

NUEVAS TERAPIAS EN EL MANEJO DE LOS GLIOMAS DE ALTO GRADO

NEW THERAPIES FOR THE MANAGEMENT OF HIGH GRADE GLIOMAS

DR. RAÚL VALENZUELA (1)

(1) Departamento de Neurología, Facultad de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile. Santiago, Chile.

Email: rvalen@med.puc.cl

RESUMEN

El reto de mejorar el tratamiento actual de los gliomas de alto grado ha sido abordado con inmensa creatividad, desarrollándose una gran variedad de estrategias para este fin. El análisis interino de un estudio fase III mostró que el beneficio de la terapia standard mejora al complementarla con terapia de campos eléctricos alternantes (Novo TTF-100 A); dadas las limitaciones de un análisis interino, queda por establecer la real magnitud y relevancia clínica de esta mejoría. El presunto beneficio de usar tratamiento antiviral contra citomegalovirus es muy controvertido y su utilidad no se ha demostrado en forma fehaciente. Las terapias antiangiogénicas han mostrado ser útiles para el manejo de las recurrencias, al menos como tratamiento sintomático, pero no han demostrado mejorar la sobrevida en pacientes de novo. La terapia dirigida contra señales intracelulares de crecimiento, conceptualmente muy atractiva, todavía no ha logrado resultados clínicos exitosos. Hay datos preliminares promisorios respecto al uso clínico de vacunas antitumorales y de inmunomodulación con inhibidores de "checkpoints"; también hay algunos datos preliminares a favor del uso de virus oncolíticos. La terapia genética parece estar en etapas aún muy tempranas de su desarrollo y probablemente demore más tiempo en llegar a demostrar utilidad clínica.

Palabras clave: Glioma de alto grado, terapias experimentales, glioblastoma, ensayos clínicos, tratamientos experimentales, glioma anaplásico, terapias biológicas, inmunoterapia.

SUMMARY

The challenge of improving the current treatment of high-grade gliomas has been approached with great creativity generating many diverse strategies. An interim analysis of a

phase III trial showed improved results of standard therapy when complemented with alternating electric fields therapy (Novo TTF-100 A); the true magnitude and clinical relevance of this benefit still remains to be determined because of the nature and limitations of interim analyses. The alleged benefit of antiviral treatment against cytomegalovirus is highly controversial and has not been irrefutably proven. Anti-angiogenic therapy has demonstrated utility in the recurrent setting, at least as a symptomatic treatment; in de novo patients no increase in survival has been proven. Targeted Therapy against growth signals, a very appealing concept, has not yet been successful in clinical trials. Anti-tumor vaccines and immunomodulation with checkpoint inhibitors have shown preliminary encouraging results, the same is true about therapy with oncolytic viruses. Gene therapy for this purpose seems to be still in its early stages of development and it will probably take longer before successful clinical application.

Key words: High grade glioma, investigational therapies, glioblastoma, clinical trials, experimental treatments, anaplastic glioma, biological therapies, immunotherapy.

INTRODUCCIÓN

El tratamiento de los gliomas de alto grado es un área de la medicina que siempre ha representado un reto formidable, dado su mal pronóstico y el escaso éxito que se ha obtenido en mejorarlo a pesar de los grandes esfuerzos que se han hecho con este fin. Hasta ahora, los avances han tenido un impacto más bien modesto, pero, han logrado desmentir un fuerte nihilismo terapéutico que imperaba hasta hace poco y que por muchos años mantuvo la visión que no había ninguna terapia que agregara algún beneficio al tratamiento convencional con cirugía y radio-terapia. El cambio comenzó a producirse cuando se demostró

que los tumores de alto grado de estirpe oligodendroglial son altamente quimiosensibles y así es posible obtener respuestas duraderas y rescatar recurrencias en pacientes ya tratados con radioterapia en dosis de máxima tolerancia (1).

Para el caso de los tumores de estirpe astrocítica (astrocitoma anaplásico y glioblastoma), se mantuvo este nihilismo terapéutico en gran parte debido a la escasez de estudios metodológicamente adecuados que mostraran indudablemente, un beneficio significativo de adicionar otras terapias al tratamiento convencional con cirugía y radioterapia. Después de la publicación de Stupp et al (2) que demostró inequívocamente el beneficio adicional de la quimioterapia, ésta empezó a ser universalmente aceptada como terapia *standard*, junto a la cirugía y radioterapia y se empezó a tener una visión más optimista respecto a nuevas terapias.

El objetivo de este trabajo es hacer una breve revisión de las nuevas terapias que están siendo investigadas para mejorar el tratamiento de los gliomas de alto grado, principalmente del Glioblastoma Multiforme (GBM), por lo que todo lo que a continuación se expondrá se refiere a GBM, a menos que se indique expresamente otra cosa en el texto.

