



UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

FACULTADE DE MEDICINA E ODONTOLOXÍA

TRABALLO DE FIN DE GRAO DE MEDICINA

TÍTULO: Melanoma uveal: inhibición de puntos de
regulación inmune como diana terapéutica

AUTORA: Pérez Béliz, Edurne

TITOR: Fraga Rodríguez, Máximo Francisco

DEPARTAMENTOS:
Ciencias Forenses, Anatomía Patolóxica,
Xinecoloxía e Obstetricia, e Pediatría

CURSO ACADÉMICO: 2019/2020

CONVOCATORIA: Xullo 2020

Máximo Fco. Fraga Rodríguez, Catedrático de Anatomía Patológica. Departamento de Ciencias Forenses, Anatomía Patológica, Ginecología y Obstetricia y Pediatría. Área de conocimiento de Anatomía Patológica. Facultad de Medicina de la Universidad de Santiago de Compostela.

HACE CONSTAR que la memoria del Trabajo de Fin de Grado-Master, titulado “MELANOMA UVEAL: INHIBICIÓN DE PUNTOS DE REGULACIÓN INMUNE COMO DIANA TERAPÉUTICA” ha sido realizado en el área de conocimiento de Anatomía Patológica del Departamento de Ciencias Forenses, Anatomía Patológica, Ginecología y Obstetricia y Pediatría bajo su dirección y cumple los requisitos legales para su presentación y defensa ante el tribunal correspondiente para aspirar a la titulación del Grado-Master en Medicina y Cirugía.

Lo que firma a los efectos oportunos, en Santiago de Compostela, el 22 de junio de 2020.

A handwritten signature in black ink, consisting of stylized, cursive letters that appear to be 'MFR'.

Resumen

Antecedentes: El melanoma uveal es la neoplasia ocular primaria más frecuente, pese a ser un tumor infrecuente. Su pronóstico es particularmente desfavorable, puesto que la mitad de los pacientes sufren metástasis, y la supervivencia en este grupo es de aproximadamente un año. Asimismo, la localización dificulta el diagnóstico debido a la escasa sintomatología y a la necesidad de una exploración exhaustiva para su detección. Los tratamientos clásicos disponibles no han mostrado gran variación en el curso de la enfermedad. En este trabajo se ha buscado analizar la relevancia de la vía PD-1/PD-L1 en este tumor, así como la eficacia del uso de anticuerpos contra esta diana.

Material y métodos: Se ha realizado una revisión bibliográfica de estilo narrativo de la literatura disponible sobre la expresión de PD-L1 en el melanoma uveal y el uso de fármacos anti-PD-1 y anti-PD-L1 para su tratamiento, seleccionando los estudios mediante una serie de criterios de inclusión y exclusión.

Resultados: En los estudios incluidos se observó positividad para PD-L1 en las células tumorales de melanoma uveal y/o el infiltrado linfocitario (TILs), en rango de 5% a 50% de las muestras. La expresión de PD-L1 se ha encontrado en forma constitutiva correlacionando con bajo grado de TILs y buen pronóstico, y en forma adaptativa correlacionando con alto grado de TILs mal pronóstico del tumor. El bloqueo de la vía PD-1/PD-L1 ha mostrado resultados limitados de forma general, si bien hay casos que exhiben una respuesta excelente.

Conclusión: La expresión de la vía PD-1/PD-L1 en el melanoma uveal podría constituir una de las vías de escape del tumor ante el sistema inmune del paciente; por tanto, su bloqueo supondría una opción terapéutica a tener en cuenta, si bien la respuesta podría estar condicionada por la cantidad de expresión de PD-L1 y las características del microambiente tumoral, entre otros. Sería necesario realizar estudios de mayor tamaño muestral para concretar la eficacia real de los fármacos anti-PD-L1 y anti-PD-1.

Palabras clave: PD-L1, melanoma uveal, inmunoterapia, pembrolizumab, nivolumab.

Resumo

Antecedentes: O melanoma uveal é a neoplasia ocular primaria máis frecuente, pese a ser un tumor infrecuente. O seu pronóstico é particularmente desfavorable, posto que a metade dos pacientes sofre metástases, e a supervivencia neste grupo é de aproximadamente un ano. Así mesmo, a localización dificulta o diagnóstico debido á escasa sintomatoloxía e á necesidade dunha exploración exhaustiva para a súa detección. Os tratamentos clásicos dispoñibles non mostraron gran variación no curso da enfermidade. Neste traballo buscouse analizar a relevancia da vía PD-1/PD-L1 neste tumor, así como a eficacia do uso de anticorpos contra esta diana.

Material e métodos: Realizouse una revisión bibliográfica de estilo narrativo da literatura dispoñible sobre a expresión de PD-L1 no melanoma uveal e o uso de fármacos anti-PD-1 e anti-PD-L1 para o seu tratamento, seleccionando os estudos mediante una serie de criterios de inclusión e exclusión.

Resultados: Nos estudos incluídos observouse positividade para PD-L1 nas células tumorais do melanoma uveal e/ou no infiltrado linfocitario, en rango de 5% a 50% das mostras. A expresión de PD-L1 encontrouse en forma constitutiva correlacionando con baixo grao de TILs e bo pronóstico, e en forma adaptativa correlacionando con alto grao de TILs e

mal prognóstico do tumor. O bloqueio da vía PD-1/PD-L1 mostrou resultados limitados de forma xeral, se ben hai casos que exhiben una resposta excelente.

Conclusión: A expresión da vía PD-1/PD-L1 no melanoma uveal podería constituír una das vías de escape do tumor ante o sistema inmune do paciente; polo tanto, o bloqueio supoñería una opción terapéutica a ter en conta, se ben a resposta podería estar condicionada pola cantidade de expresión de PD-L1 e as características do microambiente tumoral, entre outros. Sería preciso realizar estudos en series máis amplas co fin de concretar a eficacia real dos fármacos anti-PD-L1 e anti-PD1.

Palabras chave: PD-L1, melanoma uveal, inmunoterapia, pembrolizumab, nivolumab.

Abstract

Background: Uveal melanoma is an infrequent cancer, but it is the most common primary tumour of the eye. It has an unfavourable prognosis, as nearly half of the patients develop metastatic disease, and survival within this group is only about one year. Moreover, diagnosis is often difficult due to the tumour location and the usual absence of symptomatology. Available treatments haven't improved substantially the outcome. In this study we aimed to analyze the relevance of the PD-1/PD-L1 pathway in this malignancy, as well as the efficacy of antibodies targeting PD-1 or PD-L1.

Material and methods: We performed a review of the literature about PD-L1 expression in and the usage of anti-PD-1 or anti-PD-L1 drugs in uveal melanoma. Studies were selected according to specific inclusion and exclusion criteria.

Results: Positive staining for PD-L1 in uveal melanoma tumour cells or tumour-infiltrating lymphocytes (TILs) was observed in all the studies, ranging from 5% to 50% of the cases. On one hand, PD-L1 constitutive expression was found correlating with low TILs and good prognosis; on the other hand, adaptive expression was found correlating with high TILs and worse prognosis. Drugs targeting PD-1/PD-L1 pathway have shown lack of efficacy in general, though a few cases showing exceptional response have been reported.

Conclusion: The expression of PD-L1 in uveal melanoma could be one way in which the cancer cells escape from immunovigilance; hence, checkpoint blockade could be useful. Nevertheless, the efficacy of these drugs could be influenced by the quantity of PD-L1 expression or the microenvironment status, so these characteristics should be taken into consideration. Larger studies are needed to clarify the efficacy of anti-PD-L1 and anti-PD-1 drugs.

Key words: PD-L1, uveal melanoma, immunotherapy, pembrolizumab, nivolumab.

Glosario de abreviaturas

- AJCC:** American Joint Committee on Cancer.
- Arg:** Arginina.
- BAP1:** BRCA1 Associated Protein-1 (proteína-1 asociada a BRCA1).
- BRAF:** v-Raf murine sarcoma viral oncogen homolog.
- CMH:** Complejo Mayor de Histocompatibilidad.
- CTLA-4:** Cytotoxic T Lymphocyte Antigen 4 (antígeno 4 del linfocito T citotóxico).
- EIF1AX:** Eukaryotic Translation Initiation Factor 1A X-Linked (factor 1A eucariótico de inicio de traducción ligado a X).
- FISH:** Fluorescence in situ hybridization (hibridación fluorescente in situ).
- FoxO1:** Forkhead Box Protein O1.
- Gln:** Glutamina.
- GM-CSF:** Granulocyte Macrophage Colony Stimulating Factor (factor estimulante de colonias de granulocitos y macrófagos).
- GNA11:** Guanine Nucleotide Binding Protein α -11.
- GNAQ:** Guanine Nucleotide Binding Protein Q polypeptide.
- gp100:** glycoprotein 100.
- ICI:** Immune Checkpoint Inhibitor (inhibidor de checkpoint inmune).
- IDO:** indolamina-2,3-dioxigenasa.
- IFN:** Interferón.
- IL:** Interleuquina.
- IP3R3:** Type 3 Inositol-1,4,5-Trisphosphate-Receptor.
- IRF9:** Interferon Regulator Factor-9 (factor regulador del interferón-9)
- LAG-3:** Lymphocyte-activation Gene 3.
- LINAC:** Acelerador Lineal.
- LUMPO3:** Liverpool Uveal Melanoma Prognosticator Online V3.
- MAP-kinasa:** Mitogen Activated Protein kinase.
- MART-1:** Melanoma Antigen Recognized by T Cells (antígeno de melanoma reconocido por células T).
- MCM:** Melanoma Cutáneo Metastásico.
- MEK:** MAP-kinasa que fosforila la MAP-kinasa ERK.
- MIC A/B:** MHC class I related chain A/B (cadena relacionada con el CMH de clase I A/B).
- MIF:** Macrophage Migration Inhibitory Factor (factor inhibidor de migración de macrófagos).
- MU:** Melanoma Uveal.
- MUM:** Melanoma Uveal Metastásico.
- NFATc1:** Nuclear Factor of Activated T-Cells cytoplasmic-1.
- NK:** Células Natural Killer.
- OCT:** Tomografía de Coherencia Óptica.
- PAAF:** Punción-Aspiración con Aguja Fina.
- PBT:** Proton Beam Therapy (terapia con haz de protones).
- PD-1:** Programmed Death-1 (receptor de muerte programada-1).
- PD-L1:** Programmed Death Ligand-1 (ligando del receptor de muerte programada-1).
- PD-L2:** Programmed Death Ligand-2 (ligando del receptor de muerte programada-2).
- PRAME:** Preferentially Expressed Antigen of Melanoma (antígeno expresado con preferencia en el melanoma).
- RM:** Resonancia Magnética.

SF3B1: Splicing Factor 3B, subunit 1 (subunidad 1 del factor 3B de splicing).

SHP: src Homology 2 Domain-Containing Tyrosine Phosphatases.

SRT: Estereotaxia.

TACE: Transarterial Chemoembolization (quimioembolización transarterial).

TAMs: Tumor-Associated Macrophages (macrófagos asociados al tumor).

TBX21: T-box Transcription Factor 21 (factor de transcripción T-box 21).

TC: Tomografía Computarizada.

TCR: T Cell Receptor (receptor de célula T).

TILs: Tumor Infiltrating Lymphocytes (linfocitos que infiltran el tumor).

TNF- α : Tumoral Necrosis Factor- α (factor de necrosis tumoral- α).

TRP-1: Tyrosinase Related Protein-1 (proteína-1 relacionada con la tirosinasa).

TTT: Termoterapia Transpupilar.

YAP: Yes-Associated Protein.

Índice

1. Introducción.....	8
1.1. Melanoma uveal	8
1.1.1. Concepto.....	8
1.1.2. Epidemiología	8
1.1.3. Etiología	8
1.1.4. Clínica	8
1.1.5. Diagnóstico.....	9
1.1.6. Histopatología	10
1.1.7. Estadificación	11
1.1.8. Factores pronósticos principales	11
1.1.9. Tratamiento	15
1.2. Vía de señalización PD-1/PD-L1 y su aplicación clínica.....	18
1.2.1. Funcionamiento de la vía de señalización PD-1/PD-L1	18
1.2.2. Papel de la vía PD-1/PD-L1 en la inmunidad tumoral.....	19
1.2.3. Aplicación clínica de la inhibición de la vía PD-1/PD-L1 en inmunoterapia ..	19
1.3. Expresión y bloqueo de la vía PD-1/PD-L1 en el melanoma uveal	19
1.3.1. Expresión de la vía PD-1/PD-L1 en el melanoma uveal.....	19
1.3.2. Uso de inhibidores de punto de control inmune en el melanoma uveal.....	20
2. Justificación y objetivos	21
2.1. Justificación.....	21
2.2. Objetivos.....	21
3. Material y métodos	22
3.1. Diseño.....	22
3.2. Estrategia de búsqueda bibliográfica.....	22
3.3. Criterios de selección	22
4. Resultados.....	24
4.1. Expresión de PD-L1 en el melanoma uveal	24
4.2. Expresión de PD-1 en el melanoma uveal.....	25
4.3. Correlación de la expresión de PD-1 y PD-L1 en el melanoma uveal con otras variables.....	28
4.4. Bloqueo de la vía PD-1/PD-L1 en el melanoma uveal.....	28
5. Discusión	37
6. Conclusiones.....	42
7. Bibliografía.....	43

1. Introducción.

1.1. Melanoma uveal.

1.1.1. Concepto.

El melanoma uveal es la neoplasia ocular primaria más frecuente, así como el melanoma no cutáneo más frecuente, a pesar de ser un tumor poco habitual. Puede aparecer en los melanocitos presentes tanto en la úvea anterior, el iris, como en la posterior, el cuerpo ciliar y la coroides. En orden de frecuencia: coroides, cuerpo ciliar e iris (1). Sin embargo, son los melanomas de cuerpo ciliar los que tienen peor pronóstico (2). En cambio, los melanomas de iris suelen ser de menor tamaño, de crecimiento más lento, metastatizan menos que los melanomas de úvea posterior, y su histología tiene rasgos más favorables (3).

1.1.2. Epidemiología.

En EEUU la incidencia media ajustada por edad es de 4.3 casos por millón de habitantes, y parece mantenerse estable en el tiempo. Es ligeramente superior en hombres (4.9 casos por millón de habitantes) que en mujeres (3.7 casos por millón de habitantes) (4).

En Europa, la incidencia aumenta con la latitud: en países como España e Italia es menor que en países situados más al norte, como Noruega y Dinamarca (2 casos por millón de habitantes y más de 8 casos por millón de habitantes, respectivamente), lo que respalda el rol protector del pigmento del iris. También es superior la incidencia de melanoma uveal en hombres (5).

Los resultados son consistentes en los estudios de Europa y EEUU, que indican que la incidencia del melanoma uveal se ve influenciada por la latitud. La incidencia aumenta con la edad, con un pico hacia los 70 años. Se ha visto que la incidencia del melanoma uveal se mantiene estable a lo largo del tiempo (5).

Metastatizan aproximadamente la mitad de los pacientes, principalmente vía hematológica y al hígado (3).

1.1.3. Etiología.

El melanoma uveal es más frecuente en raza blanca, en individuos de ojos claros (azul y gris), con piel clara (más frecuente cuanto más pálida la piel) y presenta relación con la capacidad de ponerse moreno del individuo (aquellos que se queman tienen más riesgo de padecer el melanoma uveal); el color de pelo no supone un aumento de riesgo. Esto podría ser debido a una relación entre el melanoma uveal y la exposición a la luz solar, pero los estudios no han logrado establecer una correlación clara que implique a la radiación UV como factor de riesgo para este cáncer, a diferencia del melanoma cutáneo (5).

Existen algunos estudios en los que se observa una mayor prevalencia de anticuerpos contra el poliomavirus BK en pacientes con melanoma uveal, respecto a los pacientes sanos, lo que indica relación entre ambas patologías, si bien no está probada la relación causal en la aparición o progresión del MU (6).

1.1.4. Clínica.

La mayoría de los melanomas uveales son asintomáticos inicialmente. Con el crecimiento, los síntomas dependen de la localización del tumor, del tamaño, de la forma y de la pigmentación, aunque muchas veces produce alteraciones inespecíficas de la visión (7):

- Iris: masa sobreelevada de pigmentación variable. Se puede producir distorsión de la pupila. Es la localización menos frecuente, pero son de buen pronóstico y eminentemente de estirpe fusiforme (7).
- Cuerpo ciliar: interferencias con la acomodación, visión borrosa, uveítis crónica, glaucoma unilateral y cataratas. Los tumores de esta área pueden extenderse hacia iris y hacia coroides, y constituyen los melanomas oculares uveales de peor pronóstico, puesto que se asocian a mayor riesgo de metástasis en los primeros tres años (3,7).
- Coroides: produce descenso de la agudeza visual y alteraciones en el campo visual; afectada en más del 90% de los tumores. El tumor puede ser sobreelevado o plano, y producir desprendimiento de retina, así como hemorragias (que podrían afectar al humor vítreo en caso de horadar la retina) (7).

Debido a la escasa sintomatología, es muy importante el papel de los clínicos en la detección de estos tumores durante revisiones oftalmológicas rutinarias. Además, otras patologías presentan clínica similar, como pueden ser una metástasis ocular, un tumor ocular benigno (nevus, hemangioma) o una escleritis (8).

Macroscópicamente, los melanomas uveales se pueden clasificar según su localización, pigmentación, forma y tamaño; estas características constituyen factores pronósticos del tumor por sí mismas (véase más adelante: apartado 1.1.8). Suelen ser tumores pigmentados (50%), pero también pueden ser no-pigmentados (15%) o mixtos (aproximadamente 33%) (1).

