



Biomarcadores angiogénicos e inmunomoduladores en pacientes tratados con axitinib con carcinoma avanzado de células renales

Introducción

Axitinib es un inhibidor potente y selectivo de las tirosina quinasas (TKI) de VEGFR 1-3, que están implicados en la angiogénesis patológica, el crecimiento tumoral y la progresión metastásica del cáncer. En efecto, axitinib ha demostrado inhibir fuertemente la proliferación y supervivencia de las células endoteliales mediadas por VEGF. Axitinib fue aprobado en muchos países para el tratamiento de segunda línea del carcinoma avanzado de células renales (CCR). En el ensayo AXIS, la mediana de supervivencia libre de progresión (SLP) fue significativamente mayor en pacientes tratados con axitinib frente a sorafenib (HR: 0,67; $p < 0,0001$). La FDA aprobó recientemente las combinaciones de axitinib más avelumab o axitinib más pembrolizumab, al igual que la Comisión Europea, para el tratamiento de primera línea del CCR avanzado.

Actualmente se dispone de algunos biomarcadores de pronóstico en pacientes con CCR metastásico (mRCC), pero no se han identificado marcadores predictivos de eficacia para axitinib en esta población. Se evalúan los niveles de expresión y las firmas de genes potenciales mRNA y miRNA, que podrían ayudar a identificar a los pacientes con mRCC que tienen más probabilidades de beneficiarse de la terapia antiangiogénica. Los estudios de expresión génica identificaron cuatro subtipos de CCR de células claras (ccRCC) (ccrcc1- ccrcc4) que se asociaron con diferentes

respuestas a sunitinib. Estos subtipos de ccrcc1-4 se relacionaron con clasificaciones moleculares previamente identificadas, correlacionables con la respuesta a otros TKI VEGFR y/o fármacos inmunomoduladores basados en la tipificación molecular de los tumores. Otros análisis de expresión génica identificaron firmas pronósticas compuestas de objetivos/vías que regulan la angiogénesis y la respuesta inmune en el mRCC.

También se identificaron posibles firmas de miARN para la estratificación de los pacientes; miR-99b-5p se identificó mediante un perfil completo de miARN, revelando una correlación estadísticamente significativa con el resultado clínico, pero esto no se pudo confirmar en un análisis posterior más cuantitativo. **El presente estudio tuvo como finalidad, utilizando datos del ensayo AXIS, evaluar las posibles asociaciones entre los linfocitos infiltrantes de tumores (TIL; células CD3 +) y los macrófagos asociados a tumores (TAM; células CD68 +), y la eficacia clínica en pacientes con mRCC tratados con axitinib. Además, se propuso explorar los niveles de expresión de ARNm para los genes y las posibles firmas asociadas con la angiogénesis y la infiltración inmune tumoral, y los miARN que previamente han demostrado indicar sensibilidad/resistencia a los TKI VEGFR en el tejido tumoral mRCC, y su asociación con los resultados clínicos.**

Materiales y métodos

El ensayo AXIS (ClinicalTrials.gov: NCT00678392) fue un estudio abierto, aleatorizado y de fase III que evaluó axitinib versus sorafenib en pacientes mayores de 18 años con mRCC de células claras que habían progresado después de un régimen de primera línea previo que contenía sunitinib, bevacizumab más interferón alfa, temsirolimus o citocinas. Los pacientes fueron estratificados según su puntaje ECOG PS y el tipo de terapia previa, y aleatorizados (1: 1) para recibir axitinib (5 mg dos veces al día) o sorafenib (400 mg dos veces al día). El objetivo primario fue la SLP y los secundarios la tasa de respuesta objetiva y la supervivencia general (SG).

Se recogió un subconjunto de muestras de tejido tumoral fijadas en formalina e incluidas en parafina de pacientes inscritos en el AXIS para el análisis de biomarcadores. El tejido tumoral de los

pacientes tratados con axitinib que había sido analizado para ARNm y expresión de miARN también fue evaluado mediante inmunohistoquímica (IHC) para CD3 y CD68, midiendo el porcentaje de células positivas ($[\text{número de células positivas} / \text{número total de células}] \times 100$) y la densidad de células positivas (número de células positivas / mm^2).

Los análisis de los niveles de expresión de ARNm y miARN se realizaron utilizando el panel de biomarcadores de oncología HTG EdgeSeq validado y el ensayo de transcriptoma completo miRNA. El contenido del tumor y la necrosis tisular fueron estimados como el porcentual de células malignas sobre la totalidad de las células. El criterio de aceptación para el análisis se estableció en $>70\%$ de contenido tumoral y $<20\%$ de necrosis.

Resultados

Pacientes

De 723 pacientes incluidos en el AXIS, 52 tratados con axitinib fueron evaluables por IHC. La media etaria fue de 58,3; el 73,1% eran hombres, y todos tenían un ECOG PS de 0 (51,9%) o 1 (48,1%). El 23,1, 34,6 y 42,3% de los pacientes tenían riesgo favorable, intermedio y elevado, respectivamente, según los criterios MSKCC. Respecto de los análisis de ARNm y miARN, se evaluaron 67 (34 y 33 pacientes en los brazos axitinib y sorafenib, respectivamente) y 65 (33 y 32 pacientes en los brazos axitinib y sorafenib, respectivamente); hubo más pacientes en el grupo de bajo riesgo en pacientes tratados con axitinib (38,2%), en comparación con aquellos en el grupo tratado con sorafenib (12,1%).