Existe una impresionante variedad de estrategias para desarrollar nuevos tratamientos para el Glioblastoma, esto revela una gran creatividad y esfuerzo terapéutico y un importante, aunque aún insuficiente, progreso en el conocimiento de la biología de este tumor. En este trabajo sólo revisaremos las estrategias que actualmente parecen más relevantes por encontrarse en una etapa de su desarrollo más cercana a su uso clínico. Estas pueden ser clasificadas en los siguientes grupos:

- Terapias físicas (Novo TTF-100 A)
- Tratamiento antiviral
- Terapias Antiangiogénicas
- Terapia dirigida contra señales intracelulares de crecimiento
- Vacunas antitumorales
- Modulación inmune a través de inhibición de "checkpoints"
- Virus oncolíticos
- Terapia Génica

TERAPIAS FÍSICAS

El Novo TTF-100 A (también llamado Optune) hace uso de un concepto revolucionario en cuanto no se usan drogas ni radioterapia, sino la aplicación de campos eléctricos de polaridad alternante. Se usan campos de baja intensidad (0.7-1 V /cm) y de frecuencia intermedia (200KHz) aplicados mediante 4 transductores en la piel de la cabeza previamente afeitada, esto durante al menos 18 horas al día. A esta intensidad y frecuencia los campos eléctricos no producen calentamiento ni tampoco estimulación muscular o neural, pero sí producen un efecto

de destrucción selectiva de células mitóticas. Esta destrucción selectiva se atribuye a que los microtúbulos del huso mitótico son moléculas muy polares y por tanto muy susceptibles a los efectos de un campo eléctrico alternante el cual impide su adecuada alineación para conformar un huso mitótico normal; además la forma de reloj de arena que adoptan las células en telofase hace perder uniformidad al campo eléctrico intracelular y se produce un efecto dielectroforético que provoca una migración de moléculas, siguiendo las gradientes de intensidad de campo, esto produce destrucción de membranas y consecuente muerte celular (3). Estos conceptos han sido probados tanto *in vitro* como *in vivo* y se han documentado respuestas clínicas y radiológicas con reducción de tamaño tumoral en pacientes que han recibido esta terapia.

Este tratamiento se ha probado en ensayos clínicos con excelente tolerancia, siendo el principal efecto secundario una dermatitis en el sitio de los electrodos. Un ensayo clínico randomizado lo probó en pacientes con recurrencia de glioblastoma comparándolo con la mejor terapia *standard* de rescate (determinada individualmente a juicio del médico tratante), nuevamente se mostró una excelente tolerancia y no hubo diferencia significativa en la sobrevida total de ambos grupos, lo cual al menos demuestra que tiene alguna actividad clínica (4). A pesar que el estudio no fue diseñado como un estudio de no inferioridad con la terapia *standard*, los datos fueron considerados suficientes para que la agencia FDA de EEUU aprobara en 2011 su uso para GBM recurrente.

Un nuevo ensayo clínico randomizado estudió su uso en pacientes con glioblastoma recién diagnosticado en forma aditiva al actual tratamiento *standard* con radio/quimioterapia con temozolomida (*protocolo Stupp*). Una vez completada la fase concomitante con radioterapia, a los pacientes asignados a Novo TTF-100A se les instaló este dispositivo en un plazo no superior a 7 semanas desde la última dosis de radioterapia, esto como terapia adicional a la continuación del protocolo de quimioterapia *standard* con sus respectivos ciclos mensuales de temozolomida. El estudio contemplaba un análisis interino planificado ("*interim analysis*") el cual mostró que los pacientes tratados con el dispositivo tenían mayor sobrevida libre de progresión y mayor sobrevida total (5). Si bien, los resultados del análisis interino son bastante sólidos en cuanto a mostrar beneficio de Novo TTF-100A, éstos tienen la limitación de no permitir una adecuada estimación de la magnitud de este beneficio, ésta eventualmente podría ser clínicamente marginal, especialmente si se tiene en cuenta el alto costo de la terapia (unos 20.000 dólares mensuales que se gastan principalmente en el frecuente recambio de los transductores de piel). La verdadera relevancia clínica de esta terapia sólo se podrá aclarar dentro de algunos años más, cuando se cuente con un seguimiento más completo y prolongado del total de los pacientes reclutados (6,7).

TRATAMIENTO ANTIVIRAL

Algunos autores han encontrado presencia de proteínas y ácidos nucleicos de citomegalovirus en las células tumorales de glioblastoma pero, no en las células del tejido normal adyacente (8) y han planteado la hipótesis que la presencia de este virus favorece la desdiferenciación y progresión tumoral. Basados en esta hipótesis se ha planteado usar valganciclovir como tratamiento aditivo a la radio/quimioterapia *standard* del protocolo *Stupp*. El estudio original prospectivo, randomizado, controlado y doble ciego (Estudio VIGAS) no logró demostrar diferencias significativas en sobrevida libre de progresión ni en sobrevida total para el grupo de pacientes a los que se les adicionó valganciclovir comparado con el grupo placebo. Sin embargo, un posterior análisis retrospectivo de pacientes tratados con valganciclovir realizado por esos mismos investigadores y que incluía a pacientes del estudio VIGAS y a otros pacientes adicionales, encontró que en aquellos pacientes que habían recibido tratamiento con valganciclovir por más de 6 meses, la mediana de sobrevida era francamente superior a la de pacientes control contemporáneos, obteniendo medianas de sobrevida superiores a 30 meses (9). Estas sobrevidas inusualmente altas para cualquier tratamiento de GBM, a pesar de las limitaciones de un análisis retrospectivo, han despertado un gran interés y han suscitado una fuerte controversia. A pesar del alto costo del tratamiento éste resulta muy atractivo por su buena tolerabilidad y porque la droga está fácilmente disponible para otras indicaciones.