1.1.5. Diagnóstico.

La herramienta fundamental para la detección de melanoma uveal es la exploración, mediante el examen clínico y la oftalmoscopia o fondo de ojo (esta técnica puede no ser útil en la detección del melanoma de cuerpo ciliar). La localización del tumor (iris, cuerpo ciliar, coroides) puede dificultar el diagnóstico, dado que la mayoría (aproximadamente el 90%) de los tumores uveales se localizan en la coroides (1). Además, no produce síntomas específicos, y el paciente puede tener otras patologías oculares, lo que puede también complicar el diagnóstico. Por ello, es importante una exploración correcta, para detectarlo y evitar dar un diagnóstico incorrecto o pasar por alto el tumor, lo que resultaría en una progresión del melanoma y retraso del tratamiento (8).

1.1.5.1. Fondo de ojo.

Mediante la técnica del fondo de ojo pueden no detectarse los melanomas de cuerpo ciliar. Se emplea asociado a la autofluorescencia. La hiperplasia y la atrofia de epitelio pigmentario de la retina muestran hipoautofluorescencia. Las drusas, el pigmento naranja y el edema subretiniano muestran hiperautofluorescencia. La hiperplasia, la atrofia y las drusas suelen asociarse a nevus crónico estable (9).

1.1.5.2. Angiografía.

La angiografía se puede asociar con fluoresceína y con indocianina. Facilitan la visualización de la vascularización tanto de la coroides como del propio tumor, hecho a veces necesario para la confirmación del diagnóstico. También presenta utilidad en el seguimiento para la detección de retinopatía y maculopatía post-radioterapia (9).

1.1.5.3. Tomografía espectral de coherencia óptica (OCT).

La OCT permite examinar la afectación de la retina, y en especial del epitelio pigmentario en los melanomas de coroides; asimismo, permite detectar edema y alteraciones en los fotorreceptores, características que se asocian más frecuentemente a melanoma que a nevus de coroides (9).

1.1.5.4. Ecografía.

La ecografía es la prueba complementaria más utilizada, tanto para hacer las mediciones del tumor (grosor, p. ej.) como para monitorizar el crecimiento durante el seguimiento. El tumor suele ser hipoeoico, muy vascularizado y en forma de cúpula o champiñón, o excavar la coroides, desprender la retina, causar hemorragia vítrea o producir una sombra en la órbita; las áreas de extensión extraocular suelen ser hipoeogénicas, aunque la existencia de extensión extraocular debe comprobarse mediante otras técnicas, como la TC o la RM (9).

1.1.5.5. Pruebas de imagen (TC, RM).

La TC y la RM se utilizan para planear la terapia con protones (RBT) o la radioterapia estereotáxica; son muy importantes en la evaluación de la extensión extraocular del tumor. En la TC, el MU aparece como una masa hiperdensa con captación de contraste moderada y márgenes claros. En la resonancia magnética, aparece como masa hiperintensa en T1, hipointensa en T2 (esto también es así en hemorragia subaguda y hemangioma de coroides) (9).

1.1.5.6. Biopsia.

La biopsia puede ser de utilidad tanto para el diagnóstico definitivo como para análisis citogenético, lo que ayuda a determinar el pronóstico del tumor y el riesgo de sufrir metástasis que tiene el paciente, así como elegir un tratamiento adecuado y personalizado. Las principales técnicas son: análisis del humor acuoso, punción con aguja fina, biopsia mediante vitrectomía, biopsia incisional y biopsia excisional. Los tumores de segmento posterior presentan riesgo de diseminación al realizar la biopsia, y si son pequeños la cantidad de tejido obtenido puede ser insuficiente. En general, la biopsia se reserva para casos que requieren confirmación del diagnóstico; su uso principal es establecer el pronóstico del paciente mediante análisis genético, para lo que se usan técnicas como FISH, que permite detectar la monosomía del cromosoma 3. La complicación más habitual en las diferentes técnicas de biopsia es la hemorragia, ya sea local o vítrea. El uso de biopsia no ha mostrado un aumento de la mortalidad por MU respecto a los pacientes no biopsiados (10).

La biopsia líquida supone una alternativa menos agresiva para el diagnóstico de melanoma uveal, cuyo objetivo es detectar las células tumorales circulantes. Se ha sugerido que las células tumorales del MU aparecen en sangre antes del diagnóstico y del tratamiento, dados los tiempos de duplicación descritos (10).

1.1.6. Histopatología.

Los melanomas uveales se originan en los melanocitos del iris, del cuerpo ciliar y de la coroides. Estos tumores se clasifican según el tipo de morfología celular, siguiendo la clasificación de Callender revisada (11):

- Células epitelioides: células grandes poligonales y polimorfas con uno o más nucléolos prominentes. Citoplasma acidófilo, ratio núcleo/citoplasma elevado, numerosas mitosis y tendencia a la pérdida de las uniones intercelulares (11).
- Células fusiformes tipo A: células alargadas con núcleos delgados (11).

- Células fusiformes tipo B: células alargadas con núcleos de mayor tamaño y nucléolos visibles (11).
- Células intermedias: similares a las epitelioides pero de menor tamaño (11).

La morfología celular constituye un factor pronóstico relevante en el MU (3); esto se desarrollará en el apartado 1.1.8.

El globo ocular es un órgano inmunoprivilegiado, es decir, está aislado del sistema inmunológico. Aun así, el infiltrado linfocitario es bastante frecuente en el melanoma uveal, aproximadamente aparece en el 17% de los tumores (3). Está formado predominantemente por linfocitos T citotóxicos CD8+, y por T helper CD4+ y T reguladores (FOXP3+) en menor medida (12). Su importancia como factor pronóstico se abordará en el apartado 1.1.8.

1.1.7. Estadificación.

La estadificación del melanoma uveal se agrupa según la clasificación TNM (tumor, ganglios, metástasis), realizada por la AJCC (2).

- T1: limitado a iris.
- T2: se extiende a cuerpo ciliar, coroides o ambos.
 - c en T1 y T2 implica glaucoma.
- T3: con extensión a esclera.
- T4: con extensión extraescleral.

1.1.8. Factores pronósticos principales.

Los factores pronósticos más importantes en el melanoma uveal son: edad, localización, tamaño, patrón de microvasculatura, características histopatológicas, características moleculares y extensión de la enfermedad.

La edad al diagnóstico es un factor pronóstico importante. Shields et al. observaron en 8033 pacientes con melanoma uveal que (1):

- Solo el 1% de los pacientes tenía menos de 20 años (1).
- En pacientes más jóvenes aumenta la incidencia de melanoma de iris; sin embargo, esta es en general la localización menos frecuente (1).
- El grosor, el diámetro basal del tumor, la frecuencia de extensión extraescleral, la frecuencia de metástasis y la mortalidad relacionada con el tumor aumentan con la edad (1).

La localización del tumor influye de forma importante en el pronóstico. De mayor a menor frecuencia, la localización puede ser en coroides, en cuerpo ciliar o en iris (1). El MU localizado en el **cuerpo ciliar** no suele dar síntomas hasta que invade otras estructuras y las deforma o altera, lo que dificulta el diagnóstico en fases tempranas del tumor, llegando incluso a presentar extensión extraocular al diagnóstico. Esta localización es de mal pronóstico (independientemente del tamaño y tipo celular), pero además presenta alta tendencia a las metástasis vía hematógena, a presentar tipo celular epitelioides y patrones microvasculares de alto riesgo (3). El retraso en el diagnóstico y en el tratamiento provoca que sea más habitual la realización de una enucleación, por estar más avanzado el tumor (8).

El MU localizado en el **iris** se asocia a mejor pronóstico, hecho que puede estar relacionado con la detección más temprana del tumor (es más evidente, produce distorsión de la pupila y del propio iris), lo que resulta en tratamiento más precoz (3). En el caso de esta localización, el pronóstico es peor si aparece aumento de la presión intraocular o extensión al ángulo (3,7).

El MU localizado en la **coroides** puede producir visión borrosa o distorsionada por afectación de la retina y la mácula. Tiene un pronóstico intermedio entre el de iris y el de

cuerpo ciliar, no asocia tanta mortalidad ni metástasis como este último; su pronóstico empeora si asocia otros factores de mal pronóstico (1,3).

Se ha encontrado que la mortalidad a 5 años y la prevalencia de metástasis en cada localización son (3,13):

- IRIS: mortalidad a 5 años – 5-6%; metástasis a 3, 5 y 10 años – 0.5%, 4.1%, 6.9% (3,13).
- CUERPO CILIAR: mortalidad a 5 años – 22-53%; metástasis a 3, 5 y 10 años – 12%, 19%, 33% (3,13).
- COROIDES: mortalidad a 5 años – 14%; metástasis a 3, 5 y 10 años – 8%, 15%, 25% (3,13).

El tamaño del tumor también es importante en el pronóstico del MU. Los tamaños de referencia establecidos por el estudio multicéntrico Collaborative Ocular Melanoma Study (COMS) son (13):

- MU pequeño: <3 mm de grosor, y diámetro basal mayor <16 mm (13)
- MU mediano: 3-8 mm de grosor, y diámetro basal mayor <16 mm (13)
- MU grande: >8mm de grosor, o diámetro basal mayor >16 mm (13).

En el estudio de Shields et al. (13), usando estas referencias como clasificación y la ecografía como método de medida del diámetro basal, concluyeron que las metástasis a 5, 10 y 20 años fueron, según el tamaño del tumor:

- En tumores pequeños: 6%, 12%, 20% (13).
- En tumores medianos: 14%, 26%, 37% (13).
- En tumores grandes: 35%, 49%, 67% (13).

También concluyeron que cada incremento en 1 milímetro del grosor del tumor equivalía a un incremento en la probabilidad de desarrollo de metástasis, que depende del grosor del tumor primario (13). La supervivencia disminuye según aumentan las dimensiones del tumor (13). Tanto el grosor como el diámetro basal del melanoma uveal son factores de mal pronóstico importantes (1,3).

El patrón de la microvasculatura del tumor es también un importante factor pronóstico. Los dos patrones principales y más relevantes son los bucles y la red vascular (tres o más bucles). Aquellos MU con algún bucle se han asociado a mayor mortalidad (peor supervivencia a diez años) y a mayor incidencia de metástasis. Además, se ha visto que los tumores que asientan en cuerpo ciliar son más agresivos y producen más metástasis por la gran tendencia a la aparición de red vascular en esta parte de la úvea. Independientemente de la localización del tumor, la aparición de red vascular se asocia a menor supervivencia (3).

La morfología celular es un factor pronóstico importante en estos tumores: cuanto mayor sea la cantidad de células epitelioides, peor es el pronóstico y mayor la incidencia de metástasis, dada su mayor tendencia a la descohesión; los tumores constituidos por células intermedias tendrían un pronóstico intermedio, y los de células fusiformes serían los de mejor pronóstico (3).

En el caso de los tumores de estirpe celular epitelioide, la mortalidad a 15 años es del 75%, siendo estos solo el 3-5% de los melanomas uveales. Los tumores de estirpe fusiforme se asocian a una mortalidad del 20% a 15 años, aunque constituyen el 40% de todos los melanomas uveales (3).

El índice mitótico también constituye un factor pronóstico: a mayor índice de división, mayor mortalidad, así como metástasis y mortalidad asociada a las mismas (3).

La cantidad de pigmento del tumor no parece tener valor pronóstico (3).

El diámetro de los diez nucléolos más grandes/mayores también se cuenta como factor pronóstico histopatológico (7).

El infiltrado linfocitario (TILs) es bastante frecuente en el melanoma uveal, aproximadamente aparece en el 17% de los tumores (3). Está formado predominantemente por linfocitos T citotóxicos CD8+, y por T helper CD4+ y T reguladores (FOXP3+) en menor medida (12). El infiltrado inflamatorio está relacionado con mal pronóstico y menor supervivencia en el melanoma uveal, así como el infiltrado por macrófagos (TAMs) y el aumento de expresión de CMH de clases I y II, a diferencia de lo que ocurre en la mayoría de los tumores (3,14). El infiltrado inflamatorio es más prominente en los tumores de células tipo epitelioides y en los que tienen monosomía en el cromosoma 3 (12). Se ha visto también que la reducción de la expresión del CMH de clase I en el melanoma uveal primario se relaciona con un mejor pronóstico, lo que sugiere que las células NK juegan un papel protector ante el desarrollo de metástasis; sin embargo, en las metástasis se pierde la función de las células NK (15). En el melanoma uveal es característico el infiltrado por macrófagos CD68+; su presencia es relevante para el pronóstico, puesto que se asocia a mayor diámetro basal, tipo celular epitelioides y alta densidad de la microvasculatura (16). Dado que son células productoras de citoquinas y factores de crecimiento, podrían favorecer la angiogénesis. También se ha encontrado asociación con el aumento de mortalidad debida al tumor (16).

Otro factor de gran relevancia para el pronóstico es la **caracterización genético-molecular** del MU. En el melanoma uveal aparecen una serie de alteraciones genéticas características, de las cuales la más frecuente es la monosomía del cromosoma 3 (aproximadamente 50% de los tumores), que además posee gran importancia en el pronóstico del tumor (17). Otras anomalías frecuentes son las alteraciones estructurales de los cromosomas 1, 6 y 8 (18). La presencia de monosomía 3 y 6p+ se excluyen mutuamente en prácticamente todos los tumores, lo que supone dos grupos diferenciados de melanoma uveal; un tercer grupo lo constituirían aquellos MU sin 3- ni 6p+, que podría suponer un estadio mutacional temprano de cualquiera de los otros dos grupos (19). 3- y 6p+ son anomalías que ocurren de forma precoz en sus respectivas vías; sin embargo, 8q+ es un evento tardío (19).

La monosomía del cromosoma 3 es un factor independiente de mal pronóstico, relacionado con menor tiempo de vida y aumento de metástasis, más relevante que cualquiera de los factores pronósticos clínicos. También está relacionada con la presencia de extensión extraocular (17).

Las aneuploidías más frecuentes en relación con el cromosoma 8 son el isocromosoma 8q (8p-/8q+) y la trisomía del cromosoma 8 (19). 8q+ se asocia a peor pronóstico, sobre todo si se asocia a monosomía del cromosoma 3: la mortalidad a los cinco años fue del 6% en los tumores sin anomalías cromosómicas, 31% en los tumores con anomalías solo en el cromosoma 8, 40% en los tumores con monosomía 3 exclusivamente, y 66% en los tumores con anomalías tanto del cromosoma 8 como del 3 (17). Las alteraciones del cromosoma 8 y la monosomía 3 correlacionan con afectación de cuerpo ciliar, diámetro basal del tumor, bucles vasculares cerrados, índice mitótico aumentado y tipo celular epitelioides (17).

Recientemente (febrero 2020) ha sido publicado un artículo en el que se valida el uso de un modelo predictor de supervivencia post-tratamiento para el melanoma de coroides, el Liverpool Uveal Melanoma Prognosticator Online V3 (LUMPO3). LUMPO3 establece la mortalidad incorporando la información genética de los cromosomas 3 y 8, pero con la intención de que las siguientes versiones también evalúen otras mutaciones (20).

Las principales anomalías en genes son:

- **GNAQ/GNA11:** son genes que codifican subunidades G- α de proteínas G, y suelen excluirse mutuamente; en ambos genes se produce una mutación puntual de Gln209 (Q209, glutamina es sustituida por leucina o prolina), la mutación de Arg183 (R183) es menos frecuente, en el dominio Ras-like GTPasa, lo que acaba resultando en una

sobreactivación de la vía MAP-kinasa, así como las vías MEK y YAP (YAP actúa como una oncoproteína, favorece la proliferación celular mediante factores de transcripción nucleares) (21). Se piensa que es una mutación temprana en el tumor, pues se ha visto en todas las fases del tumor e incluso en lesiones benignas (18). La mayoría de los autores han encontrado que las mutaciones GNAQ/GNA11 no correlacionan con la supervivencia, aunque algunos han encontrado mayor frecuencia de GNA11 en MU metastásico y menor supervivencia (18). Frecuencia: GNAQ: 18-53%; GNA11: 20-58% (21).

- **BAP1:** gen supresor de tumores presente en posición 3p21.1, codifica una ubiquitina carboxi-terminal hidrolasa nuclear, con actividad desubiquitinasa, cuyas funciones abarcan mantener la estabilidad del genoma, modificaciones epigenéticas, regular la transcripción y la respuesta al daño del ADN; habitualmente mutado en los tumores con monosomía del cromosoma 3 (18). Para que la mutación de BAP1 sea causa de mal pronóstico debe coincidir con la monosomía 3, las disomías 3 parciales se ha visto que tienen mejor pronóstico (21). Se ha encontrado que esta mutación en células germinales supone predisposición a adenocarcinoma de pulmón, melanoma uveal, mesotelioma maligno, algunos melanomas cutáneos y carcinoma renal (18). Frecuencia de BAP1 en el melanoma uveal: 32-75% (21).
- **SF3B1:** gen localizado en el cromosoma 2q33, habitualmente aparece en los melanomas uveales que no tienen monosomía del cromosoma 3, y se excluye mutuamente con EIF1AX y BAP1 (21). Codifica una subunidad de un complejo implicado en el procesamiento del precursor del ARN mensajero, y regula el *splicing*, función que se altera cuando está mutado (21). Se asocia a factores de mejor pronóstico como menor edad y menos células de tipo epitelioide, y correlaciona inversamente con factores de mal pronóstico como la monosomía del cromosoma 3 (18). A diferencia de EIF1AX, SF3B1 se asocia a 8q+, lo que confiere que aparezcan metástasis tardías asociadas a esta mutación, a pesar de ser inicialmente marcador de buen pronóstico (21). También aparece mutado en síndromes mielodisplásicos y leucemia linfática crónica (codón K700 principalmente, en el melanoma uveal se afecta más el codón R625) (21). Frecuencia de aparición en el MU: 9-24% (21).
- **EIF1AX:** gen localizado en Xp22, e igual que SF3B1, suele aparecer mutado en melanomas uveales sin monosomía 3 (21). Además habitualmente SF3B1 y EIF1AX se excluyen mutuamente, lo que parece que ambos supongan vías alternativas en la evolución de los melanomas sin monosomía 3 (21). Codifica una proteína que interacciona con el ARN mensajero y estimula la traducción; cuando EIF1AX muta, la traducción es incorrecta (21). Se ha relacionado con mejor pronóstico y menor incidencia de metástasis (18). Aparece también en carcinoma papilar y anaplásico de tiroides, y en tumores serosos ováricos (21). Frecuencia en el MU: 8-21% (21).

