radicales libres, cambios topológicos, estrés oxidativo, etcétera. (Srinivas et al., 2019). Por este motivo, las células, con el objetivo de mantener su viabilidad, han desarrollado complejas y precisas vías de reparación.

La conocida respuesta al daño en el ADN o DNA damage response (DDR, en inglés) es una red organizada de múltiples componentes que reparan el ADN dañado y mantienen la fidelidad del genoma. Entre sus componentes encontramos sensores de daño, transductores de quinasa y efectores responsables de la estabilidad genómica y de la precisión en la transmisión de la información genética. La respuesta al daño puede activarse por obstáculos en la replicación de células que se encuentran en crecimiento, por ejemplo: estancamientos, rotura de la horquilla de replicación y lesiones por oxidación, alquilación o desaminación, entre otros. No obstante, la DDR también se activa en células que no se encuentran en replicación. La desregulación de la DDR se observa en las fases previas o tempranas de la oncogénesis (Ye et al., 2021).

Las proteínas DNA-PKcs, ATR y ATM son las quinasas responsables de dirigir la respuesta celular a las roturas de doble cadena del ADN (DSBs, Double Strand Breaks, en inglés). Estas proteínas se encargan de traducción de señales para la reparación del ADN, pero también de la activación de los puntos de control de las fases del ciclo celular, de la preparación para la transcripción, de la apoptosis y de la senescencia. Para cumplir su función, fosforilan numerosos sustratos en respuesta al daño (Groelly et al., 2023).

La maquinaria DDR se puede simplificar en cinco vías de reparación del ADN (fig.2):

1. La recombinación homóloga (HR) repara las roturas de doble cadena del ADN. Es un sistema complejo que requiere de una secuencia homóloga, normalmente la cromátida hermana, que utiliza como plantilla para la reparación de una forma libre de errores. Las proteínas BRCA1 y BRCA2 promueven la reparación precisa del ADN mediante la recombinación homóloga. De este modo, cuando se anula alguno de estos dos genes, se acumulan lesiones que a largo plazo conducen a la tumorigénesis, como ocurre con la mutación de estos genes en tumores de mama y ovario, entre otros. Esta deficiencia puede utilizarse en terapias de letalidad sintética como los fármacos dirigidos a la inhibición de la enzima PARP1 (efector de reparación), no tóxicos para las células normales y realmente citotóxicos para aquellas células con defectos en la recombinación homóloga, especialmente con BRCA1 y BRCA2 alteradas. (Jackson & Bartek, 2009).
2. La unión de extremos no homólogos (NHEJ), al igual que la recombinación homóloga, repara las roturas de doble cadena, principalmente las que se han producido en G1, donde aún no existen cromátidas hermanas que utilizar como secuencia homóloga y, por tanto, no puede actuar la recombinación homóloga. Durante este mecanismo de reparación, se une la rotura del ADN con un complejo de proteínas y con la ayuda de una ligasa específica, se repara siendo un tipo de reparación con posibles errores que puede generar mutaciones. (Zhao et al., 2020).
3. La reparación por escisión de nucleótidos (NER) repara lesiones de ADN que modifican la estructura del ADN, como puede ser la luz UV. Se elimina una secuencia de pocos nucleótidos para luego, mediante una polimerasa específica, reparar el daño fielmente con la secuencia complementaria (Ye et al., 2021).
4. La reparación de errores de emparejamiento (MMR) repara bases de nucleótidos mal emparejados, generadas normalmente durante la replicación y recombinación

del ADN. Los genes mutados relacionados con este sistema de reparación aumenta las probabilidades de cáncer colorrectal (Ye et al., 2021).

5. La reparación por escisión de bases (BER) elimina las bases dañadas por oxidación, alquilación, desaminación y metilación, para evitar bloqueos y errores de replicación y transcripción (Ye et al., 2021).

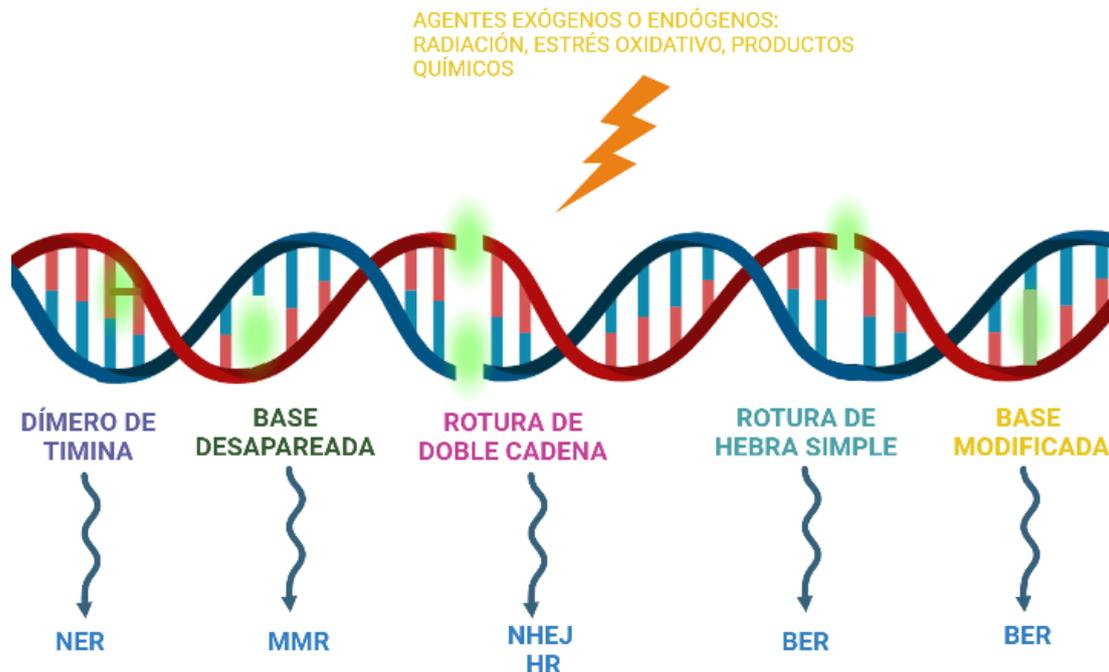


Figura 2. Mecanismos de reparación de ADN.

HR y NHEJ son las vías principales para reparar las roturas del ADN más citotóxicas, como son las roturas de doble cadena del ADN (Ye et al., 2021).

Los defectos en la DDR pueden originar mutaciones, conduciendo en última instancia al desarrollo de cáncer. Las células tumorales se dividen de manera muy rápida, convirtiéndose en células más vulnerables a la inhibición de DDR (Groelly et al., 2023).

La inhibición de DDR (DDRi) está revolucionando el tratamiento del cáncer, ya que ofrece la posibilidad de actuar de una forma letal sintética, matando más selectivamente a las células tumorales, sin afectar a las células normales (fig.3).

La letalidad sintética es el término con el que se conoce al fenómeno capaz de producir múltiples deficiencias en dos o más genes relacionados de forma simultánea, ocasionando la muerte celular o apoptosis (Cheng et al., 2022). Por ejemplo, dado el papel clave de ATR y ATM en la señalización y reparación de roturas de doble cadena, la inhibición de ATR o ATM junto con radioterapia es una combinación terapéutica obvia y atractiva para

la erradicación de tumores, y actualmente está siendo explorada en varios ensayos clínicos (Groelly et al., 2023).