Las principales objeciones a este tratamiento tienen que ver con la naturaleza retrospectiva del estudio y con un posible sesgo de selección dado que se exige como condición de ingreso al análisis, el haber recibido la droga por un período de al menos 6 meses, de esa manera se excluye a los pacientes de peor pronóstico, éstos progresan o fallecen antes de ese período y entonces la muestra se enriquece en pacientes de mejor pronóstico. Otro fuerte argumento en contra de la utilidad del valganciclovir es que el estudio metodológicamente más apropiado (VIGAS) haya sido negativo, si bien eso podría deberse a falta de potencia estadística y a insuficiente tiempo de exposición a la droga. Finalmente hay objeciones al concepto mismo que el citomegalovirus juegue un rol en la patogenia del GBM, porque los estudios de búsqueda de citomegalovirus en tejido tumoral que diversos autores han realizado, han entregado resultados conflictivos. En algunos de ellos se reporta que la presencia del virus es muy frecuente y en otros que es excepcional, esta discrepancia se debe probablemente a diferencias en las técnicas de detección que se usaron. En todo caso, aún en los estudios positivos, la cantidad de proteínas y especialmente de ácidos nucleicos es bastante escasa y su presencia no implica infección propiamente tal (hasta ahora ningún estudio ha logrado probar una genuina infección por el citomegalovirus) (10,11).

En suma, la evidencia actual no avala la utilidad del tratamiento con valganciclovir, aunque no la descarta completamente, asunto que debiera ser estudiado en un adecuado ensayo clínico prospectivo, controlado, randomizado y doble ciego. Actualmente no se justifica el uso de valganciclovir para pacientes con GBM fuera de un estudio clínico.

TERAPIAS ANTIANGIOGÉNICAS

GBM es uno de los cánceres más vascularizados que existen y en este tumor se encuentra altos niveles de expresión del factor pro-angiogénico VEGF (*vascular endothelial growth factor*), esto hace que la angiogénesis sea un blanco terapéutico interesante. Se espera que al atacar la angiogénesis se obtenga una acción antitumoral mediada por varios mecanismos: una inhibición de la vascularización necesaria para la nutrición de las células neoplásicas, un posible efecto tóxico directo contra las células gliomatosas que expresen VEGF o su receptor, una disrupción del nicho microvascular tumoral que provee un microambiente favorable a las células troncales gliomatosas (*tumor stem cells*) y además una normalización funcional y estructural de la microvasculatura. Esto hace cambiar sus características de permeabilidad y capacidad de aporte de oxígeno y nutrientes desde una condición de vasos anormales, preferencialmente favorable, para el desarrollo de células neoplásicas, a una nueva condición de vasos más normales que provee condiciones más favorables para las células normales (12).

La normalización funcional de la microvasculatura, además de producir un efecto propiamente antineoplásico, produce también una disminución del edema vasogénico tumoral con un importante beneficio clínico sintomático y una reducción de los requerimientos de corticoides. Esta mejoría en la permeabilidad vascular también resulta en un cambio de la apariencia radiológica del tumor, disminuyendo su reforzamiento con el medio de contraste y pudiendo producir una "pseudo-respuesta". Es factible que la mayor parte de la respuesta observada a terapias antiangiogénicas sea atribuible a sus efectos sintomáticos/anti edema y a sus efectos imagenológicos y que la acción sobre el tumor sea más bien citostática en vez de tumoricida.

El agente antiangiogénico mejor estudiado actualmente es un anticuerpo monoclonal humanizado contra VEGF, el Bevacizumab (Avastin®). Este medicamento fue estudiado en pacientes con GBM en primera recurrencia a dosis de 10mg/kg cada 2 semanas como agente único o en combinación con irinotecan obteniéndose interesantes resultados. Las tasas de respuesta fueron del orden de 30%, las medianas de sobrevida libre de recurrencia del orden de 4 meses y las medianas de sobrevida total del orden de 8-9 meses. Estas cifras que son claramente mejores que las obtenidas históricamente con otras terapias e hicieron que la FDA aprobara su indicación en GBM

recurrente y llevaron a que actualmente ésta sea una indicación ampliamente usada a nivel mundial. Este mismo estudio no encontró diferencias significativas entre el grupo que usó bevacizumab como monoterapia versus el grupo en que se lo combinó con irinotecan, excepto por una mayor toxicidad en este último grupo (13). Hasta ahora ninguna droga ha demostrado fehacientemente mejorar o potenciar el beneficio de bevacizumab al combinarla con éste, es decir, no se obtiene mejores resultados que con bevacizumab en monoterapia.

El uso de bevacizumab, por su particular mecanismo de acción y por sus efectos sobre la permeabilidad vascular y la apariencia radiológica del tumor, ha producido un aumento en la incidencia de un tipo de patrón de recurrencia de aspecto infiltrativo/difuso en el cual no se ve un crecimiento de masa lesional que se refuerza con contraste (14). Otra particularidad de esta terapia es que, en algunos casos, se ha observado una violenta y acelerada progresión tumoral al suspenderlo; por este motivo hay un estudio clínico en curso que busca determinar si los pacientes que ya están recibiendo bevacizumab al momento de la progresión debieran de todas maneras continuarlo (15).