La extensión extraocular del melanoma uveal se asocia a menor supervivencia a 5 años respecto a los MU sin extensión extraocular, así como a mayor frecuencia de metástasis. Las diferentes vías de extensión son: canal acuoso (lo más frecuente, 29.8%), arterias ciliares (27.4%), venas vorticosas (18.5%), nervios ciliares (8.9%), nervio óptico (0.8%), así como combinaciones (10.4%). La extensión extraocular correlaciona con otros factores de mal pronóstico como extensión a cámara ocular anterior, mayor diámetro basal, tipo celular epitelioide, vasos con bucles, alto índice mitótico y monosomía del cromosoma 3. La extensión vía canal acuoso ocurre con más frecuencia en tumores del cuerpo ciliar o del ángulo. Se ha asociado muerte por metástasis con la extensión extraocular, independientemente de la ruta y sin relación con el tamaño del tumor extraocular, pero de

forma más débil que con otros aspectos de mal pronóstico, a saber, mayor diámetro basal, presencia de bucles cerrados, tipo celular epitelióide e índice mitótico (3).

1.1.9. Tratamiento.

El manejo del melanoma uveal implica, además del tratamiento, una evaluación adecuada de los factores pronósticos; para establecer un pronóstico adecuado se deben tener en cuenta los factores clínicos y los genéticos. También es importante el seguimiento para detectar posibles recurrencias, metástasis y efectos secundarios de las terapias. El tratamiento suele dividirse en terapias que conservan el ojo y enucleación (9).

1.1.9.1. Manejo expectante en el melanoma uveal.

Los melanomas de iris están asociados a buen pronóstico, suelen ser de menor tamaño y el tipo celular suele ser fusiforme, lo que lleva a que se intente manejo conservador si es posible (3,7).

En los melanomas coroideos de pequeño tamaño algunos oftalmólogos recomiendan observación del crecimiento y otros, tratamiento precoz, pero no está claro cuál es más adecuado. Se deben evaluar los factores de riesgo, y considerar iniciar tratamiento. Predicen crecimiento: grosor superior a 2 mm, presencia de líquido, síntomas asociados al tumor, pigmento naranja, margen cercano al disco óptico, vacío ecográfico y ausencia de halo (22).

1.1.9.2. Manejo quirúrgico.

1.1.9.2.1. Enucleación.

La enucleación constituye el método más usado clásicamente, y se sigue utilizando en caso de tumores de gran tamaño o de muy mal pronóstico visual (hemorragia vítrea o retiniana, tumor cercano a nervio óptico, desprendimiento de retina), pero ha ido siendo sustituido en la mayoría de los casos por la radioterapia. La razón de que se haya ido abandonando como práctica habitual es la aparición de diversos estudios que demuestran ausencia de diferencias significativas entre la supervivencia de los melanomas tratados con enucleación y aquellos en que se usa terapias con preservación del globo ocular (9).

1.1.9.2.2. Resección local.

La resección local permite conservar el globo ocular y al mismo tiempo la realización de un estudio histológico y genético. Suele usarse en melanomas de iris y cuerpo ciliar. La iridectomía es la terapia de elección en el caso de melanomas de iris, siempre que no invadan más de un tercio del iris ni el ángulo; si hay extensión a ángulo o cuerpo ciliar se realiza una iridociclectomía. La vía quirúrgica puede ser transescleral (exorresección, requiere anestesia general e hipotensión durante la cirugía para disminuir el sangrado) o transretinal (endorresección); se puede asociar radioterapia adyuvante en ambos casos. La coroidectomía la realizan muy pocos cirujanos (9).

1.1.9.2.3. Tratamiento de las metástasis.

Las metástasis en el melanoma uveal se diseminan vía hematogena, principalmente al hígado (más del 90% de los pacientes); otros órganos frecuentes son pulmón y hueso (3). Los tratamientos más usados en MU metastásico son quimioterapia local, embolización y cirugía (ambos escasamente efectivos). A pesar de los tratamientos, la supervivencia en los pacientes con enfermedad metastásica es de aproximadamente un año (23). El aspecto más importante

es la detección temprana, mediante análisis de la función hepática, ecografía y/o resonancia magnética durante el seguimiento del paciente (24).

Como se mencionó anteriormente, se estima que hay células tumorales en sangre mucho tiempo antes de realizar el diagnóstico de melanoma uveal (10). Se asocian a mayor riesgo de metástasis la monosomía 3 (17), localización del tumor en el cuerpo ciliar (3) o el mayor tamaño (13), entre otros.

1.1.9.3. Radioterapia.

La radioterapia es la forma de tratamiento más usada actualmente, especialmente en los melanomas de úvea posterior. Existen diferentes modalidades, que son: la placa de braquiterapia, la radioterapia con haz de protones (PBT) y la estereotaxia (SRT).

La complicación característica de la radioterapia sobre el globo ocular es la retinopatía post-radiación, debida al daño inducido sobre el endotelio vascular, que causa vasculopatía progresivamente. También es frecuente la neuropatía óptica post-radiación, que puede producir ceguera irreversible (9).

1.1.9.3.1. Placa de braquiterapia.

Los isótopos más usados en la braquiterapia son rutenio-106 (radiación beta), yodo-125 (radiación gamma), o combinación de ambos; otras opciones son cobalto-60 y paladio-103. Es la forma de radioterapia más utilizada, pero su uso depende del grosor del tumor y de la localización (tumores de 2.5-10 mm de diámetro, a por lo menos 2.5 mm del nervio óptico). La braquiterapia se ha combinado con TTT, con buenos resultados. La mortalidad del melanoma uveal tratado con braquiterapia no es significativamente superior a la del melanoma uveal tratado con enucleación (9).

1.1.9.3.2. Radioterapia con haz de protones (proton beam therapy, PBT).

Consiste en la irradiación del tumor con partículas cargadas, como son los protones, cuya radiación se libera cuando se detienen (efecto Bragg), lo que permite dar una dosis alta y homogénea en el tumor, evitando relativamente los tejidos blandos circundantes. Esta modalidad está indicada cuando las dimensiones del melanoma uveal contraindican la braquiterapia. Se puede usar en tumores de cualquier tamaño, pero en tumores grandes produce importantes efectos secundarios en la capacidad de visión. Entre los efectos secundarios se encuentran neuropatía óptica, maculopatía, glaucoma, ojo seco, cataratas, pérdida de pestaña y desprendimiento de retina (9).

1.1.9.3.3. Estereotaxia (SRT).

La radioterapia estereotáxica es una alternativa a la PBT; con esta técnica, la radiación se puede dar como dosis única, o se puede dar fraccionada en dosis menores, desde diferentes direcciones que confluyen en un punto, la localización del tumor, donde se sumarían y obtendría la dosis máxima. Aunque la dosis de radiación que absorben los tejidos circundantes es mayor que en la radioterapia con haz de protones, la SRT no requiere cirugía para determinar los bordes del tumor, a diferencia de PBT: los bordes se pueden delimitar con TC o RM. Entre los efectos secundarios a largo plazo de la SRT se encuentran catarata, glaucoma, retinopatía post-radiación, uveítis, y pérdida de pestañas (9). Dispositivos utilizados para la aplicación de SRT:

- *Gamma knife*: usado inicialmente en cirugía de tumores cerebrales, después también en melanoma uveal. No se recomienda como tratamiento de primera línea debido a la

elevada incidencia de efectos secundarios (retinopatía post-radioterapia y glaucoma neovascular) (9).

- *Cyber Knife*: usado primeramente en cirugía de tumores cerebrales; posteriormente, se aplicó en melanoma uveal en pacientes que no eran candidatos a placa de braquiterapia ni resección local (9).
- Acelerador lineal (LINAC): SRT hipofraccionada, los tejidos se exponen a menos radiación, lo que se traduce en menos efectos secundarios a largo plazo (9).

1.1.9.4. Termoterapia transpupilar.

La fotocoagulación mediante láser se ha asociado a mayor recurrencia del tumor, por lo que ha ido sustituyéndose por la termoterapia transpupilar (TTT). La TTT consiste en la irradiación del tumor con un haz de luz infrarroja de 3mm durante un minuto; la aplicación de esta técnica se limita a MU de grosor <4 mm. Se recomienda asociar el uso de placa de braquiterapia porque no siempre se consigue la erradicación de todas las células tumorales. La combinación de TTT con PBT disminuye la necesidad de enucleación. Las complicaciones asociadas a esta técnica incluyen: tracción macular, oclusión vascular y hemorragia (9).

1.1.9.5. Otras terapias posibles.

Rantala et al., en un metaanálisis realizado con 78 estudios sobre la supervivencia global en el melanoma uveal metastásico, no hallan mayor mediana de supervivencia significativa en relación con ninguno de los tratamientos aplicados (23). Por tanto, se está investigando el uso de nuevos tratamientos en el melanoma uveal, puesto que hasta ahora ninguno de los utilizados ha mostrado resultados prometedores. Entre estas nuevas terapias se encuentran los inhibidores de *checkpoint* (ICI), pero también se están considerando otras formas terapéuticas novedosas, algunas de las cuales sí han mostrado respuestas significativas.

1.1.9.5.1. Uso de inhibidores de MEK.

Dada la frecuencia de la mutación de GNAQ y GNA11 en melanoma uveal, se ha planteado el uso de inhibidores de la vía MEK en el tratamiento de MU no resecable o metastásico. Sin embargo, una revisión sistemática ha objetivado escasa respuesta del tumor ante estos fármacos, con lo que no existe recomendación para su uso (15).

1.1.9.5.2. Tebentafusp (IMCgp100).

IMCgp100 es una proteína bioespecífica de diseño mediante ingeniería genética que combina gp100 que reconoce TCR con un fragmento de anticuerpo de cadena simple anti-CD3, que consigue activar linfocitos T CD3+. En un estudio en fase I con 14 pacientes con MU se observaron 2 respuestas parciales, 8 casos estables (durante al menos 16 semanas) y 4 en progresión. Otro estudio en fase I, en 19 pacientes con MU previamente tratado, observó 2 respuestas parciales, y respuesta menor en otros 4 pacientes; la mediana de tiempo libre de progresión fue 5.6 meses, con una supervivencia global del 74% al año. Efectos secundarios frecuentes: rash, prurito y edema (15).

1.1.9.5.3. Vacuna de células dendríticas.

Antígenos como MART-1, gp100 o TRP-1, cuya expresión es elevada en MU, podrían servir como diana para las vacunas de células dendríticas. Estas vacunas consisten en obtener células dendríticas a partir de progenitores hematopoyéticos cultivados con determinadas citoquinas, a las que luego se les cargan ciertos péptidos del tumor o el ARN mensajero que los codifica, para transferirlas después a los pacientes. Un estudio en 14 pacientes con MU

metastásico consiguió respuesta inmune en cuatro de los pacientes, y se observó una mediana de supervivencia global con enfermedad metastásica de 19.2 meses (15).

1.1.9.5.4. Transferencia de linfocitos T que infiltran el tumor (TILs).

El procedimiento consiste en aislar los linfocitos de la metástasis hepática, luego proceder a su expansión *in vitro*. Antes de la transferencia hay que hacer quimioterapia ablativa. La transferencia de TILs hay que acompañarla de IL-2. Un estudio con 21 pacientes (20 evaluables) con MU metastatizado al hígado mostró respuesta completa en 1 caso y parcial en 6 (15).

1.1.9.5.5. Epigenética.

Los genes supresores de tumores y los oncogenes pueden verse inactivados y activados, respectivamente, como resultado de cambios epigenéticos (metilación, desmetilación, acetilación de histonas, deacetilación de histonas). Los inhibidores de la deacetilasa de histonas son unos fármacos antitumorales de reciente aparición, como el vorinostat (aprobado para linfoma cutáneo de células T). Existen estudios en curso para la evaluación de su uso en melanoma uveal como tratamiento adyuvante y en metástasis (24).

1.1.9.5.6. PRAME.

PRAME es un antígeno expresado en MU relacionado con aumento del riesgo de desarrollo de metástasis (24). Se han encontrado linfocitos T que reaccionan específicamente contra PRAME, con lo que podría sugerirse como diana de inmunoterapia en estos pacientes (25). Está en curso un estudio para evaluar la eficacia del rimiducid, un producto de una célula T autóloga modificada genéticamente que incorpora un TCR dirigido a PRAME, en pacientes con recaída de leucemia mieloide aguda (anteriormente tratada debido a síndrome mielodisplásico) y melanoma uveal (NCT02743611).

1.2. Vía de señalización PD-1/PD-L1 y su aplicación clínica.

1.2.1. Funcionamiento de la vía de señalización PD-1/PD-L1.

La vía PD-1/PD-L1 es una vía de regulación negativa de la actividad de los linfocitos T. Funciona como *checkpoint* o punto de regulación inmune, implicada en la tolerancia inmune y autoinmunidad: después de que el linfocito T reconozca el antígeno unido al CMH de las células presentadoras de antígeno (primera señal), PD-1 se une a su ligando y frena la respuesta inmunológica (segunda señal) (26).

PD-1 (CD279) es una glucoproteína transmembrana de tipo I de los linfocitos T. Su expresión puede ser inducida mediante interleuquinas (IL-2, IL-7, IL-15, IL-21) e IFN- α , y mediante factores como NFATc1, FoxO1, proteínas Notch y el factor regulador del interferón 9 (IRF9); el factor de transcripción T-box (TBX21) reduce la expresión de PD-1 (27).

Tiene dos ligandos: PD-L1 (B7-H1 o CD274) y PD-L2 (B7-DC o CD273), ambos de la familia B7/CD28. PD-L1 es una glucoproteína transmembrana de tipo 1, cuyo gen se localiza en el cromosoma 9, que aparece en linfocitos T activados, linfocitos B, macrófagos, células dendríticas, células madre mesenquimales y mastocitos de la médula ósea (27). También se expresa en pulmón, endotelio vascular, corazón, pulmón, riñón, islotes pancreáticos y placenta (28). Está regulado por factores como: el IFN- γ y la IL-10, que inducen su expresión en monocitos; el GM-CSF y la IL-4 lo inducen en macrófagos; IL-1 beta, IL-6, IL-10 e IL-27 lo inducen en células dendríticas; las interleuquinas 2, 7 y 15 inducen su expresión en

linfocitos T, así como en monocitos y macrófagos, y la IL-21 en linfocitos B CD19+; el TNF- α induce la expresión de PD-L1 en células dendríticas, monocitos, células endoteliales, blastos del síndrome mielodisplásico, células prostáticas, células del cáncer de mama, células del cáncer de colon y en las células del cáncer renal (27,28). Su expresión también se puede regular mediante micro-ARN y lipopolisacáridos (28).

La unión de PD-1 y PD-L1 induce la inactivación de la señal del TCR mediante la expresión de Cb1-b (ubiquitina ligasa) y el reclutamiento de las fosfatasa SHP 1 y 2, y posteriormente su internalización, lo que resulta en descenso de la proliferación, apoptosis y anergia, así como disminución en la producción de citoquinas como IL-2, IL-10 e IFN- γ (26).

1.2.2. Papel de la vía PD-1/PD-L1 en la inmunidad tumoral.

En las neoplasias, las células tumorales expresan PD-L1 para impedir la función antitumoral de la respuesta inmune; además, la producción de IFN- γ por parte de los linfocitos T CD8+ activados aumenta la expresión de PD-L1, lo que potencia esta vía de escape. Estos factores conferirían un peor pronóstico en el tumor (28).

1.2.3. Aplicación clínica de la inhibición de la vía PD-1/PD-L1 en inmunoterapia.

Los fármacos aprobados para la inhibición de la vía PD-1/PD-L1, y que consiguen, por tanto, restaurar la actividad de los linfocitos T, son:

- anticuerpos contra PD-1: pembrolizumab, nivolumab.
- anticuerpos contra PD-L1: atezolizumab, avelumab, durvalumab.

La respuesta a estos fármacos está condicionada por la expresión de PD-1 y PD-L1 en el tumor (29). Está aprobado también su uso combinado con quimioterápicos e inhibidores de CTLA-4 (28).

Las complicaciones asociadas al uso de estos fármacos son diferentes de las de la quimioterapia habitual: no aparecen alopecia ni inmunosupresión, sino eventos adversos relacionados con la inmunidad, que pueden afectar a cualquier órgano y variar en intensidad desde asintomático a fulminante. Los más frecuentes son: colitis, diarrea, hepatitis, neumonitis, endocrinopatías (disfunción tiroidea, hipofisitis), y afectación cutánea (rash, prurito, vitíligo) (29).