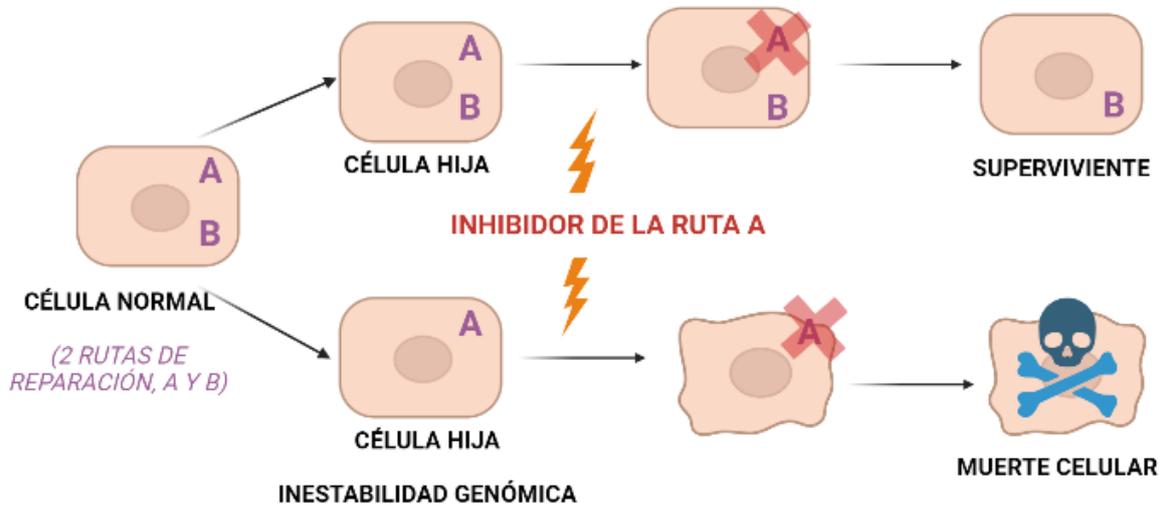


Figura 3. Explotación de las vías DDR para mejorar las respuestas terapéuticas.

3. Fundamentos científicos de la radioterapia

3.1. Principios de la radiación ionizante

La radiación ionizante (IR) hace referencia a cualquier radiación capaz de ionizar, en definitiva, de añadir o eliminar electrones de las moléculas que atraviesa, creando iones cargados positiva o negativamente. Las radiaciones ionizantes pueden ser electromagnéticas o de partículas (Busby, 2022).

Entre las radiaciones electromagnéticas encontramos los rayos X y los rayos γ . Ambos se consideran indirectamente ionizantes, ya que el daño biológico y químico está dominado por las partículas cargadas, que normalmente son electrones. Los neutrones también se engloban en el grupo de ionizantes indirectos (Gong et al., 2021).

Entre las radiaciones de partículas encontramos positrones, protones, neutrones, electrones y partículas α , entre otros. A excepción de los neutrones, todas las partículas mencionadas se encuentran cargadas y son directamente ionizantes porque ionizan de manera directa el medio que atraviesan, produciendo el daño químico y biológico (Baan et al., 2019).

El cuerpo humano puede ser irradiado por fuentes externas o por exposición interna como consecuencia de la ingestión, inhalación, absorción dérmica o inyección de radionúclidos, átomos inestables que emiten radiación ionizante (por ejemplo, el radio o el uranio). Los rayos X y γ son muy penetrantes y pueden, por tanto, atravesar el cuerpo. Todos los tipos de radiación ionizante inducen una amplia gama de daños y efectos, incluidos daños en el ADN, aberraciones cromosómicas, mutaciones, transformación celular y muerte. Los efectos de la radiación dependen de la dosis administrada (Baan et al., 2019). De este modo, en su forma más simple, $R=kD$, siendo R el riesgo de cáncer, k el coeficiente de riesgo de cáncer variable para cada tipo y D la dosis absorbida. No obstante, los seres vivos no somos seres sencillos y homogéneos, por lo que el proceso de tumorigénesis va más allá de una simple fórmula matemática, además de la intervención de otros factores como la microdistribución de energía. (Busby, 2022).

3.2. Mecanismos de acción de la radioterapia en las células tumorales

La radioterapia (RT) constituye uno de los tratamientos actuales para combatir el cáncer, tratando más del 50% de los casos. No obstante, la IR también puede suponer un peligro para las células sanas que se encuentran cercanas a la zona de tratamiento, provocando en el paciente efectos secundarios. La radioterapia puede surtir efecto mediante mecanismos directos o indirectos para destruir las células tumorales. En el caso de los mecanismos directos, la radiación ionizante daña directamente el ADN mediante la formación de roturas de una sola cadena (SSB) y de doble cadena (DSB). Estas roturas provocan la terminación de la división celular e incluso la apoptosis. Por el contrario, en el caso de mecanismos indirectos, la radiación ionizante provoca la radiólisis de moléculas de agua y oxígeno que conducen a la formación de especies reactivas de oxígeno (ROS), inductoras de estrés y alteraciones en las vías de señalización celular (fig.4) (Gong et al., 2021).

Todos los componentes celulares, incluidos el ADN nuclear y mitocondrial, así como los lípidos y proteínas, pueden verse afectados. Las radiaciones de baja LET (transferencia lineal de energía) son menos dañinas, por ejemplo, rayos X y rayos γ . Estas inducen daños oxidativos en las bases y la rotura de una o de las dos cadenas. Las radiaciones de alta LET incluyen protones, partículas α e iones pesados, y suponen daños más graves en las células y tejidos, ocasionando complejas y lesiones agrupadas en el ADN (Averbeck & Rodriguez-Lafrasse, 2021).

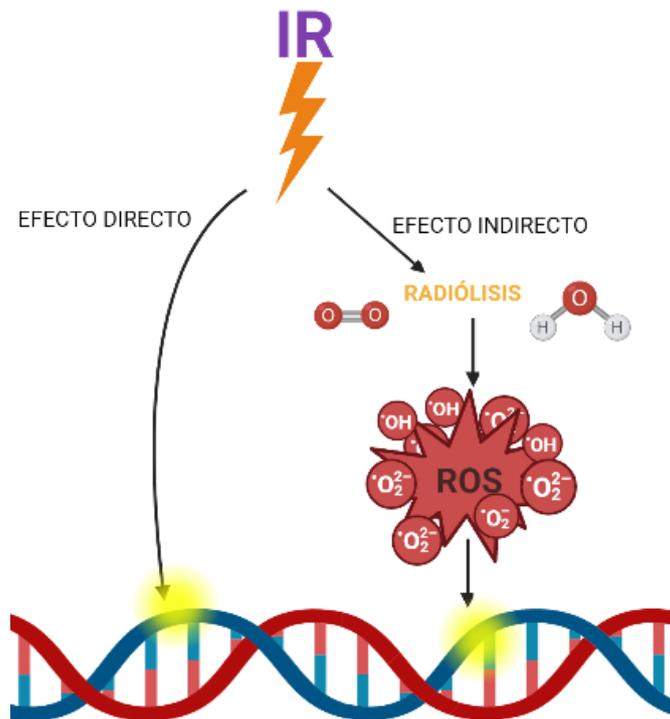


Figura 4. Mecanismo de la radiación ionizante en la radioterapia.

La radioterapia logra su efecto terapéutico al inducir diferentes tipos de muerte celular, aunque las células tumorales no mueren de inmediato, se necesitan horas, días o semanas de tratamiento antes de que las células tumorales comiencen a morir. Entre los distintos tipos de muerte celular que provoca la radioterapia, encontramos la apoptosis, la catástrofe mitótica (ocasionada por una mala segregación de los cromosomas), necrosis (incluye ruptura de la membrana celular), senescencia (células viables, pero sin capacidad de división) y autofagia (Cheng et al., 2022).

En resumen, tras la aplicación de IR se producen numerosos daños que activan la respuesta al daño del ADN (DDR). Estos daños pueden ser reparados correctamente o no, pudiendo originar células del cáncer en este último caso. Si IR es aplicada directamente sobre células tumorales, de forma casi segura, tendrá lugar la apoptosis celular, ya que, por lo general, no podrán actuar sus vías de reparación. Por último, si se combina la inhibición de DDR con la radioterapia, se asegura la automática apoptosis de las células tumorales. Actualmente se utiliza la radioterapia en conjunto con inhibidores selectivos de proteínas que intervienen en DDR, como PARP, DNA-PK, ATM o ATR(Cheng et al., 2022).

La radiación ionizante también es capaz de impulsar una respuesta inmune antitumoral, abriendo paso al descubrimiento del efecto abscopal, conocido como el crecimiento

retardado de metástasis a distancia, tras la irradiación del tumor primario. IR impulsa dicha respuesta inmune antitumoral a través de diversos mecanismos, entre ellos la inducción de muerte celular inmunogénica (ICD). Esta consiste en un tipo de muerte celular programada impulsada por factores de estrés, entre los cuáles se puede encontrar IR y quimioterapia, entre otros. Dado que el efecto abscopal integra la radioterapia y la inmunoterapia, será tratado en profundidad en el punto 5.1. (radiación ionizante y sistema inmunológico) (Zhu et al., 2021).