En vista de los positivos resultados obtenidos en pacientes con GBM recurrente, se hicieron dos estudios en pacientes de novo explorando si era beneficioso el adicionar bevacizumab al tratamiento inicial con radio/quimioterapia del protocolo Stupp. En ambos estudios se observó solamente un aumento de la sobrevida libre de progresión, parámetro que ofrece algunos reparos a su interpretación debido a los ya comentados efectos imagenológicos y anti edema del medicamento. No se observó mejoría en la sobrevida total en ninguno de los dos estudios, aunque esto en parte se podría deber a que un tercio de los pacientes del grupo placebo recibió bevacizumab de rescate una vez que cayeron en recurrencia, lo cual podría atenuar eventuales diferencias de sobrevida con el grupo inicialmente tratado con bevacizumab (16,17).

Se ha usado otros agentes anti-angiogénicos distintos al bevacizumab sin que hasta ahora hayan demostrado beneficios que signifiquen un real progreso respecto al tratamiento standard. Cediranib, un inhibidor de tirosina kinasa con acción sobre múltiples subtipos de receptor de VEGF, no demostró diferencias significativas al compararlo con Lomustina en pacientes con GBM recurrente (18). Enzastaurina, un inhibidor de proteína kinasa C con acción antiangiogénica y acción antigliomatosa directa, tampoco mostró diferencia con Lomustina en pacientes con GBM recurrente (19). En pacientes de novo, la adición a la radio/quimioterapia de Cilengitide, un inhibidor selectivo de integrina $\alpha\beta3-\alpha\beta5$, no demostró beneficio en pacientes con MGMT metilado y tampoco en pacientes con MGMT no metilado (20,21).

TERAPIA DIRIGIDA CONTRA SEÑALES INTRACELULARES DE CRECIMIENTO

El estudio genético de GBM ha encontrado que en la mayoría de estos tumores hay alteraciones en los sistemas de señales intracelulares que normalmente regulan la entrada al ciclo celular y su progresión y que lo detienen y propician la apoptosis cuando detectan daño genético o condiciones en las que es inapropiado que haya multiplicación celular; estos sistemas corresponden principalmente a las vías Rb y p53. En más del 80% de los casos de GBM se encuentra alteración de función en al menos una de estas vías. A esta falla en el control de la proliferación, se agregan variadas alteraciones en las vías de señales intracelulares estimuladoras de la proliferación celular, ya sea a nivel de tirosina kinasas asociadas a receptores de factores de crecimiento o, más distalmente, a nivel de señales secundarias o terciarias, produciendo un aumento de señales estimuladoras o una disminución de su inhibición; estas alteraciones se encuentran en más del 80% de los casos de GBM; el resultado final, es una proliferación celular descontrolada.

Para el caso de GBM resulta particularmente relevante la mutación o amplificación del receptor para EGF, presente en un 40% de los casos; aproximadamente una mitad de ellos (un 20% del total de los GBM, especialmente pacientes mayores de 50 años) tiene específicamente la mutación EGFvIII que produce una molécula truncada que está constitutivamente activada, aún en ausencia de ligando.

En vista de estos datos, resulta particularmente atractivo el tratar de inhibir o detener esta sobre-estimulación de señales proliferativas a diferentes niveles, tal como ya se ha hecho exitosamente en otras neoplasias, principalmente mediante inhibidores de tirosina kinasas asociadas a receptor. Desgraciadamente este enfoque no ha resultado fructífero para GBM; hasta ahora se ha probado sin éxito diferentes inhibidores de tirosina kinasas asociadas a receptores de factores de crecimiento, especialmente de EGF, PDGF, C-met; también se ha intentado infructuosamente inhibidores de señales más distales como Ras/RAF, mTOR y Proteína Kinasa C. Las causas de este fracaso parecen deberse a que las células de GBM tienen múltiples alteraciones simultáneas en diferentes vías y sitios correspondientes a múltiples factores de crecimiento, entonces la inhibición de una de ellas es compensada por vías alternativas redundantes. Tal vez se pueda tener mejor éxito con drogas cuyo efecto sea en múltiples sitios y a múltiples niveles o con combinación de múltiples drogas de acción complementaria (22).

VACUNAS ANTITUMORALES

Un concepto muy atractivo es la inducción de una respuesta inmune activa contra el tumor porque este enfoque tendría la ventaja teórica de una mayor selectividad y menores efectos

adversos, además de una posible mantención prolongada de su efecto a lo largo del tiempo previniendo eventuales recurrencias. Dado que el tumor para poder desarrollarse ha logrado de algún modo evadir al sistema inmune, el desafío es lograr estimularlo y dirigirlo para que produzca una respuesta antitumoral eficaz. Otro problema importante es la heterogeneidad antigénica de las células tumorales y su variabilidad a lo largo del tiempo, por lo tanto, es necesario atacar múltiples antígenos blanco y/o que el antígeno blanco sea esencial para la sobrevida y desarrollo del tumor, de modo que si las células dejan de expresarlo, entonces el tumor detenga su desarrollo.

A pesar de un gran esfuerzo de investigación, hasta ahora son escasas las vacunas que han logrado mostrar resultados clínicos promisorios.