1.3. Expresión y bloqueo de la vía PD-1/PD-L1 en el melanoma uveal.

1.3.1. Expresión de la vía PD-1/PD-L1 en el melanoma uveal.

El melanoma uveal se puede clasificar en cuatro tipos según la expresión de PD-L1 y la presencia de TILs. El tipo I corresponde a los tumores PD-L1+ con presencia de TILs (TILs+), es decir, expresión de PD-L1 adaptativa, y se asocia a buena respuesta a anticuerpos anti-PD-1 y/o anti-PD-L1 en monoterapia. El tipo II corresponde a tumores PD-L1- sin presencia de TILs (TILs-). El tipo III corresponde a tumores PD-L1+ y TILs-, es decir, expresión de PD-L1 constitutiva. El tipo IV corresponde a tumores PD-L1-, TILs+. Los tipos II, III y IV muestran respuesta más pobre a anti-PD-1 y/o anti-PD-L1 en monoterapia (30).

A nivel ocular, se ha encontrado expresión constitutiva de PD-L1 en córnea, iris, cuerpo ciliar y epitelio retiniano pigmentario. También se ha visto que en condiciones inflamatorias y bajo estímulo con IFN- γ aumenta significativamente su expresión, lo que se denomina expresión adaptativa. El bloqueo de PD-L1 produce un incremento en la producción de citoquinas proinflamatorias por parte de los linfocitos T activados; sin embargo, no tiene efecto sobre la apoptosis, lo que indica que la expresión ocular de PD-L1 no induce apoptosis de linfocitos T (31).

La expresión de la vía PD-1/PD-L1 en el melanoma uveal ha sido analizada en unos pocos estudios. La expresión de PD-1 en melanoma uveal es escasa (32); comparativamente, se ha encontrado que el melanoma uveal expresa menos PD-1 que la mayoría de los cánceres, y que correlaciona fuertemente con la presencia de células NK, células T, linfocitos T CD8, linfocitos citotóxicos, células dendríticas y con el linaje monocítico (33). Su expresión también correlaciona con otros inmunomoduladores, con la expresión de PD-L1 y con los genes de producción de mediadores de la respuesta inmune (33). Además, Shang et al. encontraron que la expresión de PD-1 correlaciona negativamente con la mortalidad global en el melanoma uveal (a mayor expresión, menor supervivencia) (33).

En el melanoma uveal, la expresión de PD-L1 se ve incrementada mediante IFN- γ , lo que inhibe a los linfocitos T y sus funciones, como por ejemplo la secreción de IL-2; esto se ha comprobado mediante el bloqueo de la expresión de PD-L1, lo que produce un aumento en la producción de IL-2 por parte de las células T (31,34). Sin embargo, no se ha encontrado aumento significativo de la apoptosis de linfocitos T cuando se realiza cocultivo de células de melanoma uveal que expresan PD-L1 con linfocitos T (34).

1.3.2. Uso de inhibidores de puntos de control inmune (ICIs) en el melanoma uveal.

A diferencia del melanoma conjuntival o del melanoma cutáneo, el melanoma uveal no presenta mutaciones en el gen BRAF, por lo que no es posible usar los inhibidores de BRAF en el tratamiento del melanoma uveal (35).

La escasa carga mutacional en el melanoma uveal supone limitado número de nuevos epítomos diana para el sistema inmune, lo que explicaría la poca eficacia de la inmunoterapia, como en los casos de los anti-CTLA-4 y anti-PD-1 o anti-PD-L1 (15). Además, el hecho de que el tumor surja en un órgano inmunoprivilegiado podría estar protegiendo a las células tumorales del sistema inmune, incluso a nivel sistémico (31). Por otra parte, las metástasis en el MU ocurren fundamentalmente en hígado, órgano en el que la inmunidad adaptativa contra el MU es particularmente débil. En las metástasis parece ser relevante la pérdida de función de las células NK, puesto que se ha visto aumento de la secreción de MIF (citoquina inhibidora de las células NK) en las líneas celulares de melanoma uveal que derivan de metástasis hepáticas, así como descenso de MIC-A/B (molécula del CMH que contribuye a la activación de las células NK), lo que sugiere que ambas puedan ser formas de escape a la inmunovigilancia en el MU (15).

El uso de ICIs en el melanoma uveal ha sido documentado en varios estudios, tanto anti-CTLA-4 como inhibidores de la vía PD-1/PD-L1. Los fármacos más estudiados son ipilimumab (anti-CTLA-4), pembrolizumab (anti-PD-1) y nivolumab (anti-PD-1), ya sea administrados en monoterapia o en combinaciones. Los datos obtenidos en los estudios indican poca efectividad de estos tratamientos en general, pero se sigue investigando su uso. Los anti-CTLA-4 han mostrado respuesta entre el 0% y el 5% de los pacientes (36). El uso de ICIs contra la vía PD-1/PD-L1 es uno de los objetivos de este trabajo, por lo que se aborda en los apartados de resultados y discusión.

Otro *checkpoint* inmune relevante en el melanoma uveal es LAG-3, que contribuye a la inhibición de las células T y, en consecuencia, de la secreción de citoquinas como IL-2, IL-4, IFN- γ y TNF- α (37). Se ha observado que se sobreexpresa de forma significativa en MU con TIL de alto grado (38), y algunos autores han postulado que LAG-3 constituye el principal *checkpoint* responsable del agotamiento inmune en el MU (32).

2. Justificación y objetivos.

2.1. Justificación.

El melanoma uveal, aun siendo un tumor infrecuente, es la neoplasia ocular primaria más frecuente, y el melanoma no cutáneo más frecuente (1). Su pronóstico es particularmente desfavorable, puesto que metastatizan la mitad de los pacientes (3), y la mediana de la supervivencia es aproximadamente de 1 año en los pacientes con metástasis (23). Además, es un tumor de difícil diagnóstico porque por su localización es escasamente sintomático y requiere una exploración exhaustiva y adecuada para su detección (8). A pesar de los tratamientos disponibles, no se ha conseguido modificar el curso de la enfermedad, puesto que ninguno ha mostrado gran efectividad en el control del tumor (23). A diferencia de los melanomas cutáneo y conjuntival, el melanoma uveal no presenta mutaciones en BRAF, lo que imposibilita el uso de terapias que tienen como diana esta vía (35).

En 2018 se otorgó el Premio Nobel de Fisiología o Medicina a los investigadores James Allison y Tasuku Honjo, por su descubrimiento de los puntos de control inmune en los linfocitos T y su papel en la inmunovigilancia del cáncer. Allison describió la molécula CTLA-4, y Honjo describió PD-1 y su ligando; ambos demostraron que la inhibición de estas moléculas con anticuerpos inducía una respuesta inmune antitumoral. En el melanoma uveal se ha encontrado sobreexpresión de CTLA-4, por lo que se realizaron ensayos con fármacos que inhiben esta vía, aunque no se han obtenido resultados satisfactorios (36). Sin embargo, si bien la vía PD-1/PD-L1 ya había sido estudiada en el melanoma cutáneo, en el que se relacionó la sobreexpresión de PD-L1 con peor pronóstico debido a que constituye una vía de escape del tumor frente a la respuesta inmune del paciente, en el melanoma uveal existen pocos estudios al respecto (39).

A raíz de esto, nos preguntamos qué importancia podría tener esta vía en la fisiopatología y el tratamiento del melanoma uveal.

2.2. Objetivos.

Objetivo principal

El objetivo principal de este trabajo es el estudio de la expresión del receptor de muerte programada PD-1 y su ligando en el melanoma uveal. Para ello se ha realizado una revisión bibliográfica que incluye estudios relevantes y actuales sobre este tema, con la intención de recopilar y comparar el porcentaje de casos positivos obtenidos en los diferentes trabajos.

Objetivos secundarios

1. Estudiar la existencia de una posible correlación entre la expresión inmunohistoquímica de la vía PD-1/PD-L1 y determinadas características de los pacientes, como la supervivencia media, el pronóstico o la respuesta al tratamiento.
2. Estudiar la posibilidad del bloqueo de la vía PD-1/PD-L1 como herramienta terapéutica en el melanoma uveal, a través de los resultados observados en diversos ensayos clínicos en que se emplean anticuerpos monoclonales anti-PD-1 y/o anti-PD-L1 en pacientes con este tumor.

3. Material y métodos.

3.1. Diseño.

Se ha realizado una revisión bibliográfica de tipo narrativo de documentos presentes en la base de datos PubMed. Se han consultado tanto revisiones bibliográficas como estudios científicos relacionadas con el tema a tratar. Cuando la bibliografía existente era muy abundante (en la revisión general de los aspectos introductorios fundamentalmente) se procuró extraer las referencias de las revistas con mayor índice de impacto.

3.2. Estrategia de búsqueda bibliográfica.

La revisión de la bibliografía puede dividirse en dos etapas: en la primera se ha llevado a cabo una búsqueda general para la contextualización del trabajo; en la segunda, una búsqueda más específica con respecto al tema principal de la revisión.

3.2.1. Estrategia de búsqueda en la revisión general.

Con el fin de contextualizar este estudio, se ha realizado una búsqueda general en la literatura acerca del funcionamiento de la vía PD-1/PD-L1 en condiciones fisiológicas, para la que se usaron palabras clave como PD-1, PD-L1, *programmed cell death 1* e *immune checkpoint*, empleando distintas combinaciones de operadores lógicos.

Como segundo paso, se buscó información relacionada con el papel de la vía PD-1/PD-L1 en la inmunidad tumoral y su bloqueo como diana terapéutica en el mismo, para lo que se incluyeron palabras clave como *microenvironment*, *cancer* y *blockade*. Se excluyeron los artículos que hablaban de esta vía y su bloqueo dentro de neoplasias específicas, con el objetivo de conseguir una visión más global.

Se ha realizado, a modo de introducción, un resumen de las características más relevantes del melanoma uveal y de su tratamiento.

3.2.2. Estrategia de búsqueda en la revisión específica.

Para la revisión de los trabajos que estudiaran la expresión de PD-L1 en el melanoma uveal se han empleado criterios más estrictos que para la revisión general introductoria. Las palabras clave utilizadas han sido: PD-1, PD-L1, *programmed cell death ligand 1*, *uveal melanoma*, *ocular melanoma*, CD274, B7H1. Para la identificación de estudios adicionales se ha revisado también la lista de referencias de algunos de los artículos relevantes para el trabajo.

Para la búsqueda de ensayos clínicos con anticuerpos anti-PD-1 y anti-PD-L1 en el tratamiento de pacientes con melanoma uveal, fueron empleadas palabras clave como *uveal melanoma*, *PD-1 blockade*, *PD-L1 blockade* e *immunotherapy*. Se excluyeron los ensayos con anticuerpos dirigidos a otras dianas, así como los ensayos en otros melanomas.

3.3. Criterios de selección.

Se establecieron los siguientes criterios de inclusión y exclusión para la selección de los estudios:

1. Criterios de inclusión: estudios publicados en los últimos 10 años (2010 hasta abril de 2020), en lengua castellana o inglesa, empleo de técnicas de inmunohistoquímica para el estudio de la expresión de PD-L1, estudio del PD-L1 en el melanoma uveal.
2. Criterios de exclusión: publicaciones anteriores al año 2010 o posteriores a abril de 2020, idioma distinto del castellano o inglés, técnicas de detección de la expresión de PD-L1 diferentes a las mencionadas en los criterios de inclusión, estudio de PD-L1 en otros tipos de melanoma o aquellos que no especificaban el subtipo de melanoma.

4. Resultados.

4.1. Expresión de PD-L1 en el melanoma uveal.

Tras el proceso de búsqueda bibliográfica, y teniendo en cuenta los criterios de inclusión y exclusión, se encontraron 5 estudios retrospectivos en los que se usaron técnicas inmunohistoquímicas para la detección de la expresión de PD-L1 en las células tumorales y/o en el microambiente tumoral. En todos ellos se usaron anticuerpos monoclonales anti-PD-L1 para su detección: 2 emplearon el clon E1L3N (40,41), y los otros emplearon los clones 22C3 (42), SP142 (43) y 5H1 (44).

Los cinco estudios analizan la expresión de PD-L1 en las células tumorales, si bien el análisis del microambiente tumoral solo aparece desglosado en el estudio de Zoroquiain et al. (40); en el estudio de Kaunitz et al. se menciona el hallazgo de la expresión de PD-L1 en linfocitos y macrófagos (44), y en el de Qin et al. el estudio de la expresión se realiza en el conjunto del tumor y su microambiente (41).

Cuatro de los cinco estudios definen el umbral de positividad (porcentaje de células tumorales y/o TAMs que presentan expresión de PD-L1 en la biopsia) como 5% (40,42-44), únicamente el estudio de Qin et al. utiliza un umbral del 1% (41).

Los estudios encontraron positividad para la expresión de PD-L1 en distinta proporción.

Zoroquiain et al. estudiaron las biopsias de 67 pacientes con melanoma uveal; de ellos, 25 pacientes tenían metástasis. Utilizaron el clon E1L3N, y definieron el umbral de positividad como un 5% o más de células PD-L1+; observaron tinción citoplasmática y acentuada en las membranas, con patrón difuso o parcheado. Presentaban infiltrado linfocitario el 40% de las metástasis, y el 29% de los pacientes sin metástasis. PD-L1 fue positivo en el tumor (Fig. 1) de forma global en el 46% (31/67): en el 40% (10/25) de los casos con enfermedad metastásica, y en el 50% (21/42) de aquellos sin enfermedad metastásica. El infiltrado inflamatorio fue positivo para PD-L1 en el 34% (23/67) de los casos. Tras el análisis de PD-L1 considerando su expresión tanto en las células tumorales como en el infiltrado inmune, el 60% (25/42) de los pacientes sin metástasis dieron positivo, frente al 44% (11/25) de los pacientes con metástasis (40).

Qin et al. estudiaron las biopsias de 10 pacientes con melanoma uveal aunque solo en 7 de ellas se realizó tinción inmunohistoquímica para PD-L1. Utilizaron el clon E1L3N, y definieron el umbral de positividad como un 1% o más de células PD-L1+. El 40% (4/10) de las muestras de melanoma uveal no presentaron linfocitos T CD8+. La expresión de PD-L1 se halló en el 14% (1/7) de las muestras (41) (Fig. 2).

Javed et al. estudiaron las biopsias de 78 pacientes con melanoma uveal metastásico. Utilizaron el clon SP142, y definieron el umbral de positividad como un 5% o más de células PD-L1+; observaron la tinción de las membranas únicamente. La expresión de PD-L1 se halló en el 5.1% (4/78) de las muestras (43).

Rossi et al. estudiaron 24 biopsias de 17 pacientes: analizaron 14 biopsias de melanoma uveal primario y 10 de metástasis. Utilizaron el clon 22C3, y definieron el umbral de positividad como un 5% o más de células PD-L1+; observaron tinción citoplasmática y acentuada en las membranas. Hallaron positividad para PD-L1 en el 7.1% (1/14) de las biopsias de MU primario y en el 10% (1/10) de las biopsias de metástasis de MU (42).

Kaunitz et al. estudiaron las biopsias de 103 pacientes con melanoma uveal. Utilizaron el clon 5H1, y definieron el umbral de positividad como un 5% o más de células PD-L1+; observaron la tinción de las membranas únicamente. Observaron detección de PD-L1 en el 10% (11/103) de las biopsias, sobre todo en áreas del tumor con elevado infiltrado linfocitario T CD8+. En el estudio se menciona que observan expresión de PD-L1 en células inmunes, como los linfocitos y macrófagos, en áreas en que el tumor adyacente no lo expresa (44).

4.2. Expresión de PD-1 en el melanoma uveal.

Qin et al. observaron expresión de PD-1 en el infiltrado linfocitario (TILs) de 10 biopsias de melanoma uveal. La positividad para PD-1 se evaluó según conteo por área de mm^2 , con el clon EPR48677. Encontraron que la expresión de PD-1 fue de 15.2 PD-1+/ mm^2 . Se comparó con la expresión de PD-1 en melanoma cutáneo, observándose mayor expresión en el cutáneo (208.8 PD-1+/ mm^2), diferencia estadísticamente significativa (41) (Fig. 2).

Javed et al. observaron la expresión de PD-1 exclusivamente en los TILs de 45 biopsias de melanoma uveal metastásico (MUM). La positividad para PD-1 se evaluó según conteo de 1 o más TILs PD-1+ en campo de gran aumento. Encontraron expresión de PD-1 en el 51.1% (23/45) de las biopsias. De las 45 biopsias evaluadas para la expresión de PD-1, solo 1 (2.2%) mostró coexpresión de PD-L1. Se comparó con la expresión de PD-1 en 91 biopsias de melanoma cutáneo metastásico. Se observó PD-1+ en el 73.6% (67/91) de las muestras de MCM, y coexpresión con PD-L1 en el 23.1% (21/91), superior a lo observado en MUM, hecho que suponen podría deberse a las diferencias entre los microambientes de ambos tumores. Además, que la expresión de PD-1 sea inferior en MUM que en MCM podría ser debido a la menor inmunogenicidad de las células circulantes del MU, que no serían detectadas por el sistema inmune debido a su escasa carga mutacional (43).

Rossi et al. objetivaron en su estudio la expresión de PD-1, sin especificar si fue en el tejido tumoral o en los TILs. PD-1 se observó ausente en el 100% (0/14 con PD-1+) de las biopsias de MU primario y en el 90% de las metástasis (1/10 con PD-1+) (42).