Actualmente, en la radioterapia moderna se utiliza gran variedad de tecnologías, que han llevado al desarrollo de diferentes tipos de radioterapia. La más común es la radioterapia externa, que utiliza un acelerador lineal. Dentro de esta, encontramos la radioterapia guiada por imágenes, la radioterapia de intensidad modulada y la arcoterapia volumétrica modulada. La braquiterapia es una modalidad de la radioterapia, en la que la radiación emitida se encuentra muy próxima a la zona a tratar o, incluso, en contacto con ella, con el objetivo de perjudicar en la menor medida posible los tejidos sanos. Por último, en la radioterapia intraoperatoria, se administra la radiación durante una intervención quirúrgica (Gong et al., 2021).

Los radiosensibilizadores son moléculas químicas que, aumentan la efectividad de la radioterapia, logrando una mayor inactividad tumoral y teniendo muy baja toxicidad en las células normales. En los últimos años se han estado usando radiosensibilizadores como el cisplatino, ácido ascórbico o metformina (Gong et al., 2021).

3.3. Tipos de cáncer tratados con radioterapia

La RT se encuentra en evolución continua y cada vez son más los aportes de esta al tratamiento del cáncer. La radiación se puede administrar con intención curativa o como tratamiento paliativo para aliviar los síntomas de los pacientes causados por el cáncer. Asimismo, existen estrategias de combinación con otras modalidades de tratamiento, tales como cirugía, quimioterapia o inmunoterapia.

Hay varios tipos de cáncer que, en su etapa temprana, pueden ser curables exclusivamente con radioterapia. Entre ellos encontramos distintos tipos de cáncer de piel, carcinomas de próstata, de pulmón, de cuello uterino, de cabeza y cuello y linfomas (Hodgkin y no Hodgkin). No obstante, existen también otros tipos de cáncer curables con radioterapia en combinación con otros tratamientos, como los carcinomas de mama, rectales, de vejiga

y sarcomas de tejidos blandos, además de los mencionados anteriormente, esta vez en fase avanzada (Baskar et al., 2012).

El cáncer de pulmón es uno de los muchos casos en los que la RT resulta eficaz, aunque su tratamiento es bastante complejo. En un ensayo clínico, se administró radioterapia ablativa estereotáctica (SABR) en pacientes con cáncer de pulmón de células no pequeñas (NSCLC) inoperables o con rechazo a la cirugía, obteniendo muy buenos resultados con una toxicidad reducida y una mejor supervivencia general (Vinod & Hau, 2020). Con el término SABR, se hace referencia a la administración de grandes dosis ablativas de radioterapia en menos fracciones con gran precisión que minimizan el daño en los tejidos sanos (Vinod & Hau, 2020).

4. Fundamentos científicos de la inmunoterapia

La respuesta inmune es un proceso complejo que incluye una amplia variedad de componentes humorales y celulares capaces de detectar estructuras ajenas y proporcionar protección contra patógenos. Se trata de un sistema imprescindible para asegurar la supervivencia de los organismos multicelulares. Las vías inmunitarias se han clasificado en innatas o adaptativas (Ye et al., 2021).

4.1. Vías inmunitarias innatas

La inmunidad innata es el primer sistema inmunológico de defensa contra patógenos. La activación de esta respuesta se basa en los receptores de reconocimiento de patrones (PRR). Estos PRR se encargan de detectar patrones moleculares asociados a daños (DAMP) o patrones moleculares asociados a patógenos (PAMP), con el objetivo de desencadenar una cascada de señalización que produce interferones (IFN), citoquinas y quimioquinas (Ye et al., 2021). Normalmente, el ADN se encuentra en el núcleo y en las mitocondrias de las células eucariotas, por lo que cuando se detecta ADN en otro lugar que no le corresponde, como puede ser el citosol, se desencadena la respuesta inmunitaria en la que intervienen dos PRR centrales: cGAMP sintasa (cGAS) y STING. El ADN citosólico activa cGAS, que, a partir de GTP y ATP, genera cGAMP. Este último activa STING, proteína transmembrana localizada en el retículo endoplasmático, que, al ser activada, se traslada al complejo de Golgi, donde recluta y activa la quinasa de unión a TBK1. TBK1 activa el factor regulador de interferón 3 (IRF3) y la señalización de NF- κ B. Ambos, una vez activados, inducen la transcripción de genes de respuesta inmunitaria innata, incluidos IFN y citoquinas (fig.5).

Por último, las células asesinas naturales, (natural killers, NK) erradican directamente las células tumorales a través de gránulos citolíticos y están en cooperación con otras células inmunitarias a través de citoquinas y quimiocinas proinflamatorias (Y. Zhang & Zhang, 2020).

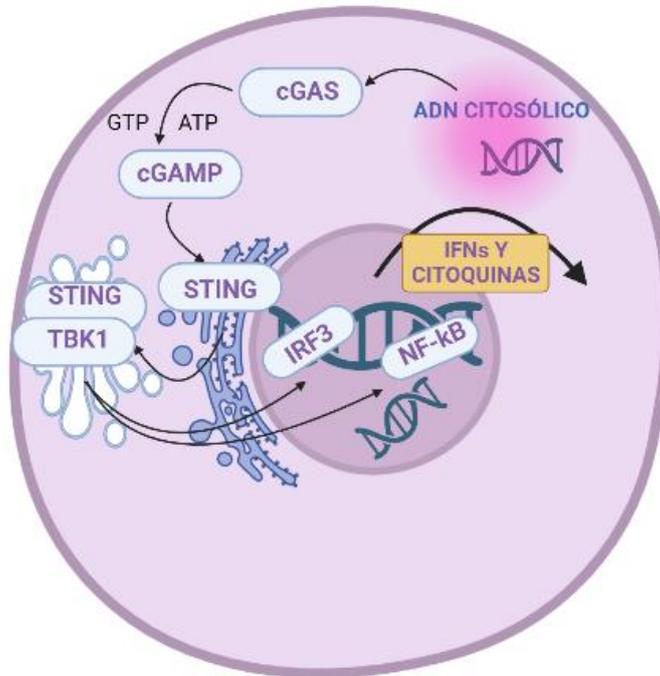


Figura 5. Vía inmunitaria innata cGAS-STING.

4.2. Vías inmunitarias adaptativas

A diferencia del sistema inmunitario innato, caracterizado por la rápida detección de patógenos, el sistema inmunitario adaptativo se caracteriza por la especificidad, la memoria inmunológica y el reconocimiento propio y no propio. Esta respuesta se desarrolla tras una exposición previa al patógeno y es mediada por unas células inmunitarias denominadas linfocitos. La inmunidad adaptativa se divide en dos tipos principales: inmunidad humoral e inmunidad celular.

La inmunidad humoral es mediada por los linfocitos B, que secretan anticuerpos, mientras que la inmunidad celular es mediada por los linfocitos o células T (Song & Deng, 2020). Las células o linfocitos B en respuesta a células tumorales, se diferencian en células B de memoria o células plasmáticas, siendo estas últimas las encargadas de secretar anticuerpos que neutralizan los antígenos diana.

Dentro del entorno tumoral, están involucradas diferentes tipos de células T: células T citotóxicas (linfocitos CD8+), células T auxiliares (linfocitos CD4+) y células T

reguladoras (Treg). Se ha demostrado que el agotamiento de las células T es prevalente en el cáncer (Y. Zhang & Zhang, 2020).

4.3. Inmunooncología y DDR

Se ha demostrado que la inhibición dirigida de DDR (DDRi) estimula las respuestas inmunitarias antitumorales. La DDRi induce la muerte de las células tumorales al desarmar las vías de reparación del ADN, pero también proporciona una vía para estimular las respuestas inmunitarias antitumorales. La apoptosis es considerada un mecanismo de muerte celular programada o no inmunogénico, debido a que se mantiene en todo momento la integridad de la membrana celular. La ruptura de la membrana celular es distintiva de los procesos inmunogénicos, ya que libera DAMP, que son absorbidos por las células dendríticas y posteriormente promueve el procesamiento de neoantígenos, esencial para desencadenar las respuestas de los linfocitos CD4+ y CD8+ (Concannon et al., 2023) (fig.6).