Rindopepimut es una vacuna peptídica que produce una respuesta inmune de tipo humoral y celular contra el receptor a EGF truncado EGFvIII, el cual está presente específica y únicamente en las células gliomatosas de un 20% de los pacientes con GBM. En pacientes con GBM recurrente cuyo tejido es positivo a la presencia de EGFvIII, su uso asociado a Bevacizumab mostró un aumento en las tasas de respuesta, de sobrevida libre de recurrencia y de sobrevida total al comparar con el uso aislado de Bevacizumab en monoterapia (23). Un estudio de fase III en pacientes con GBM recién diagnosticado en el cual se le administró a todos los pacientes la radio/quimioterapia standard del protocolo Stupp y se randomizó la adición de Rindopepimut vs placebo (estudio ACT IV) no logró demostrar aumento de la sobrevida total con la vacuna; esto fue informado en un comunicado emitido a principios de 2016 por la compañía desarrolladora de la vacuna (*Celldex Therapeutics*), esta conclusión se basa en un análisis interino del estudio que motivó la suspensión del reclutamiento de pacientes. En este estudio negativo se encontró una inesperadamente prolongada sobrevida total en el grupo placebo (mediana de 21 meses) la cual no fue significativamente diferente a la del grupo tratado con la vacuna. Es posible que la vacuna tenga mayor efecto si se la administra en combinación con Bevacizumab debido a que éste tiene una acción potenciadora de la respuesta inmune porque favorece la maduración de células dendríticas y el tráfico endotelial de células T (24).

Otro tipo de vacunas consiste en la utilización de células presentadoras de antígenos, específicamente células dendríticas autólogas que son expuestas a un lisado de tejido tumoral del propio paciente y que son estimuladas para que se activen, éstas células activadas son posteriormente reinyectadas al paciente. Un ejemplo de estas células dendríticas autólogas activadas corresponde a la vacuna denominada **DCVax-L**. Si bien el proceso es complicado y toma un tiempo para su preparación individual, tendría la ventaja de ser personalizado para el repertorio antigénico del tumor propio de cada paciente en particular. Estudios clínicos preliminares mostraron resultados interesantes,

con sobrevidas totales superiores a 30 meses en un grupo de pacientes con GBM recién diagnosticado (25). Actualmente esta vacuna está en un estudio de fase III y se espera la publicación de sus resultados en poco tiempo más (26).

Se han desarrollado también otras vacunas contra otros blancos antigénicos expresados en células gliomatosas y que están ausentes en células normales; esta vacunas han mostrado resultados preliminares interesantes pero aún están en etapas iniciales de su desarrollo, entre éstas parecen promisorias la vacunación con el complejo de proteína **heat-shock Gp 96** obtenida del propio tejido tumoral de cada paciente (Complejo proteico autólogo HSPPC-96) y la vacuna de **células dendríticas presentadoras del antígeno pp65 de citomegalovirus**.

MODULACIÓN INMUNE A TRAVÉS DE INHIBICIÓN DE "CHECKPOINTS"

Dentro de las estrategias de supervivencia y crecimiento que utiliza exitosamente el GBM para lograr desarrollarse está su capacidad de evadir al sistema inmune mediante una inmunodepresión. Esta es mediada por factores como la producción de *Transforming Growth factor* (TGF- β) y la expresión y activación de moléculas inmunoregulatoras; estas últimas actúan en el proceso de presentación antigénica como moléculas coestimuladoras de acción inhibitoria sobre la célula T ("checkpoints") evitando su activación y generando una inmunotolerancia al antígeno. Las moléculas inmunoregulatoras o *checkpoints* también actúan inhibiendo una excesiva proliferación de las células T ya activadas y su expresión aumenta en respuesta a la activación de las células T, de este modo ejercen un *feed-back* negativo que evita una respuesta inmune descontrolada.

Los "checkpoints" más estudiados en cáncer corresponden a la activación en la célula T de los receptores PD-1 (susceptibles a inhibición con Nivolumab o Pembrolizumab) y de los receptores CTLA-4 (susceptibles a inhibición con Ipilimumab).

La inhibición de CTLA-4 y de PD-1 permite liberar una respuesta inmune antitumoral que estaba basalmente inhibida produciendo así una eficaz destrucción de células tumorales; este concepto ha demostrado su efectividad y utilidad clínica en el tratamiento de melanoma y de cáncer pulmonar no células pequeñas, incluso en pacientes con metástasis cerebrales de estos tumores. Su uso en GBM está recién explorándose, pero parece promisorio. Un estudio preliminar con Ipilimumab combinado con Bevacizumab en pacientes con GBM recurrente mostró sobrevida a seis meses de 70% (27). Hay estudios en curso para Nivolumab y para Pembrolizumab ya sea en monoterapia o en combinación con bevacizumab; la combinación de Nivolumab con Ipilimumab resultó tener una alta incidencia de toxicidad por lo que se suspendió esa rama del ensayo clínico que la estudiaba (28,29).

VIRUS ONCOLÍTICOS

El uso de virus que producen lisis celular con tropismo selectivo para las células gliomatosas produciría su efecto antitumoral no sólo por destrucción directa de las células tumorales sino también por una activación del sistema inmune al exponer antígenos intracelulares previamente ocultos y combinarlos con antígenos virales favoreciendo su inmunogenicidad. La importancia de esta inmunostimulación es tanto o más relevante que la destrucción directa por lisis de las células tumorales. La principal desventaja de este enfoque es que se requiere inyectar los virus directamente en el tumor mediante una intervención quirúrgica.