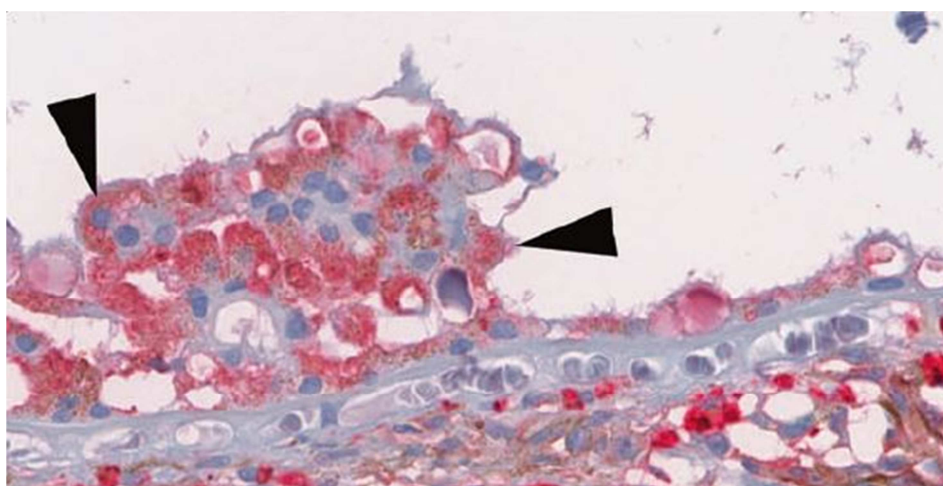


Figura 1: Tinción de PD-L1 citoplasmática. Imagen obtenida del estudio de Zoroquiain et al. (40).

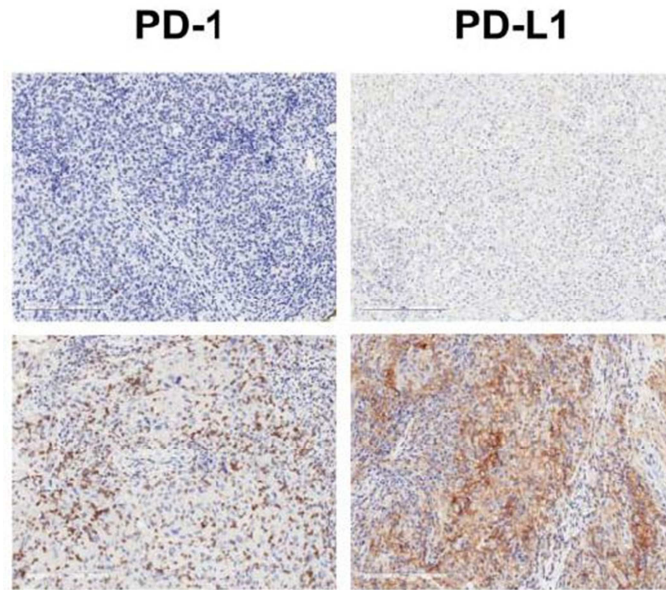


Figura 2: Tinción de PD-1 y PD-L1 en melanoma uveal (arriba) y melanoma cutáneo (abajo). Imagen obtenida del estudio de Qin et al. (41).

	Número de muestras estudiadas	Anticuerpo anti-PD-L1	Expresión de PD-L1 (% de PD-L1 +)	Umbral de positividad (% de células PD-L1 +)
Javed et al. (43)	78	SP142	4/78 (5,1%) (solo células tumorales)	≥5%
Kaunitz et al. (44)	103	5H1	11/103 (10%) (solo células tumorales)	≥5%
Qin et al. (41)	7	E1L3N	1/7 (14%) (tumor y microambiente tumoral)	≥1%
Rossi et al. (42)	14 de MU primario 10 de metástasis	22C3	1/14 (7,1% de MU primario) 1/10 (10% de metástasis) (solo células tumorales)	≥5%
Zoroquiain et al. (40)	67	E1L3N	31/67 (46%) (células tumorales) 23/67 (34%) (infiltrado inmune)	≥5%

Cuadro 1: Expresión de PD-L1

4.3. Correlación de la expresión de PD-1 y PD-L1 en el melanoma uveal con otras variables.

De los cinco estudios seleccionados para esta revisión bibliográfica, solo dos revisan las posibles implicaciones de la expresión de PD-1/PD-L1 en el melanoma uveal.

Kaunitz et al. evaluaron, en 103 casos de melanoma uveal y 97 casos de otros subtipos de melanoma, la existencia de posible correlación entre la expresión de PD-L1 con infiltrado de TILs CD8+, con agregados linfoides y con la morfología celular tipo fusiforme. Observaron correlación entre la expresión de PD-L1 con TILs CD8+ de grado moderado o alto ($p < 0.003$), es decir, TILs que representan 5-50% (moderado) o $> 50\%$ (alto) del área del tumor; esto sugiere la existencia de un mecanismo adaptativo para la expresión inducido durante la respuesta antitumoral. En su serie, encontraron que la expresión de PD-L1 era principalmente adaptativa, con microambiente de tipo I (PD-L1+, TILs+). También se observó correlación entre la expresión de PD-L1 y el tipo celular fusiforme ($p < 0.0001$). La presencia de agregados linfoides no se asoció con el grado de expresión de PD-L1 (44).

Zoroquiain et al. evaluaron en 67 pacientes, mediante test χ^2 , la asociación entre la expresión de PD-L1 (en células tumorales, en células inmunes, y en células tumorales e inmunes) y diversas variables clinicopatológicas, a saber, extensión extraocular, TILs, TAMs, tipo celular, mayor dimensión del tumor, TNM, género, cantidad de mitosis y edad. Solo se halló significación estadística ($p < 0.05$) para las que se mencionan a continuación (40).

Un análisis univariante mostró asociación entre expresión de PD-L1 en las células inmunes y menor edad al diagnóstico ($p < 0.009$); sin embargo, no se encontró relación entre la expresión de PD-L1 en células inmunes y el pronóstico del tumor (40).

Mediante análisis univariante se halló correlación entre la expresión de PD-L1 en el tumor y menor grado de TILs ($p < 0.04$). Considerando la expresión de PD-L1 tanto en el tumor como en los TILs, se realizó un análisis univariante y se encontró correlación también con menor infiltrado linfocitario en el tumor ($p = 0.02$) (40).

Mediante el análisis *log-rank* de las curvas de Kaplan-Meier se observó correlación entre la expresión de PD-L1 en el tumor y mayor tiempo de supervivencia libre de metástasis ($p < 0.038$); se analizó si esta correlación era independiente de otros factores pronósticos, y se encontró que no era independiente. Considerando la expresión de PD-L1 tanto en el tumor como en los TILs, se hizo análisis *log-rank* de las curvas de Kaplan-Meier y se encontró también correlación con mayor tiempo de supervivencia libre de metástasis ($p = 0.007$) (40).

Tras un análisis multivariante con el método de regresión de Cox se concluyó que la expresión de PD-L1 en $> 5\%$ del tumor y del TIL correlaciona con mejor pronóstico (40).

También se encontró que el microambiente era de tipo III en la mayoría de los casos (células tumorales PD-L1+, sin TILs), lo que correlaciona con expresión constitutiva de PD-L1 y con mala respuesta a monoterapia con ICI. Se observó que en el 12% de los casos el microambiente era de tipo I, que se asocia a buena respuesta a monoterapia con ICIs. Por esto, es muy importante la evaluación del microambiente del tumor (40).

4.4. Bloqueo de la vía PD-1/PD-L1 en el melanoma uveal.

Tras el proceso de búsqueda bibliográfica, y teniendo en cuenta los criterios de inclusión y exclusión, se encontraron 23 artículos de estudios que revisasen, en su centro o de forma multicéntrica, la aplicación de anticuerpos anti-PD-1/anti-PD-L1 para el tratamiento del melanoma uveal. Los fármacos más comunmente utilizados son pembrolizumab y nivolumab.

Keilholz et al. realizaron un estudio de fase I con avelumab, anticuerpo anti-PD-L1, en 51 pacientes con melanoma metastásico con una mediana de edad de 64 años (rango 31-84), que incluye 16 pacientes con melanoma ocular. Todos los pacientes tenían tumor en estadio III o IV irresecable, según la clasificación de la AJCC; se excluyeron del estudio a pacientes que hubiesen sido tratados antes con anti-PD-L1 o anti-PD-1. Los pacientes habían recibido diversos tratamientos previos, los más utilizados habían sido ipilimumab, dacarbazina, cisplatino e interferón. Se dio el fármaco en infusión intravenosa, a dosis de 10 mg/kg cada 2 semanas. El tiempo medio de duración del tratamiento fue de 3.2 meses (rango 0.5-27.2), con 7 dosis de media (rango 1-56). Se realizó el seguimiento durante una media de 24.2 meses (rango 16.1-31.5); en el momento de la publicación, 6 de 51 pacientes seguían tratándose (45).

No se observó respuesta objetiva en ninguno de los 16 pacientes con melanoma ocular, aunque 7 de 16 mostraron enfermedad estable de manera transitoria. En los pacientes con melanoma ocular se estimó una mediana de tiempo libre de progresión de 1.7 meses (rango 1.4-4.1), con un ratio a los 6 meses de 23.4% (rango 6.5-46.3%). No se pudo estimar la mediana de supervivencia global, pero sí el ratio a los 6 meses, que fue de 56.3% (rango 29.5-76.2%) (45).

Schank et al. realizaron un análisis de 20 pacientes con melanoma uveal de su centro que fueron tratados con nivolumab (1 paciente, dosis de 3 mg/kg cada 2 semanas), pembrolizumab (12 pacientes, dosis de 2 mg/kg cada 3 semanas), o la combinación de ipilimumab y nivolumab seguida de nivolumab (7 pacientes, ipi 3 mg/kg + nivo 1 mg/kg cada 3 semanas, seguido de nivo 3 mg/kg cada 2 semanas), entre agosto de 2014 y febrero de 2019. Se observó respuesta parcial en 1 paciente tratado con pembrolizumab y en 1 paciente tratado con nivolumab+ipilimumab. La mediana de tiempo libre de progresión fue de 2.75 meses, con una duración de la respuesta media de 2.85 meses (46).

Piulats et al. realizaron un estudio de fase II con una combinación de nivolumab e ipilimumab en 50 pacientes con melanoma uveal, con media de edad 59 años (rango 26-84). Ninguno había recibido tratamiento previamente. La dosis de nivolumab fue de 1 mg/kg, y la de ipilimumab fue 3 mg/kg, administradas conjuntamente cada 3 semanas; después de 4 dosis de inducción, se realizó el mantenimiento con nivolumab a 3 mg/kg cada 2 semanas. Se siguieron los pacientes durante una media de 7.06 meses (47).

Se observó respuesta objetiva en 6 de 50 pacientes, y enfermedad estable en 26 de 50. La mediana de tiempo libre de progresión fue 3.27 meses, y la mediana de supervivencia global fue de 12.7 meses (47).

Shoushtari et al. realizaron un estudio con una combinación de nivolumab e ipilimumab en 64 pacientes con melanoma avanzado, con media de edad 56 años (rango 22-82), que incluye 6 pacientes con melanoma uveal. La dosis de nivolumab fue de 1 mg/kg y la de ipilimumab fue 3 mg/kg, administradas conjuntamente cada 3 semanas; después de 1 a 4 dosis de inducción, se realizó mantenimiento con nivolumab a 3 mg/kg cada 2 semanas, o pembrolizumab a 2 mg/kg cada 3 semanas. Se siguieron los pacientes durante una media de 7 meses (48).

No se observó respuesta objetiva en ningún paciente con melanoma uveal. Se alcanzó una mediana de tiempo libre de progresión de 2.8 meses (48).

Karydis et al. realizaron un estudio con pembrolizumab en 25 pacientes con melanoma uveal metastásico con media de edad 58 años (rango 32-83). Todos los pacientes habían sido tratado previamente con ipilimumab. La dosis administrada de pembrolizumab fue de 2 mg/kg cada 3 semanas, durante un máximo de 2 años, progresión de la enfermedad o toxicidad

inaceptable. Se siguieron los pacientes una media de 225 días (aproximadamente 7.5 meses) (49).

Se observó respuesta parcial en 2 de 25 pacientes, y enfermedad estable en 6 de 25. La mediana de tiempo libre de progresión fue de 91 días (9-321+ días); no se alcanzó la supervivencia global (49).

Schadendorf et al. realizaron un estudio de fase II con nivolumab en 734 pacientes con melanoma avanzado, que incluye 34 pacientes con melanoma uveal. Los pacientes habían recibido previamente ipilimumab y habían sufrido progresión del tumor. La dosis de nivolumab fue de 3 mg/kg, administrada cada 2 semanas. Se siguieron los pacientes durante al menos 1 año (50).

Se observó respuesta parcial en 2 pacientes y estabilización de la enfermedad en 15 pacientes de los 34 con melanoma uveal. El ratio de respuesta a las 12 semanas fue del 6% (2/34) en los pacientes con melanoma uveal. La mediana de la supervivencia global fue de 11 meses, con un ratio al año del 47% (rango 34-59%) (50).

Algazi et al. realizaron un estudio con pembrolizumab, nivolumab y atezolizumab en 56 pacientes con melanoma uveal, con media de edad al diagnóstico de 55.5 años (rango 25.8-84.1). La mayoría de los pacientes habían recibido tratamiento sistémico previamente (48/56). 27 pacientes fueron tratados con pembrolizumab a 2 mg/kg cada 3 semanas, 9 pacientes fueron tratados con pembrolizumab a 10 mg/kg cada 2-3 semanas, y 2 pacientes fueron tratados con pembrolizumab a dosis desconocida cada 3 semanas; 10 pacientes fueron tratados con nivolumab a 3 mg/kg cada 2 semanas, 6 pacientes fueron tratados con nivolumab a dosis de 1, 2 o 10 mg/kg cada 2 semanas; 2 pacientes fueron tratados con atezolizumab a dosis de 10 y 15 mg/kg respectivamente cada 2 semanas. Se definió el seguimiento de los pacientes como la realización de una prueba de imagen a las 12 semanas o el registro de la muerte en las primeras 16 semanas de tratamiento (51).

Se observó enfermedad estable durante al menos 6 meses en 5 pacientes, y respuesta objetiva en 2 pacientes. La mediana del tiempo libre de progresión fue de 2.6 meses. La mediana de supervivencia global fue de 7.7 meses; este parámetro fue significativamente mayor en mujeres, en las que se vio una mediana de 13.3 meses, frente a 5 meses en los hombres; también fue significativamente mayor en pacientes con LDH elevada (25 meses frente a 5.2 meses en los pacientes con LDH baja) (51).

Bender et al. realizaron un estudio retrospectivo sobre el uso de pembrolizumab y nivolumab en 15 pacientes con melanoma uveal, con media de edad 62.1 años (rango 32-79). De todos los pacientes, 8 habían recibido previamente tratamiento con ipilimumab y sufrieron progresión del tumor; además, 3 de ellos habían recibido otras terapias sistémicas. La dosis de pembrolizumab fue de 2 mg/kg cada 3 semanas, administrada a 11 pacientes; y a 4 pacientes se les administró una dosis de nivolumab de 3 mg/kg cada 2 semanas. Se definió el seguimiento de los pacientes como la realización de una prueba de imagen a las 12 semanas de tratamiento (52).

Se observó enfermedad estable en 4 pacientes. La mediana de tiempo libre de progresión fue de 3 meses, y la de supervivencia global fue de 5 meses (52).

Kottschade et al. realizaron un estudio con pembrolizumab en 10 pacientes con melanoma uveal metastásico, con media de edad 65 años. Los pacientes habían recibido anteriormente tratamiento con ipilimumab y habían sufrido progresión del tumor. La dosis administrada de pembrolizumab fue de 2 mg/kg cada 3 semanas, hasta un máximo de dos años, progresión de la enfermedad o toxicidad inaceptable (53).

Se observó respuesta completa en 1 paciente, respuesta parcial en 2 pacientes, y enfermedad estable en 1 paciente; 4 pacientes manifestaron progresión rápida de la

enfermedad. La mediana de tiempo libre de progresión fue de 18 semanas (rango 3.14-49.3) (53).

Rossi et al. realizaron un estudio con pembrolizumab en 17 pacientes con melanoma uveal con metástasis al menos en hígado, con media de edad 64.7 años (rango 29-83). Los pacientes habían sido tratados mediante enucleación, braquiterapia con rutenio, así como tratamiento de las metástasis mediante cirugía o ablación. La dosis administrada de pembrolizumab fue de 2 mg/kg cada 3 semanas hasta progresión del tumor, toxicidad inadmisibles o retirada del fármaco. Se dio una media de 8 ciclos por paciente (rango 2-28). Cada 9 semanas se evaluó el MUM, hasta la detección de progresión o la interrupción del tratamiento (42).

Se observó respuesta parcial en 2 pacientes (sin progresión tras 19.4 y 28.9 meses), y estabilización del tumor en 6; no se vio ninguna respuesta completa. Los 2 pacientes con respuesta parcial seguían tratándose en el momento del análisis de datos. El tiempo libre de progresión en todos los pacientes fue de 3.8 meses; en los pacientes que tardaron en presentar metástasis más de 5 años desde el diagnóstico, el tiempo libre de progresión fue de 9.7 meses, frente a 2.6 meses en aquellos con metástasis en menos de 5 años (diferencia con significación estadística). Además, se halló tiempo libre de progresión superior en pacientes con metástasis hepáticas y extrahepáticas frente a pacientes con solo metástasis hepáticas (3.1 meses frente a 8.4 meses, sin significación estadística). La supervivencia en los pacientes que obtuvieron beneficio clínico fue de 12.8 meses, frente a 3.1 meses en el caso de los pacientes con progresión del MU (estadísticamente significativo). En el momento del análisis, 5 de los pacientes habían muerto, por lo que no se pudo calcular la supervivencia global (42).