Además, DDRi activa la señalización de cGAS-STING mediante la generación de roturas de doble cadena en el ADN. La reparación de roturas en el ADN implica la resección que produce la acumulación de pequeños fragmentos de ADN en el citosol, que se unen a cGAS y activan la señalización de cGAS-STING.

Por último, la acumulación del daño en el ADN es capaz de promover respuestas en células NK, por lo que DDRi involucra tanto la respuesta inmunitaria innata (células NK), como la respuesta inmunitaria adaptativa (células T) (Concannon et al., 2023).

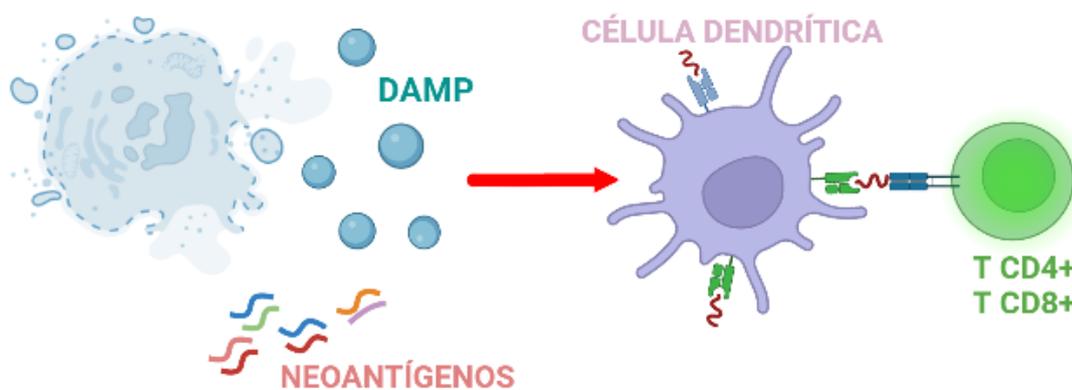


Figura 6. Respuesta antitumoral inducida por DDRi y mediada por células T.

4.4. Mecanismos de acción de la inmunoterapia en células tumorales

Las células T se han convertido en el foco de la inmunología tumoral debido a su potente actividad para destruir tumores. La función de estas comienza con la interacción de los receptores de células T (TCR) con péptidos cortos de antígenos tumorales presentados por moléculas del complejo principal de histocompatibilidad (MHC) (Y. Zhang & Zhang, 2020).

La inmunoterapia contra el cáncer tiene como objetivo mejorar las respuestas inmunitarias antitumorales para atacar las células tumorales a través de mecanismos naturales y con menos efectos secundarios que otras terapias convencionales. Esta terapia tiene el potencial de inducir respuestas duraderas, revolucionando así la investigación del tratamiento del cáncer. El proceso del desarrollo tumoral sucede en tres pasos: eliminación, equilibrio y escape. En la fase de eliminación, los sistemas inmunitarios innato y adaptativo reconocen el antígeno del tumor. Las células tumorales que sobreviven entran en la fase de equilibrio, en la cual el sistema inmunitario adaptativo impide el crecimiento tumoral. Las células tumorales escapan cuando alcanzan la resistencia inmune antitumoral. Las inmunoterapias tienen como principal objetivo manipular el sistema inmunitario y reactivar de esta forma la respuesta inmunitaria antitumoral (Kennedy & Salama, 2020).

Las primeras inmunoterapias utilizadas eran recombinantes de la citoquina interferón- α (IFN α), siendo rápidamente reemplazado por análogos de purina. Poco tiempo después, entró en uso la interleucina-2 recombinante (IL-2), proporcionando resultados muy comprometedores en los pacientes. Sin embargo, se requerían altas dosis, por lo que causó graves efectos adversos. Tras una década, se obtuvo la primera vacuna terapéutica, sipuleucel-T, que consistía en una terapia de células dendríticas autólogas. No obstante, su uso se vio obstaculizado por problemas de producción y, en 2011, se aprobó el primer inhibidor de puntos de control, que se dirige al antígeno 4 de linfocitos T citotóxicos (CTLA4). A partir de ese momento, se han desarrollado nuevas terapias de inhibidores de punto de control que se dirigen a la muerte celular programada: PD-1; o su ligando: PD-L1. También se han aprobado terapias de células T con receptor de antígeno quimérico (CAR). Actualmente hay más de una docena de inmunoterapias para el cáncer, divididas en varios tipos, que veremos más adelante: inhibidores de puntos de control, citoquinas activadoras de linfocitos, terapias de células T, anticuerpos agonistas contra coestimuladores y vacunas (Riley et al., 2019).

4.4.1. Inhibidores de puntos de control inmunitarios

El papel de los inhibidores de puntos de control inmunitarios (ICI) se demostró por primera vez en pacientes con melanoma y cáncer de pulmón de células no pequeñas. La terapia con ICI está demostrando ser efectiva y duradera, aunque los anticuerpos bloqueadores de CTLA-4 y PD-1/PD-L1 pueden provocar efectos secundarios. Una posible solución para disminuir la toxicidad es dirigir la actividad de ICI al microambiente tumoral (TME). Con el término ambiente tumoral se hace referencia al complejo entorno que rodea al tumor y está compuesto por diversas poblaciones de células, entre las que se incluyen las células inmunitarias, en una matriz y con una vascularización limitada. El microambiente metabólico de los tumores puede presentar un entorno inmunosupresor que debe superarse (Groelly et al., 2023).

Los ICI son la clase de inmunoterapia más investigada. Las dos estrategias de inhibición de puntos de control más comunes son el bloqueo de PD-1/PD-L1 y CTLA-4 (Groelly et al., 2023).

Cuando las células T se activan en respuesta a la inflamación, expresan PD-1, que modula la acción de estas, lo que implica la regulación de la respuesta inmunológica evitando una respuesta inmune “exagerada”. Las células tumorales, con el objetivo de evadir el reconocimiento y eliminación por parte de las células T, expresan PD-L1, capaz de unirse a PD-1 e inactivar la acción de las células T, y es que la unión de PD-1 a su ligando, ligando de muerte programada 1 (PD-L1), activa las vías de señalización aguas abajo e inhibe la activación de las células T (fig.7) (Groelly et al., 2023). De hecho, en las biopsias de los tejidos tumorales, se registran los niveles de PD-L1, con el objetivo de predecir una respuesta clínica favorable a las terapias de bloqueo de PD-L1. La expresión de PD-1 se ha detectado en varios tipos de células inmunitarias dentro de TME, incluidos los monocitos activados, las células dendríticas (DC), las células NK y las células T y B. Los inhibidores más utilizados de PD-1 son: nivolumab, pembrolizumab y cemiplimab; y, los inhibidores de PD-L1: atezolimumab, durvalumab y avelumab. (Shiravand et al., 2022).

Por otra parte, CTLA-4 se expresa sólo en las células T, y, mediante su unión a B7, inactiva principalmente la función de CD28, un receptor coestimulador de células T. De este modo, la inhibición de CTLA-4 da como resultado una proliferación de células T no regulada (fig.8). Asimismo, mejora una amplia gama de respuestas inmunológicas, aumentando la actividad de las células T CD4+ y reduciendo la inmunosupresión. Destaca

Ipilimumab (Yervoy), un anticuerpo monoclonal (mAb) capaz de inhibir la función de CTLA-4 (Shiravand et al., 2022).