Los virus utilizados para este fin son agentes modificados por ingeniería genética para que mantengan su capacidad de replicación e infección pero que lo hagan en forma selectiva para las células tumorales, respetando a las células normales. Un ejemplo de esto es el virus polio modificado PVSRIPO que ha mostrado resultados promisorios en estudios preliminares (30). El receptor celular para virus PVSRIPO corresponde a CD155, también llamada nectin-5, una molécula de adhesión que está sobre-expresada en tumores neuroectodérmicos especialmente en sus células troncales tumorales (*"tumor stem cells"*). Por otro lado, el virus ha sido modificado alterando un segmento de su genoma que es crítico para iniciar la traducción de sus proteínas en las células eucarióticas normales (se ha reemplazado su IRES (*internal ribosome entry site*) por el de un rinovirus); como resultado, el virus es incapaz de replicarse en neuronas normales y no es patógeno; sin embargo, el virus mantiene su capacidad de multiplicación y de lisis en las células neoplásicas porque en ellas está alterada la regulación de la traducción de las proteínas virales y entonces ésta continúa ocurriendo a pesar de la modificación del IRES (31). Otros virus oncolíticos que están siendo estudiados clínicamente corresponden a virus modificados genéticamente del tipo herpes simplex, parvovirus y adenovirus (32-34).

TERAPIA GENÉTICA

La terapia genética antineoplásica consiste en introducir genes en el tejido tumoral para así obtener el efecto deseado. Podemos clasificar las diversas estrategias usadas para este fin en tres tipos:

1. introducción de genes suicidas.
2. introducción de genes que potencien la respuesta inmune antitumoral.
3. Introducción de genes supresores de tumores que restauren el control de la multiplicación celular y la apoptosis.

Para la introducción de estos genes se requiere inyectarlos directamente en el tumor mediante un procedimiento quirúrgico y para introducir el DNA a las células se usa habitualmente un vector, como por ejemplo un virus replicación-deficiente con tropismo selectivo o preferencial por las células tumorales.

Dentro de los **genes suicidas**, el más conocido es el caso de la **Timidina Kinasa de Herpes Simplex**, enzima que no existe en las células humanas y que hace que este virus sea sensible al ganciclovir porque lo transforma en ganciclovir trifosfato que es el verdadero metabolito tóxico para las células que estén sintetizando DNA. La estrategia consiste en introducir este gen a las células tumorales y luego administrar ganciclovir, produciendo así la muerte de las células que están en proceso de replicación; esto tiene además un efecto **"espectador inocente"** consistente en la destrucción de células tumorales adyacentes que no han sido infectadas por el gen. Este efecto "espectador inocente" es probablemente mediado por la incorporación de ganciclovir trifosfato liberado desde las células tumorales infectadas y ya destruidas y también por una activación del sistema inmune. Un estudio de fase III que usó ganciclovir y que se hizo previo a la era de la radio/quimioterapia de *Stupp*, no mostró beneficios de esta terapia al compararla contra un grupo control; ambos grupos solo recibían cirugía y radioterapia (35). Este fracaso se atribuye, al menos parcialmente, a la baja eficiencia de la infección, dado que se logró introducir el gen a sólo un muy bajo porcentaje del total de células tumorales. Para superar este problema se está estudiando múltiples estrategias: desarrollo de vectores más eficientes, co-infección con otros genes terapéuticos adicionales mediante vectores cargados con múltiples genes y la combinación de la terapia genética con otras estrategias antitumorales (por ejemplo agregar quimioterapia con temozolomida y/o inmunoterapia).

Existen varios tipos de vectores utilizables para introducir genes terapéuticos, entre los cuales destaca el uso de retrovirus y de adenovirus, el uso de sistemas sintéticos como liposomas o nanopartículas y el uso de células portadoras de genes terapéuticos, especialmente de células de tipo troncal las cuales tienen especial capacidad migratoria y tropismo por las células gliomatosas. Dentro de este tipo de células portadoras se encuentran las células troncales neuronales y las células troncales mesenquimáticas.

Otro de los genes terapéuticos del tipo suicida que están siendo ensayados, además del de Timidina Kinasa Herpética, está el de **Citosina Deaminasa** que convierte a la 5-fluórcitocina en 5-fluoruracilo. Dentro de los genes terapéuticos potenciadores de la respuesta inmune destaca el uso de los genes para interferón B y para Interleuquina 2. Entre los genes supresores tumorales destaca p53 y p16 (INK4a) (36).

Es muy posible que, en pocos años más, la tecnología para este tipo de tratamiento esté mucho más desarrollada y entonces se logre superar las dificultades técnicas que hasta ahora han impedido traducir los interesantes resultados de modelos experimentales en terapias clínicamente exitosas.

CONCLUSIONES Y COMENTARIO FINAL

En el momento actual, el tratamiento standard del glioblastoma multiforme es la cirugía con una máxima resección segura seguida de radioterapia y quimioterapia con temozolomida según el Protocolo Stupp (2), este tratamiento está sólidamente avalado por la evidencia actualmente disponible. Para el rescate de las recurrencias, el tratamiento es insatisfactorio y las mejores opciones terapéuticas, de acuerdo a la evidencia actualmente disponible, son el uso de quimioterapia alquilante y de bevacizumab; algunos pacientes bien seleccionados también se pueden beneficiar con una reintervención quirúrgica y/o re-irradiación. Otras terapias fuera de las ya mencionadas se pueden considerar como investigacionales.

Dado lo insatisfactorio de los resultados obtenidos con las actuales terapias, se está investigando una multitud de nuevos tratamientos que aplican variados enfoques o estrategias. En esta revisión nos enfocamos sólo en aquellas terapias que han llegado a su aplicación en estudios clínicos; no hemos incluido tratamientos experimentales que aún se encuentran en una fase de estudios in vitro o en modelos animales.