Heppt et al. realizaron un estudio sobre el uso de pembrolizumab, nivolumab o la combinación de alguno de estos con ipilimumab en 101 pacientes con melanoma uveal estadio IV. 60 pacientes tenían 60 años o más, y 41 pacientes menos de 60 años. La dosis de nivolumab en monoterapia fue de 3 mg/kg cada 2 semanas; la dosis de pembrolizumab en monoterapia fue de 2 mg/kg cada 3 semanas; las dosis de anti-PD-1 en combinación con ipilimumab fueron variables. El seguimiento se realizó durante al menos 3 meses (54).

En este estudio, un total de 86 pacientes recibieron monoterapia. De ellos, 54 pacientes fueron tratados con pembrolizumab durante una media de 5 ciclos (rango 1-31); otros 32 pacientes fueron tratados con nivolumab, durante una media de 7 ciclos (rango 1-27). Se observaron 4 respuestas parciales, y enfermedad estable en 14 casos. La mediana del tiempo libre de progresión para el pembrolizumab fue de 3.1 meses, y de 2.8 meses para el nivolumab; la mediana de supervivencia global fue de 14 meses para el pembrolizumab y de 10 meses para el nivolumab (54).

Por otro lado, 15 pacientes fueron tratados con ipilimumab en combinación con un anti-PD-1; 6 de ellos habían recibido previamente un anti-PD-1 en monoterapia, y 2 ipilimumab en monoterapia, con progresión del tumor. Estos pacientes eran significativamente más jóvenes y tenían menor afectación sistémica. 3 pacientes interrumpieron el tratamiento precozmente debido a efectos adversos. Se observaron 2 respuestas parciales y ninguna completa; además, se vieron 2 pacientes con enfermedad estable. La mediana del tiempo libre de progresión fue de 2.8 meses; no se pudo alcanzar la supervivencia global (54).

Heppt et al. realizaron otro estudio en el que observaron el uso de pembrolizumab o nivolumab en combinación con ipilimumab, en 64 pacientes con MU estadio IV. 36 pacientes tenían 60 años o más, y 28 pacientes menos de 60 años. La dosis de pembrolizumab fue de 2 mg/kg cada 3 semanas, tanto en combinación con ipilimumab como en monoterapia para el mantenimiento; el nivolumab se administró a dosis de 1 mg/kg en combinación con ipilimumab, y se dio en monoterapia como mantenimiento a dosis de 3 mg/kg cada 2

semanas. Las dosis de ipilimumab en combinación fueron de 3 mg/kg o 1 mg/kg hasta 4 ciclos. Los pacientes recibieron tratamiento hasta progresión del tumor o toxicidad inadmisibles. Se dieron una mediana de 3 ciclos (rango 1-4) de terapia combinada; 19 pacientes recibieron terapia de mantenimiento, con una mediana de 3 ciclos (rango 1-27). El tiempo de seguimiento fue de media 9.2 meses (55).

No se hizo distinción por tratamiento aplicado en los resultados. Se observó respuesta completa en 2 pacientes, respuesta parcial en 8, y enfermedad estable en otros 14 casos. En total, se estableció que la mediana de duración del beneficio clínico fue de 28 meses (rango 7-65). La mediana del tiempo de libre de progresión fue de 3 meses, y la mediana de la supervivencia global fue de 16.1 meses (55).

Karivedu et al. realizaron un estudio con TACE y nivolumab en combinación con ipilimumab en 8 pacientes con MUM, con media de edad 68.25 años (rango 55-77). Los pacientes habían recibido tratamiento previamente mediante enucleación o braquiterapia. Las dosis de nivolumab e ipilimumab fueron, respectivamente, de 1 mg/kg y 3 mg/kg, durante de 1 a 4 ciclos; 6 pacientes recibieron tratamiento de mantenimiento con nivolumab (240 mg, 5 pacientes cada 2 semanas y 1 paciente cada 3 semanas); 1 paciente recibió tratamiento de mantenimiento con pembrolizumab (200 mg cada 3 semanas). 6/8 pacientes recibieron TACE (56).

Se observó respuesta parcial en 2 pacientes. La mediana de la supervivencia global fue de 14 meses (56).

Namikawa et al. realizaron un estudio con nivolumab en 14 pacientes con MUM. Ninguno de los pacientes había recibido tratamiento sistémico previamente; 8 habían recibido TACE. Se administró nivolumab a dosis de 2 mg/kg en 13 pacientes, y de 3 mg/kg en 1 paciente. La media del seguimiento fue de 15 meses (57).

Se observó respuesta parcial en 1 paciente, y enfermedad estable en 5 pacientes. La mediana de tiempo libre de progresión fue de 10 semanas, y la mediana de supervivencia global fue de 60 semanas (57).

Pelster et al realizaron un estudio de fase II con nivolumab en combinación con ipilimumab en 35 pacientes con MU, aunque 5 de ellos no se pudieron evaluar porque no se realizó prueba de imagen para el seguimiento. Los pacientes recibieron nivolumab a 1 mg/kg junto con ipilimumab a 3 mg/kg cada 3 semanas en un total de 4 dosis; luego recibieron nivolumab de mantenimiento a 3 mg/kg cada 2 semanas o 480 mg cada 4 semanas. La mediana del seguimiento fue de 60.5 semanas (58).

Se observó respuesta parcial en 5 pacientes, y enfermedad estable en 16 pacientes; 8 pacientes tuvieron enfermedad estable durante al menos 6 meses. La mediana del tiempo libre de progresión fue de 26 semanas; la mediana de la supervivencia global fue de 83 semanas, con un ratio de supervivencia al año del 62% (58).

Johnson et al. realizaron un estudio de fase II con pembrolizumab en 5 pacientes con MU, con media de edad 63 años. Los pacientes se siguieron durante una mediana de 11 meses (rango 0.4-25.5). Se observó 1 respuesta completa (que continuaba a los 25.5 meses de seguimiento), y ninguna respuesta parcial. En 1 paciente se observó enfermedad estable durante 1 mes. Los otros 2 pacientes sufrieron rápido deterioro por progresión rápida del tumor. La mediana del tiempo libre de progresión fue de 11 meses (59).

Kirchberg et al. realizaron un estudio con anti-PD-1 en combinación con ipilimumab en 33 pacientes con melanoma avanzado, que incluye 9 pacientes con melanoma uveal. La mediana de edad en los pacientes con MU fue de 66 años (rango 54-75); 8 de ellos tenían metástasis hepáticas y habían recibido tratamiento previamente. Se administró

pembrolizumab a 2 mg/kg junto con ipilimumab a 1 mg/kg cada 3 semanas, en un total de 4 dosis (60).

Se observaron, en los pacientes con MU, 5 pacientes con enfermedad estable, los otros 4 sufrieron progresión del tumor. La mediana de la supervivencia global fue de 18.4 meses (60).

Mignard et al. realizaron un estudio retrospectivo sobre el uso de quimioterapia e inmunoterapia en 439 pacientes con melanoma, que incluye 210 con MU. La media de edad en el grupo con MU fue de 64.9 años (rango 52.7-77.1), en el momento de iniciar quimioterapia o inmunoterapia. Las dosis administradas fueron de 3 mg/kg de ipilimumab cada 3 semanas, 3 mg/kg de nivolumab cada 2 semanas, y 2 mg/kg de pembrolizumab cada 3 semanas. Los pacientes se siguieron durante 8.48 meses (rango 5.09-14) (61).

Del total de 210 pacientes con MU, 110 pacientes recibieron inicialmente quimioterapia, y 100 inmunoterapia (48 de estos 100 habían recibido previamente quimioterapia). De los pacientes que recibieron inmunoterapia, 63 pacientes recibieron ipilimumab (31 recibieron nivolumab o pembrolizumab posteriormente), y 37 pacientes recibieron nivolumab o pembrolizumab (14 recibieron ipilimumab posteriormente) (61).

Se observaron 2 respuestas completas y 2 parciales entre los tratados con quimioterapia, ninguna entre los tratados con inmunoterapia. Además, se observó enfermedad estable en 29 pacientes tratados con quimioterapia, y en 32 pacientes tratados con inmunoterapia (19 tratados con ipilimumab, 13 tratados con nivolumab o pembrolizumab) (61).

La supervivencia global, tanto ajustada por factores pronósticos como no ajustada, no fue significativamente diferente en los pacientes tratados con quimioterapia respecto a los tratados con inmunoterapia (mediana de 11.02 y 13.38 meses, respectivamente). El ratio de supervivencia global al año fue del 44.3% para los pacientes tratados con quimioterapia, y 52.5% para los pacientes tratados con inmunoterapia (61).

Jochems et al. realizaron un estudio en 175 pacientes con melanoma uveal, con mediana de edad 65 años (rango 29-89). 67 de ellos recibieron terapia sistémica (dacarbazina, ICIs, terapias diana). De los pacientes que recibieron ICIs, 4 fueron tratados con ipilimumab, 12 con anti-PD-1, y 1 paciente fue tratado con combinación de anti-CTLA-4 y anti-PD-1. El seguimiento se realizó durante una mediana de 120 semanas (62).

El ratio de supervivencia al año del diagnóstico de MUM fue del 47.8%. En los pacientes tratados con anti-PD-1, la mediana de la supervivencia global fue de 54.3 semanas (62).

Van der Kooij et al. realizaron un estudio con pembrolizumab y nivolumab en 17 pacientes con melanoma uveal, con media de edad 57.94 años (rango 28-73). Los pacientes no habían recibido ipilimumab previamente, aunque sí habían recibido otros tratamientos. Se les administró 2 mg/kg de pembrolizumab cada 3 semanas, o 3 mg/kg de nivolumab cada 2 semanas; recibieron entre 1 y 8 dosis. La mediana de tiempo de seguimiento fue de 4 meses (63).

Se observó progresión en 15 pacientes, 6 murieron durante el tratamiento o al poco tiempo de suspenderlo. La mediana del tiempo libre de progresión fue de 2.3 meses, y la de supervivencia global fue de 9.6 meses (63).

Piperno-Neumann et al. realizaron un estudio con nivolumab y pembrolizumab en 21 pacientes con MUM, con mediana de edad 64 años (rango 32-77). Entre los tratamientos previos se incluyen enucleación y PBT. Se administró una mediana de 4 dosis intravenosas de pembrolizumab o nivolumab (64).

No se observó ninguna respuesta objetiva; 6 pacientes mostraron estabilización de la enfermedad. La mediana del tiempo libre de progresión fue de 3 meses (64).

Tian et al. realizaron un estudio con nivolumab y pembrolizumab en 17 pacientes con melanoma, 9 de ellos con MU (solo evaluables 8/9). No se observó ninguna respuesta

completa; sin embargo, se vieron 2 pacientes con respuesta parcial y 3 con enfermedad estable. 6 pacientes sufrieron progresión del tumor en el hígado. 2/8 pacientes con MU seguían vivos a los 11 meses de seguimiento (65).

Bol et al. realizaron un estudio retrospectivo sobre el uso de ICIs y quimioterapia en 126 pacientes con melanoma uveal metastásico. La mediana de edad fue 62 años (rango 34-89) en la era pre-ICI, pacientes tratados entre 2011-2013; y de 65 años (rango 22-87) en la era post-ICI, pacientes tratados entre 2014-2018. La mediana del tiempo de seguimiento fue de 23 meses. El tratamiento de primera línea en la era pre-ICI fue principalmente la temozolamida (32 pacientes); los tratamiento de primera línea en la era post-ICI fueron ipilimumab, pembrolizumab (43 pacientes) y nivolumab en combinación con ipilimumab (19 pacientes) en la mayoría de los casos. 8 pacientes de ambas eras no recibieron ningún tratamiento sistémico (66).

No se observó ninguna respuesta completa, independientemente del tratamiento. Se observaron 3 respuestas parciales en pacientes tratados con pembrolizumab, y 4 respuestas parciales en pacientes tratados con combinación de nivolumab e ipilimumab. Se observó enfermedad estable de al menos 24 semanas en 2 de los pacientes tratados con temozolamida, 6 de los tratados con ipilimumab, 12 de los tratados con pembrolizumab, y 2 de los tratados con nivolumab+ipilimumab (66).

La mediana del tiempo libre de progresión en la era pre-ICI fue de 2.5 meses, frente a 3.5 meses en la era post-ICI, con diferencia estadísticamente significativa ($p < 0.001$). La mediana de la supervivencia global en la era pre-ICI fue de 7.8 meses, frente a 10 meses en la era post-ICI, también significativamente diferente ($p = 0.003$). Los ratios de supervivencia global al año fueron del 25% en la era pre-ICI, y 41.9% en la era post-ICI. La supervivencia global en los pacientes que no recibieron tratamiento fue de 1.5 meses (66).

	Nº de pacientes con MU	Fármaco	Dosis	Respuesta completa	Respuesta parcial	Tiempo libre de progresión	Supervivencia global
Algazi et al. (51)	56	Atezolizumab (n=2) Nivolumab (n=16) Pembrolizumab (n=38)	10-15 mg/kg 1-10 mg/kg 2-10 mg/kg	0	2	2.6 meses	7.7 meses
Bender et al. (52)	15	Nivolumab (n=4) Pembrolizumab (n=11)	3 mg/kg 2 mg/kg	0	0	3 meses	5 meses
Bol et al.(66)	126	Ipilimumab (n=24) Nivolumab+ipilimumab (n=19) Pembrolizumab (n=43)	No referidas	0 0 0	0 4 3	3 meses 3.7 meses 4.8 meses	9.9 meses 18.9 meses 10.3 meses
Heppt et al. (54)	101	Nivolumab (n=32) Pembrolizumab (n=54) Nivo/pembro+ipi (n=15)	3 mg/kg 2 mg/kg Variable	0 0 0	1 3 2	2.8 meses 3.1 meses 2.8 meses	10 meses 14 meses No alcanzado
Heppt et al. (55)	64	Nivolumab+ipilimumab (n=59) Pembrolizumab+ipilimumab (n=5)	1mg/kg+3mg/kg 2mg/kg+1mg/kg	2	8	3 meses	16.1 meses
Jochems et al. (62)	175	Anti-PD-1 (n=12) Anti-PD-1+anti-CTLA-4 (n=1)	No referidas	0	1	No alcanzado	54.3 semanas
Johnson et al. (59)	5	Pembrolizumab	No referidas	1	0	11 meses	No alcanzado
Karivedu et al. (56)	8	TACE+nivolumab+ipilimumab	1mg/kg (nivo) +3mg/kg (ipi)	0	2	No alcanzado	14 meses
Karydis et al. (49)	25	Pembrolizumab	2 mg/kg	0	2	91 días	No alcanzado
Keilholz et al. (45)	16	Avelumab	10 mg/kg	0	0	1.7 meses	No alcanzado
Kirchberg et al. (60)	9	Pembrolizumab+ipilimumab	2mg/kg+1mg/kg	0	0	No alcanzado	18.4 meses
Kottschade et al. (53)	10	Pembrolizumab	2 mg/kg	1	2	18 semanas	No alcanzado
Mignard et al. (61)	210	Nivolumab//pembrolizumab (n=37)	3mg/kg//2mg/kg	0	0	No alcanzado	13.38 meses
Namikawa et al. (57)	14	Nivolumab	2 mg/kg (n=13) 3 mg/kg (n=1)	0	1	10 semanas	60 semanas
Pelster et al. (58)	35 (30 evaluables)	Nivolumab+ipilimumab	1mg/kg+3mg/kg	0	5	26 semanas	83 semanas
Piperno-Neumann et al. (64)	21	Nivolumab Pembrolizumab	No referidas	0	0	3 meses	No alcanzado
Piulats et al. (47)	50	Nivolumab+ipilimumab	1mg/kg+3mg/kg	0	6	3.27 meses	12.7 meses
Rossi et al. (42)	17	Pembrolizumab	2 mg/kg	0	2	3.8 meses	No alcanzado
Schadendorf et al. (50)	34	Nivolumab	3 mg/kg	0	2	No alcanzado	11 meses

Schank et al. (46)	20	Nivolumab (n=1) Pembrolizumab (n=12) Nivolumab+ipilimumab (n=7)	3 mg/kg 2 mg/kg 1mg/kg+3mg/kg	0 0 0	0 1 1	2.75 meses	No alcanzado
Shoushtari et al. (48)	6	Nivolumab+ipilimumab	1mg/kg+3mg/kg	0	0	2.8 meses	No alcanzado
Tian et al. (65)	9 (8 evaluables)	Nivolumab Pembrolizumab	No referidas	0	2	No alcanzado	No alcanzado
Van der Kooij et al. (63)	17	Nivolumab Pembrolizumab	3 mg/kg 2 mg/kg	0	0	2.3 meses	9.6 meses

Cuadro 2: Bloqueo de la vía PD-1/PD-L1 en el melanoma uveal

5. Discusión.

La vía PD-1/PD-L1 es un mecanismo implicado en la tolerancia inmune y en la autoinmunidad, utilizado por las células tumorales para inactivar a los linfocitos T y escapar de la vigilancia inmunológica. Esta situación de inmunotolerancia puede revertirse mediante anticuerpos que bloqueen PD-1 o sus ligandos, principalmente PD-L1. Se ha observado potenciación de la vía PD-1/PD-L1 en el microambiente de distintos tumores sólidos, como el melanoma cutáneo, el carcinoma de células renales, o el carcinoma de pulmón de células no pequeñas. Además, se han usado anticuerpos monoclonales, como pembrolizumab y nivolumab, para el tratamiento de estos tumores, con resultados favorables a su uso (39).