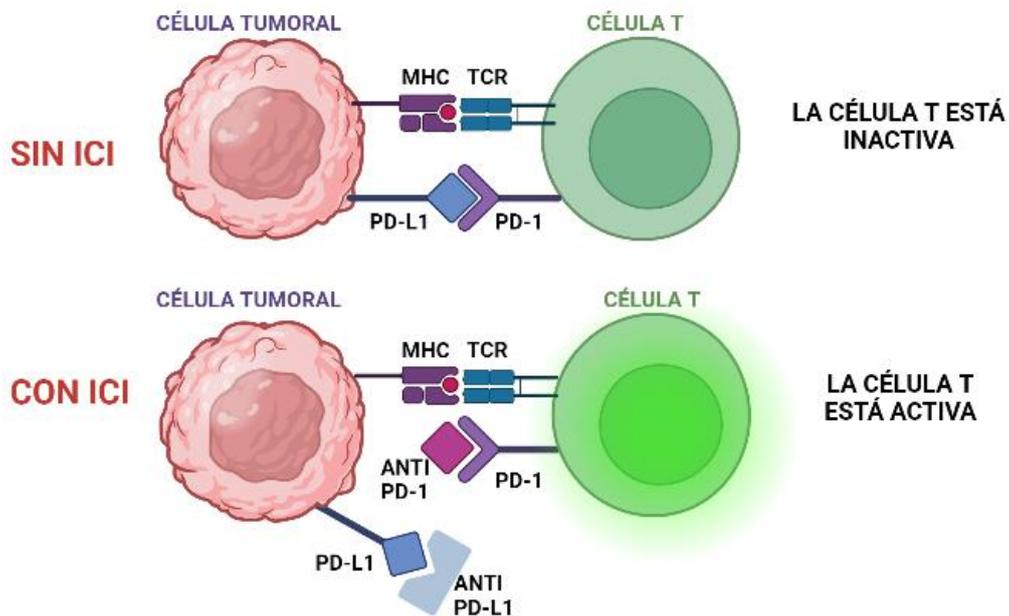


Figura 7. Inhibición de punto de control inmunitario PD-1 y PD-L1.

Como se ha mencionado anteriormente, aunque los inhibidores de puntos de control inmunitarios es el tratamiento inmunoterapéutico más utilizado, existen otros que también han sido aprobados:

1. Citoquinas activadoras de linfocitos: las citoquinas son liberadas por células inmunitarias y no inmunitarias en respuesta a tensiones celulares tales como infección, inflamación y tumorigénesis. La aplicación potencial de las citoquinas en el tratamiento del cáncer se beneficia de la identificación de la interleucina 2 (IL-2). Esta difunde las células T, teniendo propiedades inmunoestimuladoras. Además de la IL-2, el interferón alfa (IFN- α) también es usado en el tratamiento del cáncer, induciendo la senescencia, la apoptosis y el aumento de las respuestas inmunitarias antitumorales (Y. Zhang & Zhang, 2020).
2. Terapias de células T: las terapias de células T, consisten en el aislamiento y modificación de estas en *ex vivo* y la posterior introducción en el paciente con el objetivo de eliminar de manera eficaz las células tumorales (Y. Zhang & Zhang, 2020).
3. Anticuerpos agonistas contra coestimuladores: los anticuerpos agonistas están diseñados para unirse específicamente a los receptores en la superficie de las células T y desencadenar vías de señalización celular que promueven el

crecimiento y la supervivencia de la función de las células T contra las células tumorales. Los receptores de células T a los que se dirigen normalmente son los receptores coestimuladores (CD28) (Riley et al., 2019).

4. Vacunas: las vacunas contra el cáncer utilizan antígenos específicos de tumores para desencadenar respuestas inmunitarias antitumorales mediadas por células T. Destaca la vacuna Sipuleucel-T, basada en las células dendríticas, aprobada para el cáncer de próstata avanzado (Y. Zhang & Zhang, 2020)

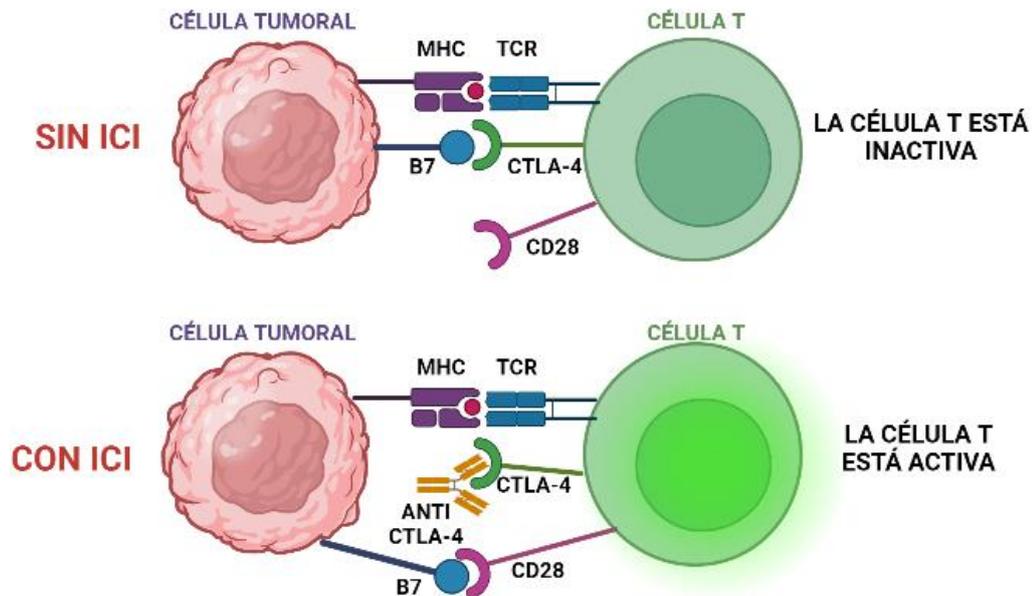


Figura 8. Inhibición de punto de control inmunitario CTLA-4.

4.1. Tipos de cáncer tratados con inmunoterapia

Cada vez es más evidente que la inmunoterapia contra el cáncer es más eficaz cuando se trata a pacientes con una carga de enfermedad limitada. La inmunoterapia permite en muchos casos omitir otros tipos de terapia que tienen efectos permanentes sobre la fertilidad, la salud sexual, los tejidos de algunos órganos, e incluso la memoria.

En total, 11 inhibidores de puntos de control inmunitarios son utilizados en la actualidad, siendo 10 de ellos inhibidores de PD-1/PD-L1. Se encargan de tratar sobre todo melanomas, cáncer de pulmón de células no pequeñas, cáncer de cabeza y cuello, linfoma de Hodgkin, carcinoma urotelial, de células de Merkel, renal, de esófago, cáncer gástrico, de cuello uterino y de endometrio, entre otros (Yi et al., 2022).

La inmunoterapia es una de las estrategias terapéuticas más eficientes en el melanoma debido a la alta inmunogenicidad de este tumor. Los pacientes de melanoma con

metástasis a distancia muestran tras 5 años una tasa de supervivencia del 23%, siendo la metástasis la principal causa de muerte asociada al melanoma. La progresión del melanoma se basa en la falta de activación del sistema inmunitario y la alta capacidad del tumor para el “escape inmunitario”. Inhibidores de puntos de control inmunitarios ya están siendo utilizados con resultados, mientras que otras terapias inmunológicas como las vacunas están siendo exploradas con futuros resultados muy prometedores. No obstante, pocos pacientes alcanzan respuestas clínicas duraderas con la monoterapia, el resultado más exitoso es la combinación de terapias (Ralli et al., 2020).

5. Radioterapia e inmunoterapia en combinación

5.1. Radiación ionizante y sistema inmunológico

La inmunoterapia ha revolucionado el mundo de la oncología y se ha puesto al descubierto una nueva apreciación del papel que desempeña el sistema inmunitario en el control del efecto terapéutico de la radiación ionizante. Estudios han demostrado que la radioterapia e inmunoterapia administradas por separado, tienen una baja eficacia en comparación con la obtenida cuando se aplican simultáneamente ambas. Es natural combinar las dos modalidades de tratamiento ya que una es local y la otra sistemática (Arina et al., 2020).