Con la evidencia actualmente disponible, podemos destacar algunos tratamientos de especial interés clínico porque, al menos preliminarmente, han mostrado su potencialidad para ser aplicadas en pacientes con glioblastoma. El uso de terapia de campos eléctricos alternantes (Novo TTF-100 A) adicionado al tratamiento standard con protocolo Stupp demostró beneficio en un estudio de fase III, pero la magnitud y real utilidad clínica de ese beneficio está por establecerse porque hasta ahora sólo contamos con un análisis interino de los resultados. Hasta ahora no hay evidencia sólida que avale el uso de tratamiento anti citomegalovirus en gliomas aunque su eventual utilidad todavía no está completamente descartada; actualmente no se justifi-

ca el uso de valganciclovir para pacientes con GBM fuera del ámbito de un estudio clínico. El uso de bevacizumab y terapias antiangiogénicas para el manejo de recurrencias está avalado por estudios de fase II, los cuales demuestran un claro beneficio sintomático e imagenológico junto a una mejoría en la supervivencia al comparar con series históricas; su uso para el tratamiento de pacientes de *novo* no ha mostrado una utilidad más allá de su acción anti edema cerebral y no ha demostrado aumentar la supervivencia total de estos enfermos. Hasta ahora, los inhibidores de tirosina kinasa y de otras señales intracelulares no han logrado demostrar utilidad clínica. El uso de vacunas antitumorales ha mostrado algunos resultados interesantes y, si bien el ensayo de fase III para la vacuna peptídica rindopepimut resultó negativo, otras vacunas están mostrando resultados preliminares promisorios, entre las que podemos mencionar la vacuna de células dendríticas DCVax-L, que actualmente está siendo probada en un estudio fase III. Una estrategia terapéutica que es especialmente promisoriosa y que pronto podría llegar a su aplicación clínica es la inmunomodulación con los inhibidores de "checkpoints" como Ipilimumab, Nivolumab o Pembrolizumab, su utilidad ya ha sido claramente demostrada en el tratamiento de melanoma y de cáncer de pulmón no células pequeñas, indicaciones para las que ya son ampliamente usados por los oncólogos clínicos; en el caso del glioblastoma la experiencia es todavía preliminar: hay pequeñas series de pacientes en los que se ha obtenido resultados alentadores que han motivado el inicio de varios estudios clínicos que actualmente están en curso.

Los estudios con virus oncolíticos han mostrado algunos resultados interesantes pero, éstos aún son muy preliminares. La terapia genética parece estar todavía en etapas muy tempranas de su desarrollo y probablemente demore más tiempo en llegar a demostrar utilidad clínica.

El autor declara no tener conflictos de interés, en relación a este artículo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Cairncross J, Macdonald D. Successful chemotherapy for recurrent malignant oligodendroglioma. *Ann Neurol*. 1988; 23(4):360-4.
2. Stupp R, Mason W, Van den Bent MJ, et al. Radiotherapy plus concomitant and adjuvant temozolomide for glioblastoma. *N Engl J Med* 2005; 352: 987-96.
3. Davies A, Weinberg U, Palti Y. Tumor treating fields: a new frontier in cancer therapy. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 2013, xxxx: 1-10.
4. Stupp R, Wong E, Kanner A, et al. NovoTTF-100A versus physician's choice chemotherapy in recurrent glioblastoma: A randomised phase III trial of a novel treatment modality. *European Journal of Cancer* 2012; 48: 2192- 2202.
5. Stupp R, Taillibert S, Kanner A, et al. Maintenance Therapy With Tumor-Treating Fields Plus Temozolomide vs Temozolomide Alone for Glioblastoma a Randomized Clinical Trial. *JAMA* 2015; 314 (23): 2535-2543.
6. Viele K, McGlothlin A, Broglio K. Interpretation of Clinical Trials That Stopped Early. *JAMA* 2016; 315 (15): 1646-1647.