Células inmunes infiltrantes de tumores en pacientes tratados con axitinib

Se investigó la presencia y correlación clínica de TIL (CD3+) y TAM (CD68+) en el tejido tumoral de archivo de los pacientes tratados con axitinib mediante IHC. Las medianas de la densidad celular fueron 399,5 células/mm² para las células CD3+, y 0,08 células/mm² para las células CD68+. No hubo diferencias significativas entre respondedores versus no respondedores en la densidad celular de CD3+ (601,2 vs. 531,1 células/mm²) o CD68+ (0,11 vs. 0,10 células/mm²). La densidad celular mayor que la mediana para CD68+ se asoció con una mediana de SLP más larga, en comparación con una mediana menor (12,0 vs. 3,7 meses; HR: 0,4; p = 0,008). La predicción de la SLP fue más precisa para los pacientes con ≥ 2 meses de tratamiento con axitinib usando una densidad celular CD68+ (sensibilidad: 83%, especificidad: 87%). La presencia de células CD68+ \geq mediana (5,21%) y la densidad celular CD68+ $>$ mediana (0,08 células/mm²) predijeron significativamente una SLP más larga. Se observó también una correlación para la proteína CD68 (% de células positivas y densidad celular) y la expresión de ARNm de CD68 en pacientes tratados con axitinib.

Análisis de expresión génica de blancos angiogénicos e inmunomoduladores dentro del mRCC

En pacientes tratados con axitinib, los niveles de expresión más bajos ($<$ mediana) de CCR7, ITGA4 y VHL se asociaron con respuesta objetiva (CR + PR). En pacientes tratados con

sorafenib, se asociaron niveles de expresión más bajos ($<$ mediana) de ESM1, GSK3B, NOTCH1, TLR3 y VHL con respuesta objetiva. **En los pacientes tratados con axitinib, los niveles de expresión más altos (\geq mediana) de CXCR4 se asociaron con una SLP más larga, en comparación con los niveles $<$ mediana (9,0 vs. 2,8 meses). Los niveles de expresión más altos (\geq mediana) de TLR3 en pacientes tratados con axitinib, y los niveles de expresión más bajos ($<$ mediana) en pacientes tratados con sorafenib, se asociaron con SLP más larga.** Además, se observó una SG más larga en pacientes tratados con sorafenib que tenían niveles de expresión más bajos ($<$ mediana) de TLR3. Los niveles de expresión más bajos ($<$ mediana) de CCR7 en pacientes tratados con axitinib se asociaron con una SG más prolongada. Asimismo, se observó un efecto de interacción significativo con el tratamiento para los niveles de expresión de CXCR4 y TLR3 y PFS, así como para los niveles de expresión de CD163 y PFS y OS, a pesar de que los principales efectos del tratamiento no alcanzaron significación.

Análisis de expresión de miARN en el mRCC

En los pacientes tratados con axitinib, los niveles de expresión (\geq mediana) de miR-192-3p y miR-99B-5p se asociaron con una respuesta objetiva. La SLP media fue más larga en pacientes con niveles de expresión más altos (\geq mediana) de miR-133A-3p versus $<$ mediana (10,5 vs. 2,8 meses). La mediana de SLP fue más larga en pacientes con niveles de expresión más altos (\geq mediana) de miR-143-5p versus $<$ mediana (7,7 vs. 2,8 meses). Ningún miARN se asoció con diferencias en la SG dentro de ninguno de los brazos de tratamiento. Los niveles de expresión más bajos ($<$ mediana) de miR-183-5p tendieron hacia una SLP más corta en pacientes tratados con axitinib frente a pacientes tratados con sorafenib (4,7 frente a 6,5 meses). Niveles de expresión más altos (\geq mediana) de miR-183-5p tendieron hacia una SLP más larga en pacientes tratados con axitinib versus pacientes tratados con sorafenib (6,5 vs. 2,8 meses). La mediana de SG en pacientes con niveles de expresión más altos (\geq mediana) de miR-221-5p fue más corta en pacientes tratados con axitinib versus pacientes tratados con sorafenib (14,4 frente a 26,8 meses).

Conclusión

Una mayor densidad de células CD68+ se asocia con una SLP más larga; la predicción de la SLP fue más fuerte para los pacientes tratados por al menos 2 meses con axitinib. No hubo asociaciones de eficacia con los niveles de CD3+. Los niveles de expresión CCR7 inferiores ($<$ mediana) se asociaron con una mejor respuesta y mayor SG en pacientes tratados con axitinib. En pacientes tratados con axitinib versus sorafenib, los niveles de expresión de CXCR4 más bajos ($<$ mediana) se asociaron con SLP más corta, mientras que los niveles de expresión de TLR3 más altos (\geq mediana) se asociaron con SLP más larga, lo que sugiere que estos pueden ser biomarcadores potenciales para la selección del tratamiento con CCR.

Referencia:

Murphy DA, Rini BI, Escudier B y col. Angiogenic and immunomodulatory biomarkers in axitinib-treated patients with advanced renal cell carcinoma. *Future Oncol.* (Epub ahead of print) ISSN 1479-6694