Para conseguir una inmunidad antitumoral con la combinación de ambas terapias, es necesario inducir el efecto abscopal en tumores primarios y utilizar los fármacos adecuados capaces de actuar sobre los mecanismos de agotamiento de los linfocitos CD8+ y las NK. Recordando qué es el efecto abscopal (ya mencionado en el apartado 3.2), este se produce cuando se trata un tumor con radioterapia y no sólo se producen efectos positivos sobre este, si no también sobre otros tumores lejanos debido a la activación del sistema inmunitario (Arina et al., 2020). En las evaluaciones clínicas, una prueba importante de la inducción del efecto abscopal tras la radioterapia, es la reducción de tumores que no han sido irradiados. La presentación de antígenos y la maduración de células antitumorales, se ve aumentada por la radioinmunoterapia, facilitando el reconocimiento de las células tumorales por parte de las células T. Se encuentra en estudio la búsqueda de la dosificación óptima de radiación para inducir el efecto abscopal. Algunos abogan por dosis ablativas únicas de radiación, mientras que otros sugieren esquemas de fraccionamiento. En 2009, Dewan y colaboradores probaron en modelos de carcinoma de mama una radiación fraccionada en tres dosis de 8 Gy (Gray), frente una sola alta dosis de 20 Gy, obteniendo en el primer caso una mayor eficacia de control de

tumores distales no irradiados en combinación con terapia anti-CTLA-4. Se demostró que cinco dosis de 2 Gy en combinación con el bloqueo anti-PD-L1, fueron suficientes para provocar una respuesta abscopal en diferentes modelos tumorales (Arina et al., 2020).

No obstante, la radioterapia es un arma de doble filo, y, al igual que potencia la respuesta inmune antitumoral sistemática, también promueve en cierta manera el aumento de células inmunosupresoras. Un ejemplo de estas células son las células Treg, encargada del mantenimiento de la homeostasis y, por tanto, causante de efectos inmunosupresores. Sin embargo, se ha descubierto que la supresión de Treg se reduce *in vitro* mediante el bloqueo de PD-1/PD-L1. En conclusión, la vacunación *in situ* inducida por la radiación ionizante es el mecanismo clave transformador de los efectos locales en respuestas abscopales (Z. Zhang et al., 2022).

En la actualidad, se ha incluido un término semejante, conocido como efecto rads copal, en el que se administran bajas dosis de radioterapia sobre la base de la radioterapia estereotáctica, en otras palabras, radioterapia de dosis baja y dosis alta. Es cierto que la dosis alta, como se comentó anteriormente, puede aumentar la inmunosupresión, pero la dosis baja se encargaría de estas limitaciones. De esta forma, ocasionaría leves lesiones en el ADN responsables de la señalización de peligro mediante la vía cGAS-STING y la consiguiente liberación de citoquinas. Esto unido a los DAMP liberados por las células dañadas, aumentaría aún más las respuestas inmunitarias (Z. Zhang et al., 2022).

Para predecir la eficacia del efecto abscopal, se puede usar como biomarcador el recuento absoluto de linfocitos (ALC). Los linfocitos juegan el papel más crucial en la respuesta inmune contra el cáncer, por lo que existe una correlación positiva entre el ALC y la respuesta abscopal, obteniéndose una tasa de respuesta más alta y duradera (Z. Zhang et al., 2022).

5.2. Presentación de casos clínicos y resultados obtenidos

Cada vez hay un mayor número de ensayos clínicos basados en la combinación de los inhibidores de los puntos de control (ICI) con la radioterapia. Uno de los primeros análisis llevados a cabo, mostró cómo pacientes con cáncer de pulmón de células no pequeñas (NSCLC) que recibieron radioterapia antes del tratamiento anti-PD1, habían aumentado la supervivencia libre de progresión (PFS) y la supervivencia general (OS) en comparación con aquellos pacientes a los que no se les había administrado radioterapia previa. Se obtuvo una tasa de respuesta abscopal del 42% en los pacientes de

radioinmunoterapia frente al 20% obtenido en los pacientes de inmunoterapia. En un ensayo clínico de pacientes con cáncer de próstata avanzado resistente a la castración, se administró radioterapia paliativa (una única fracción de 8 Gy) en combinación con el agente anti-CTL4, en una lesión ósea. Esto no mostró resultados positivos en comparación con los pacientes a los que se les había tratado con la misma fracción de radioterapia y placebo. No obstante, la aplicación de fracciones moderadas y múltiples de radioterapia a nivel de pulmón mostraron más eficiencia en la estimulación de la respuesta inmune (Mondini et al., 2020). En el caso de cáncer urotelial metastásico, se investigó la combinación de radioterapia corporal estreotáctica (SBRT) y pembrolizumab (inhibidor de PD-1), administrando de manera simultánea o secuencial (radioterapia antes del primer ciclo de pembrolizumab) ambos tratamientos. Únicamente se obtuvo respuesta en los pacientes del grupo simultáneo, mostrando la eficacia de la radioterapia con ICI y la ausencia de toxicidad (Wilkins et al., 2021).

Aunque son muy exitosos los resultados obtenidos, aún quedan muchas preguntas sin respuesta. Por ejemplo, el momento idóneo para la aplicación de la radioterapia con ICI. Es cierto que, como se explicó en uno de los ensayos anteriores, la radioterapia simultánea parece haber obtenido mejores resultados, aunque siempre hay excepciones e incluso casos (pocos) en los que la monoterapia es suficiente.

6. Triple terapia en el cáncer: inhibidor de DDR, radioterapia e inmunoterapia

6.1. Nuevos avances en la investigación de la triple terapia

Como ya se ha comentado a lo largo del trabajo, se sabe que el daño de ADN inducido por radioterapia activa un mecanismo de respuesta y reparación de daños (DDR). De este modo, la inhibición de DDR conduce a una mayor sensibilidad de las células tumorales a la radioterapia. Además, el daño en el ADN desencadena la vía de señalización cGAS-STING, induciendo la activación del sistema inmunitario. En los últimos años se estudia esta triple terapia en el cáncer como estrategia para dejar a las células tumorales sin escape (Qiu et al., 2022).

Entre los inhibidores de DDR que se han desarrollado, los inhibidores de PARP son los más utilizados. Estos inhibidores permiten la letalidad sintética de las células del cáncer mutantes BRCA, sin tener efectos adversos en las células normales (Qiu et al., 2022), como se comentó en el apartado 3. Aunque las roturas de una cadena son reparadas en primera instancia por PARP-1, su inhibición puede ser no letal debido a otras vías de

reparación, como la HR. Sin embargo, la deficiencia en la funcionalidad de BRCA, componente clave en esta vía, conduce a la letalidad sintética (fig.9) (Qiu et al., 2022).

Más allá de la respuesta al daño del ADN, PARP-1 desempeña un papel inmunostimulador regulando la transcripción de genes de tipos de células inmunitarias, modulando la capacidad de las células CD y afectando directamente en la diferenciación de las células T y B. Por si fuera poco, los inhibidores de PARP (PARPi) generan fragmentos de cromatina citoplasmática, que como se mencionó, activa cGAS-STING, modulando positivamente la respuesta inmune antitumoral del paciente (Chan Wah Hak et al., 2022).

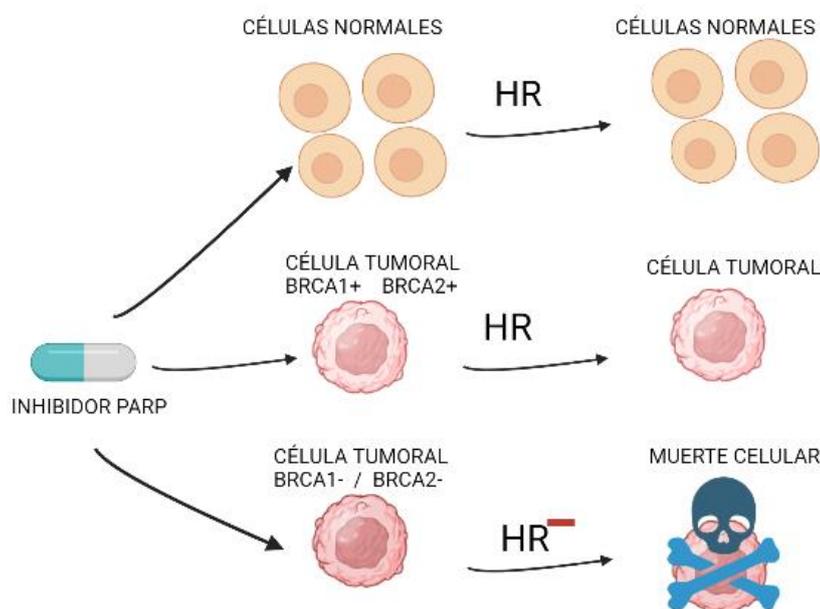


Figura 9. Letalidad sintética de los inhibidores PARP.