7. Sampson J. Alternating Electric Fields for the Treatment of Glioblastoma (Editorial) *JAMA* 2015; 314 (23): 2511-2513
8. Cobbs C, Harkins L, Samanta M, et al. Human cytomegalovirus infection and expression in human malignant glioma. *Cancer Res.* 2002;62(12):3347-3350
9. Söderberg-Nauclér C, Rahbar A, Stragliotto G. Survival in patients with glioblastoma receiving valganciclovir. *N Engl J Med.* 2013;369:985-986
10. Wick W, Michael Platten M. CMV infection and glioma, a highly controversial concept struggling in the clinical arena. *Neuro Oncol* 2014;16(3): 332-333.
11. Solomon I, Ramkissoon S, MD, Milner D, Folkherth R. Cytomegalovirus and Glioblastoma: A Review of Evidence for Their Association and Indications for Testing and Treatment. *J Neuropathol Exp Neurol* 2014; 73(11): 994-998
12. Chamberlain M. Emerging Clinical Principles on the Use of Bevacizumab for the Treatment of Malignant Gliomas. *Cancer* 2010;116:3988-99.
13. Friedman H, Prados M, Wen P, et al. Bevacizumab alone and in combination with irinotecan in recurrent glioblastoma. *JCO* 2009; 27: 4733-4740
14. Potthast L, Chowdhary S, Pan E, Yu D, Zhu W, Brem S. The infiltrative, diffuse pattern of recurrence in patients with malignant gliomas treated with bevacizumab [abstract]. *J Clin Oncol.* 2009;27(suppl 5):101s. Abstract 2057.
15. Brandes A, Mason W, Pichler J, et al. Can bevacizumab prolong survival for glioblastoma patients through multiple lines of therapy? *Future Oncol.* 2014;10(7):1137-45
16. Gilbert M, Dignam J, Armstrong T, et al. A randomized trial of bevacizumab for newly diagnosed glioblastoma. *N Engl J Med.* 2014; 370(8):699-708
17. Chinot O, Wick W, Mason W, et al. Bevacizumab plus radiotherapy-temozolomide for newly diagnosed glioblastoma. *N Engl J Med.* 2014; 370(8):709-22
18. Batchelor T, Mulholland P, Neyns B, et al. Phase III randomized trial comparing the efficacy of cediranib as monotherapy, and in combination with lomustine, versus lomustine alone in patients with recurrent glioblastoma. *J Clin Oncol.* 2013; 31(26):3212-8
19. Wick W, Puduvalli V, Chamberlain M, et al. Phase III study of enzastaurin compared with lomustine in the treatment of recurrent intracranial glioblastoma. *J Clin Oncol.*;28(7):1168-74
20. Nabors L, Fink K, Mikkelsen T, et al. Two cilengitide regimens in combination with standard treatment for patients with newly diagnosed glioblastoma and unmethylated MGMT gene promoter: results of the open-label, controlled, randomized phase II CORE study. *Neuro Oncol.* 2015;17(5):708-17
21. Stupp R, Hegi M, Gorlia T, et al. Cilengitide combined with standard treatment for patients with newly diagnosed glioblastoma with methylated MGMT promoter (CENTRIC EORTC 26071-22072 study): a multicentre, randomised, open-label, phase 3 trial. *Lancet Oncol.* 2014;15(10):1100-8.
22. Van Meir E, Hadjipanayis C, Norden A, et al. Exciting New Advances in Neuro-Oncology. *The Avenue to a Cure for Malignant Glioma.* *CA Cancer J Clin* 2010;60:166-193.
23. Reardon D, Schuster J, Tran D, et al. ReACT: overall survival from a randomized phase II study of rindopepimut (CDX-110) plus bevacizumab in relapsed glioblastoma. *J. Clin. Oncol* 2015; 33 (15 S) (suppl): abstr 2009.
24. Elamin Y, Rafee S, Toomey S, Hennessy B. Immune Effects of Bevacizumab: Killing Two Birds with One Stone. *Cancer Microenviron.* 2015; 8(1): 15-21
25. Prins R, Soto H, Konkankit V, et al. Gene expression profile correlates with T-cell infiltration and relative survival in glioblastoma patients vaccinated with dendritic cell immunotherapy. *Clin Cancer Res.* 2011;17(6):1603-15
26. Polyzoidis S1, Ashkan K. DCVax®-L--developed by Northwest Biotherapeutics. *Hum Vaccin Immunother.* 2014;10(11):3139-45
27. Carter T, Shaw H, Cohn-Brown D, Chester K, Mulholland P. Ipilimumab and Bevacizumab in Glioblastoma. *Clin Oncol (R Coll Radiol).* 2016;28(10):622-6
28. Sampson J, Vlahovic G, Sahebjam S. Preliminary safety and activity of nivolumab and its combination with ipilimumab in recurrent glioblastoma (GBM): CHECKMATE-143. *Journal of Clinical Oncology* 2015; 33 (15 S) (suppl): abstr 3010
29. Curry W, Lim M. Immunomodulation: checkpoint blockade etc. *Neuro-Oncology* 2015; 17: vii26-vii31
30. Desjardins A, Sampson J, Peters K, et al. Oncolytic polio/rhinovirus recombinant (PVSRIPO) against recurrent glioblastoma (GBM): Optimal dose determination. *J Clin Oncol.* 2015;33 (15 S) (suppl): abstr 2068
31. Goetz C, Gromeier M. Preparing an Oncolytic Poliovirus Recombinant for Clinical Application Against Glioblastoma Multiforme. *Cytokine Growth Factor Rev.* 2010; 21:197-203.
32. Lang F, Conrad C, Gomez-Manzano C, et al. Phase I clinical trial of oncolytic virus Delta-24-RGD (DNX-2401) with biological endpoints: implications for viro-immunotherapy. *Neuro-Oncology* 2014; 16 (issue suppl_5): v162-v162
33. Markert J, Razdan S, Kuo H, et al. A phase 1 trial of oncolytic HSV-1, G207, given in combination with radiation for recurrent GBM demonstrates safety and radiographic responses. *Mol Ther.* 2014; 22:1048-55.
34. Geletneký K, Huesing J, Rommelaere J, et al. Phase I/IIa study of intratumoral/intracerebral or intravenous/intracerebral administration of Parvovirus H-1 (ParvOryx) in patients with progressive primary or recurrent glioblastoma multiforme: ParvOryx01 protocol. *BMC Cancer* 2012; 12:99.
35. Rainov N. A phase III clinical evaluation of herpes simplex virus type 1 thymidine kinase and ganciclovir gene therapy as an adjuvant to surgical resection and radiation in adults with previously untreated glioblastoma multiforme. *Hum Gene Ther.* 2000; 11(17):2389-401.
36. Okura H, Smith C, Rutka J. Gene therapy for malignant glioma. *Mol Cell Ther.* 2014; 2: 21.