De forma general, se ha visto que el melanoma uveal expresa tanto PD-1 como PD-L1 escasamente, y en menor medida que la mayoría de los cánceres (33). Se ha observado aproximadamente en el 5-10% de los MU (41-44); únicamente los autores Zoroquiain et al. encuentran una proporción mayor de MU PD-L1+ (40-50%) (40). Respecto al conjunto de subtipos de melanomas, el melanoma uveal ha sido el que ha mostrado menor proporción de expresión de PD-L1 (apareció en el 10% de los tumores), significativamente menor que los distintos melanomas cutáneos: melanoma por daño solar crónico (62%), melanoma mucoso (44%) y melanoma acral (31%) (43,44).

La limitada expresión de PD-L1 en el melanoma uveal se podría explicar de varias formas. En primer lugar, hay que tener en cuenta el hecho de que el ojo es un órgano inmunoprivilegiado, lo que quiere decir que posee mecanismos para disminuir la inflamación a nivel local, entre los que destacan la enzima indolamina-2,3-dioxigenasa (IDO) (15,31). Esta característica podría influir en la capacidad de generar linfocitos en respuesta a la aparición del tumor, tanto contra el MU primario como contra las metástasis. Se ha visto que en las metástasis hepáticas del MU los linfocitos T no infiltran el tumor, lo que impide la presentación de antígenos y la consecuente respuesta inmune (15), hecho que podría estar relacionado con el característico inmunoprivilegio ocular. Hay que tener en cuenta que en el melanoma uveal la presencia de infiltrado linfocitario se asocia a peor pronóstico y menor supervivencia (3).

En segundo lugar, hay que recalcar también que el MU es un tumor cuya carga genética es particularmente simple, fundamentalmente constituida por deleciones, ganancias y aneuploidías (15). La escasa carga genética genera pocos epítomos nuevos para que el sistema inmune reconozca al tumor, lo que, sumado al privilegio inmune inherente al globo ocular, implica que el paciente apenas desarrolle respuesta antitumoral, y por ello el tumor no aumentaría la expresión de PD-L1 (15). Además, las principales mutaciones genéticas o bien no se ha encontrado correlación con la supervivencia, como es el caso de GNAQ/GNA11, o bien se relacionan con buen pronóstico, como SF3B1 y EIF1AX, o bien tienen que coexistir con otras alteraciones para ser factor indicativo de mal pronóstico, como es el caso de BAP1 y su relación con la monosomía del cromosoma 3 (18,21).

En los estudios considerados para esta revisión bibliográfica se ha encontrado expresión de PD-L1 en las células tumorales del melanoma uveal en proporciones variables, pero en general no es un hallazgo abundante. Los autores Zoroquiain et al. encontraron expresión en el 46% de los casos (40). Sin embargo, el resto de autores observaron la expresión de PD-L1 en una proporción bastante menor; Qin et al. hallaron positividad en el 14% de sus muestras (41), Javed et al. en el 5.1% (43), Rossi et al. en el 7.1% de las biopsias de MU primario y en

el 10% de las biopsias de MUM (42), y Kaunitz et al. en el 10% (44). Curiosamente, en el estudio de Zoroquiain et al. la expresión fue más prevalente en aquellos sin MUM (50%) que en aquellos con MUM (40%) (40), aunque Rossi et al. encontraron proporciones más similares en ambos grupos (42).

Aspectos que limitan el análisis conjunto de estos 5 estudios son, en primer lugar, el uso de distintos anticuerpos para la detección de la expresión de PD-L1 mediante métodos inmunohistoquímicos. En dos estudios se usó el clon E1L3N (40,41), y en los otros tres estudios se usaron los clones 5H1 (44), 22C3 (42) y SP142 (43). A pesar de que Qin et al. y Zoroquiain et al. usaron el mismo clon anti-PD-L1, las proporciones de positividad halladas no son similares en ambos (14% frente a 46%), hecho que podría ser debido a la diferencia en el tamaño muestral entre ambos estudios (40,41).

Otro aspecto a tener en cuenta es el umbral de positividad para PD-L1. En la mayoría de los estudios se usa como punto de corte 5% (40,42-44); solo en el estudio de Qin et al. se usa 1% (41), aunque esto no varió en gran medida los hallazgos. Además, la positividad inmunohistoquímica para PD-L1 en algunos estudios exigía tinción de la membrana celular (43,44), mientras que en otros se admitía tinción tanto en citoplasma como en membranas (40,42), lo que podría variar la frecuencia de positividad. Asimismo, es importante el hecho de que la glicosilación de PD-L1 puede distorsionar la lectura mediante inmunohistoquímica, puesto que impide la unión de los anticuerpos (28). Otro factor a considerar en la expresión de PD-L1 es la molécula CD80, que se ha comprobado que reduce la expresión constitutiva de PD-L1 en la membrana de las células tumorales, aunque no bloquea la producción, pues se ha encontrado ARN mensajero y transcrito intracelular (67). CD80 también inhibe la expresión potenciada mediante IFN- γ , es decir, la expresión adaptativa de PD-L1 (67). Esta regulación de PD-L1 permite restaurar la actividad de los linfocitos T (67).

Es también relevante el método de obtención de la biopsia tumoral, tanto en el caso del tumor primario como de las metástasis. Las muestras obtenidas mediante enucleación o cirugía de las metástasis permiten un análisis más representativo que la extracción mediante otros métodos (PAAF, biopsia retinal transcoroidal o biopsia con fórceps Essen), con los que se podrían obtener falsos negativos.

Asimismo, hay que tener en consideración el número de sujetos participantes en los estudios de esta revisión. En 2 de los estudios (41,42) es muy limitado (se analizaron 7 y 24 muestras, respectivamente); los otros tres estudios tienen mayor tamaño muestral, pero se muestra diversidad en los hallazgos de PD-L1+ (40,43,44). Se dificulta la extrapolación de resultados debido a que el limitado tamaño muestral ofrece individuos que pueden ser distintos entre sí.

En varios estudios se ha observado la correlación entre la expresión de PD-L1 y el infiltrado inflamatorio, aunque los hallazgos son contradictorios. Zoroquiain et al. observaron relación estadísticamente significativa entre PD-L1 y la presencia de menor grado de TILs en el tumor (40), ya observado previamente (38), hecho contrario a lo que ocurre en otros tumores sólidos (3,14). Sin embargo, Kaunitz et al. constatan en su estudio la correlación entre todos los subtipos de melanoma y el grado de TILs de forma positiva (44). En otros estudios se ha comprobado la relación entre la expresión de PD-1 y el infiltrado inmune del tumor (células NK, linfocitos T y linaje monocítico, entre otros) (33,38).

La expresión de PD-L1 puede ser constitutiva (microambiente tipo III, PD-L1+, TILs-) o adaptativa (microambiente tipo I, PD-L1+, TILs+). De forma no patológica, se ha encontrado expresión constitutiva en diversas estructuras oculares, como la córnea, el iris, el cuerpo ciliar o el epitelio pigmentario de la retina (31). En cuanto a su expresión en el melanoma uveal, se ha encontrado que ocurre asimismo de forma constitutiva en la mayoría de los casos (31,40).

Los autores Kaunitz et al., en cambio, encuentran en su estudio predominancia de expresión de tipo adaptativo (44). En diversos estudios se ha visto que la expresión de PD-L1 en el melanoma uveal se incrementa con la presencia de IFN- γ (31,44), lo que constituiría expresión adaptativa.

También se ha observado que el resultado de la interacción entre las células tumorales PD-L1+ y los linfocitos T implica la disminución en la producción de factores, principalmente la IL-2 (31). Sin embargo, existen referencias en la literatura sobre la ausencia de implicación en el aumento de la apoptosis de las células inmunes tipo T (34).

En lo referente a la relación de la vía PD-1/PD-L1 con el pronóstico del melanoma uveal, se han encontrado resultados opuestos al revisar la literatura. En uno de los estudios utilizados en esta revisión se observa relación significativa entre la expresión de PD-L1 y mejor pronóstico del tumor, aunque no de forma independiente de otros factores pronósticos, así como mayor tiempo de supervivencia libre de metástasis (40), al contrario de lo que sucede en otros tumores sólidos, como pueden ser los cánceres de mama, renal, urotelial y gástrico (39). No obstante, otros autores lo han relacionado inversamente con la supervivencia global y el tiempo de supervivencia libre de progresión, y también con el grosor del tumor, que constituye factor de mal pronóstico por sí solo (1,68).

En este trabajo también se ha revisado el uso de inhibidores de puntos de control inmune contra la vía PD-1/PD-L1 en el melanoma uveal, puesto que la inmunoterapia es una de las modalidades emergentes de este tumor. En casi ninguno de los ensayos se refiere haber estudiado la expresión de PD-1 y PD-L1 en los tumores, ni las características del microambiente, lo que hace surgir la duda de si los resultados habrían sido los mismos si solo se hubiesen incluido resultados positivos, o realmente no hay diferencias significativas en la respuesta entre pacientes PD-L1- y pacientes PD-L1+.

Se han estudiado principalmente pembrolizumab y nivolumab, anticuerpos anti-PD-1, a dos de 2 mg/kg y 3 mg/kg, respectivamente, en los ensayos en monoterapia, y se han realizado también estudios administrándolos en combinación con ipilimumab. Solo en dos de los estudios se utilizan fármacos anti-PD-L1, atezolizumab (51) y avelumab (45), en un número muy reducido de pacientes (2 y 16, respectivamente). La mayoría de los ensayos se realizan en pacientes que anteriormente recibieron otros tratamientos sistémicos para el MUM, existen pocos datos sobre el uso de anti-PD-1 como terapia de primera línea a este nivel (42,47). La mayoría de los ensayos son de fase II, y se evalúan la eficacia y los efectos adversos, por lo que el número de pacientes es limitado, hecho que aumenta la heterogeneidad de los estudios.

Los resultados de los estudios de momento no son muy prometedores: no se observan respuestas objetivas en la mayoría de los casos. Si bien en la mayoría de los estudios se registra al menos un paciente con respuesta parcial, solo en cuatro pacientes del total de los 23 estudios se ha visto respuesta completa a los fármacos, 2 de ellas con pembrolizumab (53,59) y las otras 2 en pacientes tratados con combinación de anti-PD-1 e ipilimumab. Sin embargo, en la literatura también se han encontrado publicaciones en las que se refieren pacientes con metástasis en varios órganos que exhibieron una respuesta excelente a estos fármacos (69).

Debido al pequeño tamaño muestral de los estudios, en muchos de ellos no se alcanza el tiempo libre de progresión o el tiempo de supervivencia global, lo que dificulta la comparación. La mayoría de los ensayos sitúa el tiempo libre de progresión entre 2 y 4 meses, aunque algunos estudios han alcanzado un tiempo superior. Pelster et al. refieren en su trabajo un tiempo libre de progresión de aproximadamente 6 meses (26 semanas) (58), y Johnson et al. refieren un tiempo de 11 meses (59). Se debe tener en cuenta que en el estudio de Johnson et al. participaron solo 5 pacientes, y 1 de ellos presentó respuesta completa, lo que podría

sobreestimar el tiempo libre de progresión, y no mencionan la dosis de pembrolizumab administrada a los pacientes (59). Sin embargo, estudios como el de Piulats et al. o el de Heppt et al., que utilizan las mismas dosis de nivolumab e ipilimumab que Pelster et al., y en un número mayor de pacientes, si bien encuentran un número similar de respuestas parciales, el tiempo libre de progresión del tumor se aproxima a lo encontrado por la mayoría de autores (47,55).

En cuanto al tiempo de supervivencia global, los resultados hallados por los diferentes autores son más variados. Lo más frecuente es que esté entre los 10 y los 14 meses. Algunos estudios refieren un tiempo de supervivencia global bastante inferior (51,52), y otros llegan a alcanzar el año y medio de supervivencia global (58,60,66). Hay que recordar que los estudios son muy heterogéneos debido a que tienen un tamaño muestral pequeño.

Es también relevante la comparación entre el uso actual de ICIs con la quimioterapia, forma principal de tratamiento en el melanoma uveal metastásico antes de la introducción de los anticuerpos monoclonales. Mignard et al. hallaron mayor supervivencia global (13.38 frente a 11.02 meses) y ratio de supervivencia al año (52.5% frente a 44.3%) en los pacientes tratados con inmunoterapia (61). Los autores Bol et al. comparten este hallazgo, aun cuando los tiempos y ratios hallados por este grupo son inferiores (66). Bol et al. dividen su recogida de datos en dos intervalos de tiempo para comparar pacientes tratados antes y después de la introducción de los anti-PD-1, en lo que denomina las eras pre-ICI y post-ICI (66); observan que tanto el tiempo libre de progresión del tumor (3.5 meses frente a 2.5 meses), como la supervivencia global (10 meses frente a 7.8 meses) y el ratio de supervivencia al año (41.9% frente a 25%) son mayores en la segunda era (66). Sin embargo, Rantala et al. no hallaron evidencia de mayor tiempo de supervivencia global significativo para ninguno de los tratamientos utilizados en melanoma uveal metastásico (quimioterapia convencional o combinada con inmunoterapia, TACE, ICIs, inmuoembolización, inmunosupresión, etc.), y atribuyen las diferencias de supervivencia de los estudios de su metaanálisis a sesgos como el estado general del paciente, lugar y detección de metástasis, vigilancia, selección y publicación, entre otros (23).

Entre las causas potenciales de la limitada eficacia encontrada de los anti-PD-1 se podrían encontrar las siguientes. En primer lugar, se debe tener en cuenta la cantidad de expresión de PD-L1 en el tumor, que en el MU suele ser escasa (43,44). Esta relación entre cantidad de PD-L1 y respuesta a anticuerpos monoclonales ha sido propuesta previamente en tumores como el melanoma o el carcinoma de pulmón de células no pequeñas (29). Para este punto puede ser relevante también la cuantía de la expresión de CD80, mencionada anteriormente, puesto que esta regula a su vez la expresión de PD-L1 (67).

En segundo lugar, se debe considerar la importancia del análisis del microambiente y del tipo de expresión de PD-L1 (constitutiva o adaptativa), puesto que se ha comprobado que el microambiente de tipo I (expresión adaptativa) responde mejor al uso de ICIs en monoterapia que los tipos II a IV (30), y en el melanoma uveal se han observado tanto expresión constitutiva (40) como adaptativa (44).

En tercer lugar, se debe valorar la hipótesis de los autores Durante et al., que sitúan a LAG3 como el *checkpoint* inmune principal en el melanoma uveal, con lo que el uso de inmunoterapia a este nivel podría resultar más eficaz que el uso de anti-PD-1 (32).

En resumen, con esta revisión bibliográfica se ha pretendido profundizar en el estudio de la vía PD-1/PD-L1, más concretamente de PD-L1, en el melanoma uveal, dado que este tumor tiene un pronóstico particularmente desfavorable, y las opciones disponibles para su tratamiento no han resultado ser efectivas. No obstante, se han hallado limitaciones a la hora de establecer conclusiones, debido al escaso número de estudios, a la heterogeneidad de los

mismos y el pequeño tamaño de las series, por tratarse de un tumor infrecuente. Son necesarios ensayos clínicos de mayor tamaño muestral para establecer con certeza la eficacia y la seguridad del uso de los anticuerpos anti-PD-1 y anti-PD-L1. PD-L1 aún podría ser utilizada como diana terapéutica en los pacientes con melanoma uveal, especialmente aquellos con enfermedad metastásica avanzada, pero sería preciso considerar el estudio del microambiente y del umbral de positividad para PD-L1 con el objetivo de establecer el grupo de pacientes que obtendrían mayor beneficio del tratamiento con esta modalidad de inmunoterapia.

6. Conclusiones.

1. El melanoma uveal expresa PD-L1 entre el 5% y el 50% de los casos, pero esta expresión en unos casos es adaptativa (PD-L1+/TILs+) y en otros, constitutiva (PD-L1+/TILs-).

2. Las variaciones en la proporción de casos PD-L1+ entre los estudios pueden atribuirse al tamaño muestral, al uso de diferentes anticuerpos para la detección de PD-L1, y a las distintas exigencias de tinción (membrana, citoplasma, o ambas).

3. El melanoma uveal también expresa PD-1 en la mayoría de los casos, aunque esta expresión se ha estudiado menos. Las variaciones entre los resultados encontrados pueden atribuirse al tamaño muestral, al uso de diferentes anticuerpos para su detección, y a la forma de expresar el resultado (PD-1+ en área o porcentaje umbral).

4. Se han encontrado estudios que relacionan PD-L1 con el pronóstico del melanoma uveal, si bien no como factor independiente.

5. Se ha observado que la vía PD-1/PD-L1 correlaciona con el pronóstico teniendo en cuenta el microambiente del melanoma uveal. El microambiente tipo I (expresión adaptativa) se relaciona con menor supervivencia; de forma opuesta, el microambiente tipo III (expresión constitutiva) se relaciona con mejor pronóstico del tumor.

6. El uso de anticuerpos anti-PD-1 y anti-PD-L1 no ha proporcionado muchas respuestas objetivas; sin embargo, mejoran la supervivencia global frente a la quimioterapia tradicional, aunque no se ha hallado significación estadística para esta diferencia. La heterogeneidad de los resultados de los estudios se puede atribuir al pequeño tamaño de las series, al escaso número de estudios y a la falta de análisis de la expresión de la vía PD-1/PD-L1 en los pacientes tratados.