También son objeto de estudio los inhibidores de ATM/ATR y DNA-PKcs, que aportan a las células hipersensibilización a la radiación, particularmente en células deficientes en P53. Se ha descrito que la señalización de ATR está asociada con la regulación positiva de PD-L1, debilitando la respuesta inmune. Es por este motivo, por el que el bloqueo de ATR, además de hacer a la célula más susceptible a la radiación mediante la acumulación de daño en el ADN, la catástrofe mitótica y muerte celular, también ejerce un efecto inmunostimulador. La inhibición de ATR aumenta aún más la producción de citoquinas y micronúcleos cGAS positivos en células tumorales tratadas con PARPi (Ye et al., 2021). En el caso de los inhibidores de DNA-PKcs, estos promueven la radiosensibilización a través de la inhibición de NHEJ. En la triple terapia, se espera de

la combinación de PARPi, anti PD-L1 y radioterapia, resultados muy prometedores (Qiu et al., 2022).

6.2. Presentación de casos clínicos y resultados obtenidos

Esta triple terapia se llevó a la práctica en ratones cedidos por el Centro Animal de la Universidad Médica del Sur (China). Previamente, se utilizó AZD6738 (inhibidor de ATR) en ratones con carcinoma hepatocelular (HCC) tras la dosis de radioterapia y se observó que se producía una reducción de la expresión de PD-1 y un aumento de las células T CD8+. Tras estos resultados positivos, se realizó finalmente el experimento de terapia triple. Para ello, se administró a los ratones AZD6738, anti-PD-L1 y radioterapia. Los resultados obtenidos fueron aún mejores que los obtenidos con la radioinmunoterapia, consiguiendo una significativa inhibición del crecimiento tumoral y una prolongación de la supervivencia. Aumentó considerablemente el porcentaje de células T CD4+ y CD8+ que producían IFN- γ , la activación de la vía cGAS-STING y la activación de la memoria inmunológica. La tasa de respuesta de la triple terapia fue de un 83%, frente al 58% conseguida con la radioinmunoterapia. En todo momento, la adición de AZD6738 fue bien tolerada sin efectos adversos en las funciones hepática y renal (Sheng et al., 2020).

7. Conclusiones

El cáncer está presente desde fechas prehistóricas y son muchos los avances en las terapias a lo largo de los años. Desde técnicas más invasivas, nocivas y tóxicas para nuestro organismo, hasta terapias que se valen tan solo de los mecanismos naturales de defensa que posee nuestro cuerpo. La inhibición de DDR desencadena vías inmunitarias y produce una mayor sensibilización de las células tumorales a la radiación. En definitiva, la triple terapia es capaz de abordar el cáncer desde múltiples frentes, por lo que los resultados obtenidos son bastante prometedores. No obstante, aún queda mucho por comprender e investigar para optimizar la administración de radioterapia y conseguir la correcta activación del sistema inmunológico. Por otro lado, se ha de tener en cuenta la gran diversidad que existe en los distintos tipos de cáncer y la fase en la que se encuentran. No todos los pacientes obtienen los mismos resultados con las mismas técnicas empleadas, por lo que siempre hay que ir más allá, impulsando la personalización del tratamiento. La ciencia del cáncer se encuentra en continuo desarrollo, por ende, es imprescindible la investigación y los ensayos preclínicos para alentar el progreso y brindar esperanza a los pacientes y sus familiares.

8. Bibliografía

- Abbott, M., & Ustoyev, Y. (2019). Cancer and the Immune System: The History and Background of Immunotherapy. *Seminars in Oncology Nursing*, 35(5), 150923. <https://doi.org/10.1016/j.soncn.2019.08.002>
- Arina, A., Gutiontov, S. I., & Weichselbaum, R. R. (2020). Radiotherapy and Immunotherapy for Cancer: From “Systemic” to “Multisite”. *Clinical Cancer Research*, 26(12), 2777-2782. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-19-2034>
- Averbeck, D., & Rodriguez-Lafrasse, C. (2021). Role of Mitochondria in Radiation Responses: Epigenetic, Metabolic, and Signaling Impacts. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(20), 11047. <https://doi.org/10.3390/ijms222011047>
- Baan, R. A., Stewart, B. W., & Straif, K. (Eds.). (2019). *Tumour site concordance and mechanisms of carcinogenesis*. International Agency for Research on Cancer, World Health Organization.
- Baskar, R., Lee, K. A., Yeo, R., & Yeoh, K.-W. (2012). Cancer and Radiation Therapy: Current Advances and Future Directions. *International Journal of Medical Sciences*, 9(3), 193-199. <https://doi.org/10.7150/ijms.3635>
- Bukowski, K., Kciuk, M., & Kontek, R. (2020). Mechanisms of Multidrug Resistance in Cancer Chemotherapy. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(9), 3233. <https://doi.org/10.3390/ijms21093233>
- Busby, C. (2022). Ionizing radiation and cancer: The failure of the risk model. *Cancer Treatment and Research Communications*, 31, 100565. <https://doi.org/10.1016/j.ctarc.2022.100565>
- Chan Wah Hak, C. M. L., Rullan, A., Patin, E. C., Pedersen, M., Melcher, A. A., & Harrington, K. J. (2022). Enhancing anti-tumour innate immunity by targeting the DNA damage response and pattern recognition receptors in combination with radiotherapy. *Frontiers in Oncology*, 12, 971959. <https://doi.org/10.3389/fonc.2022.971959>
- Chen, L., Liu, S., & Tao, Y. (2020). Regulating tumor suppressor genes: Post-translational modifications. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 5(1), 90. <https://doi.org/10.1038/s41392-020-0196-9>
- Cheng, B., Pan, W., Xing, Y., Xiao, Y., Chen, J., & Xu, Z. (2022). Recent advances in DDR (DNA damage response) inhibitors for cancer therapy. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 230, 114109. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2022.114109>
- Concannon, K., Morris, B. B., Gay, C. M., & Byers, L. A. (2023). Combining targeted DNA repair inhibition and immune-oncology approaches for enhanced tumor control. *Molecular Cell*, 83(5), 660-680. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2022.12.031>
- Dhanasekaran, R., Deutzmann, A., Mahauad-Fernandez, W. D., Hansen, A. S., Gouw, A. M., & Felsher, D. W. (2022). The MYC oncogene—The grand orchestrator of cancer growth and immune evasion. *Nature Reviews Clinical Oncology*, 19(1), 23-36. <https://doi.org/10.1038/s41571-021-00549-2>
- Ekhtiari, S., Chiba, K., Popovic, S., Crowther, R., Wohl, G., Kin On Wong, A., Tanke, D. H., Dufault, D. M., Geen, O. D., Parasu, N., Crowther, M. A., & Evans, D. C. (2020). First case of osteosarcoma in a dinosaur: A multimodal diagnosis. *The Lancet Oncology*, 21(8), 1021-1022. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(20\)30171-6](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(20)30171-6)
- Faguet, G.B. (2015), A brief history of cancer: Age-old milestones underlying our current knowledge database. *Int. J. Cancer*, 136: 2022-2036. <https://doi.org/10.1002/ijc.29134>
- Gong, L., Zhang, Y., Liu, C., Zhang, M., & Han, S. (2021). Application of Radiosensitizers in Cancer Radiotherapy. *International Journal of Nanomedicine*, Volume 16, 1083-1102. <https://doi.org/10.2147/IJN.S290438>
- Grazioso, T. P., & Djouder, N. (2023). The forgotten art of cold therapeutic properties in cancer: A comprehensive historical guide. *IScience*, 107010. <https://doi.org/10.1016/j.isci.2023.107010>
- Groelly, F. J., Fawkes, M., Dagg, R. A., Blackford, A. N., & Tarsounas, M. (2023). Targeting DNA damage response pathways in cancer. *Nature Reviews Cancer*, 23(2), 78-94. <https://doi.org/10.1038/s41568-022-00535-5>

- Jackson, S. P., & Bartek, J. (2009). The DNA-damage response in human biology and disease. *Nature*, *461*(7267), 1071-1078. <https://doi.org/10.1038/nature08467>
- Jamasbi, E., Hamelian, M., Hossain, M. A., & Varmira, K. (2022). The cell cycle, cancer development and therapy. *Molecular Biology Reports*, *49*(11), 10875-10883. <https://doi.org/10.1007/s11033-022-07788-1>
- Jarosz-Biej, M., Smolarczyk, R., Cichoń, T., & Kułach, N. (2019). Tumor Microenvironment as A “Game Changer” in Cancer Radiotherapy. *International Journal of Molecular Sciences*, *20*(13), 3212. <https://doi.org/10.3390/ijms20133212>
- Kennedy, L. B., & Salama, A. K. S. (2020). A review of cancer immunotherapy toxicity. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, *70*(2), 86-104. <https://doi.org/10.3322/caac.21596>
- Kontomanolis, E. N., Koutras, A., Syllaios, A., Schizas, D., Kalagasidou, S., Pagkalos, A., Alatzidou, D., Kantari, P., & Fasoulakis, Z. (s. f.). *Basic principles of molecular biology of cancer cell-Molecular cancer indicators*.
- Kontomanolis, E. N., Koutras, A., Syllaios, A., Schizas, D., Mastoraki, A., Garmpis, N., Diakosavvas, M., Angelou, K., Tsatsaris, G., Pagkalos, A., Ntounis, T., & Fasoulakis, Z. (2020). Role of Oncogenes and Tumor-suppressor Genes in Carcinogenesis: A Review. *Anticancer Research*, *40*(11), 6009-6015. <https://doi.org/10.21873/anticancerres.14622>
- López, M. M., & Cardona, A. F. (2021). Historia del cáncer y el cáncer en la historia. *Medicina*, *42*(4), 528-562. <https://doi.org/10.56050/01205498.1559>
- Malik, D., Mahendiratta, S., Kaur, H., & Medhi, B. (2021). Futuristic approach to cancer treatment. *Gene*, *805*, 145906. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2021.145906>
- Matthews, H. K., Bertoli, C., & de Bruin, R. A. M. (2022). Cell cycle control in cancer. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, *23*(1), 74-88. <https://doi.org/10.1038/s41580-021-00404-3>
- Mondini, M., Levy, A., Meziani, L., Milliat, F., & Deutsch, E. (2020). Radiotherapy–immunotherapy combinations – perspectives and challenges. *Molecular Oncology*, *14*(7), 1529-1537. <https://doi.org/10.1002/1878-0261.12658>
- Ong, J. Y., & Torres, J. Z. (2020). Phase Separation in Cell Division. *Molecular Cell*, *80*(1), 9-20. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2020.08.007>
- Ps, R., & Bj, S. (2017). *Cancer and cure: A critical analysis*.
- Qiu, Y., Hu, X., Zeng, X., & Wang, H. (2022). Triple kill: DDR inhibitors, radiotherapy and immunotherapy leave cancer cells with no escape. *Acta Biochimica et Biophysica Sinica*, *54*(11), 1569-1576. <https://doi.org/10.3724/abbs.2022153>
- Ralli, M., Botticelli, A., Visconti, I. C., Angeletti, D., Fiore, M., Marchetti, P., Lambiase, A., de Vincentiis, M., & Greco, A. (2020). Immunotherapy in the Treatment of Metastatic Melanoma: Current Knowledge and Future Directions. *Journal of Immunology Research*, *2020*, 1-12. <https://doi.org/10.1155/2020/9235638>
- Riley, R. S., June, C. H., Langer, R., & Mitchell, M. J. (2019). Delivery technologies for cancer immunotherapy. *Nature Reviews Drug Discovery*, *18*(3), 175-196. <https://doi.org/10.1038/s41573-018-0006-z>
- Sheng, H., Huang, Y., Xiao, Y., Zhu, Z., Shen, M., Zhou, P., Guo, Z., Wang, J., Wang, H., Dai, W., Zhang, W., Sun, J., & Cao, C. (2020). ATR inhibitor AZD6738 enhances the antitumor activity of radiotherapy and immune checkpoint inhibitors by potentiating the tumor immune microenvironment in hepatocellular carcinoma. *Journal for ImmunoTherapy of Cancer*, *8*(1), e000340. <https://doi.org/10.1136/jitc-2019-000340>
- Shiravand, Y., Khodadadi, F., Kashani, S. M. A., Hosseini-Fard, S. R., Hosseini, S., Sadeghirad, H., Ladwa, R., O’Byrne, K., & Kulasinghe, A. (2022). Immune Checkpoint Inhibitors in Cancer Therapy. *Current Oncology*, *29*(5), 3044-3060. <https://doi.org/10.3390/curronc129050247>
- Song, J., & Deng, T. (2020). The Adipocyte and Adaptive Immunity. *Frontiers in Immunology*, *11*, 593058. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.593058>

- Srinivas, U. S., Tan, B. W. Q., Vellayappan, B. A., & Jeyasekharan, A. D. (2019). ROS and the DNA damage response in cancer. *Redox Biology*, 25, 101084. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2018.101084>
- Sung, H., Ferlay, J., Siegel, R. L., Laversanne, M., Soerjomataram, I., Jemal, A., & Bray, F. (2021). Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 71(3), 209-249. <https://doi.org/10.3322/caac.21660>
- The American Cancer Society, Evolution of Cancer Treatments: Radiation, <https://www.cancer.org/cancer/cancer-basics/history-of-cancer/cancer-tr...>
- Vinod, S. K., & Hau, E. (2020). Radiotherapy treatment for lung cancer: Current status and future directions. *Respirology*, 25(S2), 61-71. <https://doi.org/10.1111/resp.13870>
- Wang, Z. (Ed.). (2022). *Cell-Cycle Synchronization: Methods and Protocols* (Vol. 2579). Springer US. <https://doi.org/10.1007/978-1-0716-2736-5>
- Wilkins, A., Ost, P., & Sundahl, N. (2021). Is There a Benefit of Combining Immunotherapy and Radiotherapy in Bladder Cancer? *Clinical Oncology*, 33(6), 407-414. <https://doi.org/10.1016/j.clon.2021.02.014>
- Ye, Z., Shi, Y., Lees-Miller, S. P., & Tainer, J. A. (2021). Function and Molecular Mechanism of the DNA Damage Response in Immunity and Cancer Immunotherapy. *Frontiers in Immunology*, 12, 797880. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.797880>
- Yi, M., Zheng, X., Niu, M., Zhu, S., Ge, H., & Wu, K. (2022). Combination strategies with PD-1/PD-L1 blockade: Current advances and future directions. *Molecular Cancer*, 21(1), 28. <https://doi.org/10.1186/s12943-021-01489-2>
- Zhang, Y., & Zhang, Z. (2020). The history and advances in cancer immunotherapy: Understanding the characteristics of tumor-infiltrating immune cells and their therapeutic implications. *Cellular & Molecular Immunology*, 17(8), 807-821. <https://doi.org/10.1038/s41423-020-0488-6>
- Zhang, Z., Liu, X., Chen, D., & Yu, J. (2022). Radiotherapy combined with immunotherapy: The dawn of cancer treatment. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 7(1), 258. <https://doi.org/10.1038/s41392-022-01102-y>
- Zhao, B., Rothenberg, E., Ramsden, D. A., & Lieber, M. R. (2020). The molecular basis and disease relevance of non-homologous DNA end joining. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 21(12), 765-781. <https://doi.org/10.1038/s41580-020-00297-8>
- Zhu, M., Yang, M., Zhang, J., Yin, Y., Fan, X., Zhang, Y., Qin, S., Zhang, H., & Yu, F. (2021). Immunogenic Cell Death Induction by Ionizing Radiation. *Frontiers in Immunology*, 12, 705361. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.705361>