7. Referencias.

- (1) Shields CL, Kaliki S, Furuta M, Mashayekhi A, Shields JA. Clinical spectrum and prognosis of uveal melanoma based on age at presentation in 8,033 cases. *Retina* (Philadelphia, Pa) 2012 Jul;32(7):1363-1372.
- (2) Edge SB, Compton CC. The American Joint Committee on Cancer: the 7th edition of the AJCC cancer staging manual and the future of TNM. *Ann Surg Oncol* 2010 Jun;17(6):1471-1474.
- (3) Berus T, Halon A, Markiewicz A, Orłowska-Heitzman J, Romanowska-Dixon B, Donizy P. Clinical, Histopathological and Cytogenetic Prognosticators in Uveal Melanoma - A Comprehensive Review. *Anticancer Res* 2017 12;37(12):6541-6549.
- (4) Singh AD, Topham A. Incidence of uveal melanoma in the United States: 1973-1997. *Ophthalmology* 2003 May;110(5):956-961.
- (5) Virgili G, Gatta G, Ciccolallo L, Capocaccia R, Biggeri A, Crocetti E, et al. Incidence of uveal melanoma in Europe. *Ophthalmology* 2007 Dec;114(12):2309-2315.
- (6) Bononi I, Mazzoni E, Pietrobon S, Torreggiani E, Rossini M, Violanti S, et al. High prevalence of serum IgG antibodies reacting to specific mimotopes of BK polyomavirus, a human oncogenic polyomavirus, in patients affected by uveal melanoma. *J Cell Physiol* 2018 12;233(12):9052-9059.
- (7) PDQ Adult Treatment Editorial Board. Intraocular (Uveal) Melanoma Treatment (PDQ®): Health Professional Version. PDQ Cancer Information Summaries Bethesda (MD): National Cancer Institute (US); 2002.
- (8) Damato B. Detection of uveal melanoma by optometrists in the United Kingdom. *Ophthalmic and Physiological Optics* 2001;21(4):268-271.
- (9) Tarlan B, Kiratlı H. Uveal Melanoma: Current Trends in Diagnosis and Management. *Turk J Ophthalmol* 2016 Jun;46(3):123-137.
- (10) Frizziero L, Midena E, Trainiti S, Londei D, Bonaldi L, Bini S, et al. Uveal Melanoma Biopsy: A Review. *Cancers* (Basel) 2019 -7-30;11(8).
- (11) McLean IW, Foster WD, Zimmerman LE, Gamel JW. Modifications of Callender's classification of uveal melanoma at the Armed Forces Institute of Pathology. *Am J Ophthalmol* 1983 Oct;96(4):502-509.
- (12) Bronkhorst IHG, Vu THK, Jordanova ES, Luyten GPM, Burg, Sjoerd H. van der, Jager MJ. Different Subsets of Tumor-Infiltrating Lymphocytes Correlate with Macrophage Influx

and Monosomy 3 in Uveal Melanoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2012 /08/01;53(9):5370-5378.

(13) Shields CL, Furuta M, Thangappan A, Nagori S, Mashayekhi A, Lally DR, et al. Metastasis of uveal melanoma millimeter-by-millimeter in 8033 consecutive eyes. *Arch Ophthalmol* 2009 Aug;127(8):989-998.

(14) Wimberly H, Brown JR, Schalper K, Haack H, Silver MR, Nixon C, et al. PD-L1 expression correlates with tumor-infiltrating lymphocytes and response to neoadjuvant chemotherapy in breast cancer. *Cancer Immunol Res* 2015 -4;3(4):326-332.

(15) Wessely A, Steeb T, Erdmann M, Heinzerling L, Vera J, Schlaak M, et al. The Role of Immune Checkpoint Blockade in Uveal Melanoma. *Int J Mol Sci* 2020 Jan 29;;21(3).

(16) Mäkitie T, Summanen P, Tarkkanen A, Kivelä T. Tumor-Infiltrating Macrophages (CD68+ Cells) and Prognosis in Malignant Uveal Melanoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2001 /06/01;42(7):1414-1421.

(17) Damato B, Duke C, Coupland SE, Hiscott P, Smith PA, Campbell I, et al. Cytogenetics of uveal melanoma: a 7-year clinical experience. *Ophthalmology* 2007 Oct;114(10):1925-1931.

(18) Dogrusöz M, Jager MJ. Genetic prognostication in uveal melanoma. *Acta Ophthalmol* 2018 Jun;96(4):331-347.

(19) Ehlers JP, Worley L, Onken MD, Harbour JW. Integrative genomic analysis of aneuploidy in uveal melanoma. *Clin Cancer Res* 2008 Jan 01;;14(1):115-122.

(20) Cunha Rola A, Taktak A, Eleuteri A, Kalirai H, Heimann H, Hussain R, et al. Multicenter External Validation of the Liverpool Uveal Melanoma Prognosticator Online: An OOG Collaborative Study. *Cancers (Basel)* 2020 -2-18;12(2).

(21) Amaro A, Gangemi R, Piaggio F, Angelini G, Barisione G, Ferrini S, et al. The biology of uveal melanoma. *Cancer Metastasis Rev* 2017;36(1):109-140.

(22) Shields CL, Furuta M, Berman EL, Zahler JD, Hoberman DM, Dinh DH, et al. Choroidal nevus transformation into melanoma: analysis of 2514 consecutive cases. *Arch Ophthalmol* 2009 Aug;127(8):981-987.

(23) Rantala ES, Hernberg M, Kivelä TT. Overall survival after treatment for metastatic uveal melanoma: a systematic review and meta-analysis. *Melanoma Res* 2019 12;29(6):561-568.

(24) Yang J, Manson DK, Marr BP, Carvajal RD. Treatment of uveal melanoma: where are we now? *Ther Adv Med Oncol* 2018;10:1758834018757175.

(25) Gezgin G, Luk SJ, Cao J, Dogrusöz M, van der Steen, Dirk M., Hagedoorn RS, et al. PRAME as a Potential Target for Immunotherapy in Metastatic Uveal Melanoma. *JAMA Ophthalmol* 2017 -6-01;135(6):541-549.

- (26) Karwacz K, Bricogne C, MacDonald D, Arce F, Bennett CL, Collins M, et al. PD-L1 co-stimulation contributes to ligand-induced T cell receptor down-modulation on CD8+ T cells. *EMBO Mol Med* 2011 Oct;3(10):581-592.
- (27) Bai J, Gao Z, Li X, Dong L, Han W, Nie J. Regulation of PD-1/PD-L1 pathway and resistance to PD-1/PD-L1 blockade. *Oncotarget* 2017 -11-25;8(66):110693-110707.
- (28) Qin W, Hu L, Zhang X, Jiang S, Li J, Zhang Z, et al. The Diverse Function of PD-1/PD-L Pathway Beyond Cancer. *Front Immunol* 2019 -10-04;10.
- (29) Topalian SL, Hodi FS, Brahmer JR, Gettinger SN, Smith DC, McDermott DF, et al. Safety, activity, and immune correlates of anti-PD-1 antibody in cancer. *N Engl J Med* 2012 Jun 28;366(26):2443-2454.
- (30) Teng MWL, Ngiow SF, Ribas A, Smyth MJ. Classifying Cancers Based on T-cell Infiltration and PD-L1. *Cancer Res* 2015 Jun 01;75(11):2139-2145.
- (31) Niederkorn JY. Immune escape mechanisms of intraocular tumors. *Prog Retin Eye Res* 2009 Sep;28(5):329-347.
- (32) Durante MA, Rodriguez DA, Kurtenbach S, Kuznetsov JN, Sanchez MI, Decatur CL, et al. Single-cell analysis reveals new evolutionary complexity in uveal melanoma. *Nature Communications* 2020;11(1):496.
- (33) Shang J, Song Q, Yang Z, Sun X, Xue M, Chen W, et al. Analysis of PD-1 related immune transcriptional profile in different cancer types. *Cancer Cell Int* 2018;18:218.
- (34) Jia R, Jiao Z, Xu X, Wang J, Zhou Y, Song X, et al. Functional significance of B7-H1 expressed by human uveal melanoma cells. *Molecular Medicine Reports* 2011 -01-01;4(1):163-165.
- (35) Rimoldi D, Salvi S, Liénard D, Lejeune FJ, Speiser D, Zografos L, et al. Lack of BRAF mutations in uveal melanoma. *Cancer Res* 2003 Sep 15;63(18):5712-5715.
- (36) Piulats Rodriguez JM, Ochoa de Olza M, Codes M, Lopez-Martin J, Berrocal A, García M, et al. Phase II study evaluating ipilimumab as a single agent in the first-line treatment of adult patients (Pts) with metastatic uveal melanoma (MUM): The GEM-1 trial. *JCO* 2014;32(15):9033.
- (37) Pühr HC, Ilhan-Mutlu A. New emerging targets in cancer immunotherapy: the role of LAG3. *ESMO Open* 2019 -3-12;4(2).
- (38) Triozzi PL, Schoenfield L, Plesec T, Sauntharajah Y, Tubbs RR, Singh AD. Molecular profiling of primary uveal melanomas with tumor-infiltrating lymphocytes. *Oncoimmunology* 2014 -10-31;8(10).
- (39) Wang Q, Liu F, Liu L. Prognostic significance of PD-L1 in solid tumor: An updated meta-analysis. *Medicine (Baltimore)* 2017 May;96(18):e6369.

- (40) Zoroquiain P, Esposito E, Logan P, Aldrees S, Dias AB, Mansure JJ, et al. Programmed cell death ligand-1 expression in tumor and immune cells is associated with better patient outcome and decreased tumor-infiltrating lymphocytes in uveal melanoma. *Mod Pathol* 2018 08;31(8):1201-1210.
- (41) Qin Y, Petaccia de Macedo M, Reuben A, Forget M, Haymaker C, Bernatchez C, et al. Parallel profiling of immune infiltrate subsets in uveal melanoma versus cutaneous melanoma unveils similarities and differences: A pilot study. *Oncoimmunology* 2017;6(6):e1321187.
- (42) Rossi E, Pagliara MM, Orteschi D, Dosa T, Sammarco MG, Caputo CG, et al. Pembrolizumab as first-line treatment for metastatic uveal melanoma. *Cancer Immunol Immunother* 2019;68(7):1179-1185.
- (43) Javed A, Arguello D, Johnston C, Gatalica Z, Terai M, Weight RM, et al. PD-L1 expression in tumor metastasis is different between uveal melanoma and cutaneous melanoma. *Immunotherapy* 2017 12;9(16):1323-1330.
- (44) Kaunitz GJ, Cottrell TR, Lilo M, Muthappan V, Esandrio J, Berry S, et al. Melanoma subtypes demonstrate distinct PD-L1 expression profiles. *Lab Invest* 2017 09;97(9):1063-1071.
- (45) Keilholz U, Mehnert JM, Bauer S, Bourgeois H, Patel MR, Gravenor D, et al. Avelumab in patients with previously treated metastatic melanoma: phase 1b results from the JAVELIN Solid Tumor trial. *J Immunother Cancer* 2019 01 16;7(1):12.
- (46) Schank TE, Hassel JC. Immunotherapies for the Treatment of Uveal Melanoma-History and Future. *Cancers (Basel)* 2019 Jul 24;11(8).
- (47) Piulats Rodriguez JM, De La Cruz Merino, L., Espinosa E, Alonso Carrión L, Martin Algarra S, López-Castro R, et al. 1247PD - Phase II multicenter, single arm, open label study of nivolumab in combination with ipilimumab in untreated patients with metastatic uveal melanoma (GEM1402.NCT02626962). *Annals of Oncology* 2018 October 1;29:viii443.
- (48) Shoushtari AN, Navid-Azarbaijani P, Friedman CF, Panageas K, Postow MA, Callahan MK, et al. Efficacy of nivolumab and ipilimumab (Nivo + Ipi) combination in melanoma patients (pts) treated at a single institution on an expanded-access program (EAP). *JCO* 2016;34(15):9554.
- (49) Karydis I, Chan PY, Wheeler M, Arriola E, Szlosarek PW, Ottensmeier CH. Clinical activity and safety of Pembrolizumab in Ipilimumab pre-treated patients with uveal melanoma. *Oncoimmunology* 2016 May;5(5):e1143997.
- (50) Schadendorf D, Ascierto PA, Haanen, John B. A. G., Espinosa E, Demidov LV, Garbe C, et al. Efficacy and safety of nivolumab (NIVO) in patients with advanced melanoma (MEL) and poor prognostic factors who progressed on or after ipilimumab (IPI): Results from a phase II study (CheckMate 172). *JCO* 2017;35(15):9524.

- (51) Algazi AP, Tsai KK, Shoushtari AN, Munhoz RR, Eroglu Z, Piulats JM, et al. Clinical outcomes in metastatic uveal melanoma treated with PD-1 and PD-L1 antibodies. *Cancer* 2016 Nov 15;122(21):3344-3353.
- (52) Bender C, Enk A, Gutzmer R, Hassel JC. Anti-PD-1 antibodies in metastatic uveal melanoma: a treatment option? *Cancer Med* 2017 -6-21;6(7):1581-1586.
- (53) Kottschade LA, McWilliams RR, Markovic SN, Block MS, Villasboas Bisneto J, Pham AQ, et al. The use of pembrolizumab for the treatment of metastatic uveal melanoma. *Melanoma Res* 2016 06;26(3):300-303.
- (54) Heppt MV, Heinzerling L, Kähler KC, Forschner A, Kirchberger MC, Loquai C, et al. Prognostic factors and outcomes in metastatic uveal melanoma treated with programmed cell death-1 or combined PD-1/cytotoxic T-lymphocyte antigen-4 inhibition. *Eur J Cancer* 2017 09;82:56-65.
- (55) Heppt MV, Amaral T, Kähler KC, Heinzerling L, Hassel JC, Meissner M, et al. Combined immune checkpoint blockade for metastatic uveal melanoma: a retrospective, multi-center study. *J Immunother Cancer* 2019 Nov 13;7(1):299.
- (56) Karivedu V, Eldessouki I, Taftaf A, Zhu Z, Makramalla A, Karim NA. Nivolumab and Ipilimumab in the Treatment of Metastatic Uveal Melanoma: A Single-Center Experience. *Case Rep Oncol Med* 2019 -4-17;2019.
- (57) Namikawa K, Takahashi A, Mori T, Tsutsumida A, Suzuki S, Motoi N, et al. Nivolumab for patients with metastatic uveal melanoma previously untreated with ipilimumab: a single-institution retrospective study. *Melanoma Res* 2020 Feb;30(1):76-84.
- (58) Pelster M, Gruschkus SK, Bassett R, Gombos DS, Shephard M, Posada L, et al. Phase II study of ipilimumab and nivolumab (ipi/nivo) in metastatic uveal melanoma (UM). *JCO* 2019;37(15):9522.
- (59) Johnson DB, Bao R, Ancell KK, Daniels AB, Wallace D, Sosman JA, et al. Response to Anti-PD-1 in Uveal Melanoma Without High-Volume Liver Metastasis. *J Natl Compr Canc Netw* 2019 02;17(2):114-117.
- (60) Kirchberger MC, Moreira A, Erdmann M, Schuler G, Heinzerling L. Real world experience in low-dose ipilimumab in combination with PD-1 blockade in advanced melanoma patients. *Oncotarget* 2018 -6-22;9(48):28903-28909.
- (61) Mignard C, Deschamps Huvier A, Gillibert A, Duval Modeste AB, Dutriaux C, Khammari A, et al. Efficacy of Immunotherapy in Patients with Metastatic Mucosal or Uveal Melanoma. *J Oncol* 2018 -12-2;2018.
- (62) Jochems A, van der Kooij, Monique K., Fiocco M, Schouwenburg MG, Aarts MJ, van Akkooi AC, et al. Metastatic Uveal Melanoma: Treatment Strategies and Survival-Results from the Dutch Melanoma Treatment Registry. *Cancers (Basel)* 2019 Jul 18;11(7).

- (63) van der Kooij, M. K., Joosse A, Speetjens FM, Hospers GaP, Bisschop C, de Groot, J. W. B., et al. Anti-PD1 treatment in metastatic uveal melanoma in the Netherlands. *Acta Oncol* 2017 Jan;56(1):101-103.
- (64) Piperno-Neumann S, Servois V, Mariani P, Cassoux N, Barnhill R, Rodrigues MJ. Activity of anti-PD1 drugs in uveal melanoma patients. *JCO* 2016;34(15):9588.
- (65) Tian L, Ding F, Sander C, Rose A, Pruckner C, Wilson M, et al. PD-1 blockade to treat mucosal and uveal melanoma: The University of Pittsburgh experience. *JCO* 2016;34(15):e21042.
- (66) Bol KF, Ellebaek E, Hoejberg L, Bagger MM, Larsen MS, Klausen TW, et al. Real-World Impact of Immune Checkpoint Inhibitors in Metastatic Uveal Melanoma. *Cancers (Basel)* 2019 Oct 03;11(10).
- (67) Haile ST, Bosch JJ, Agu NI, Zeender AM, Somasundaram P, Srivastava MK, et al. Tumor cell programmed death ligand 1-mediated T cell suppression is overcome by coexpression of CD80. *J Immunol* 2011 Jun 15;186(12):6822-6829.
- (68) Basile MS, Mazzon E, Russo A, Mammana S, Longo A, Bonfiglio V, et al. Differential modulation and prognostic values of immune-escape genes in uveal melanoma. *PLoS One* 2019 -1-17;14(1).
- (69) Rodrigues M, Mobuchon L, Houy A, Fiévet A, Gardrat S, Barnhill RL, et al. Outlier response to anti-PD1 in uveal melanoma reveals germline MBD4 mutations in hypermutated tumors. *Nat Commun* 2018 05 14;9(1):1866.