

PREDICCIÓN DEL DAÑO RENAL ASOCIADO A LOS INHIBIDORES DEL PUNTO DE CONTROL INMUNITARIO EN PACIENTES ONCOLÓGICOS

Prediction of Immune Checkpoint Inhibitors-Associated Renal Damage in Oncology Patients

Javier GONZÁLEZ; Javier TASCÓN; Alfredo G. CASANOVA; Laura VICENTE-VICENTE; Ana I. MORALES; Marta PRIETO*

Área de Toxicología. Departamento de Fisiología y Farmacología. Universidad de Salamanca. Campus Miguel de Unamuno. 37007 Salamanca. España

*Correo-e: martapv@usal.es

RESUMEN: En las últimas décadas, los inhibidores del punto de control inmunitario (ICIs) han revolucionado el tratamiento del cáncer, aunque su eficacia se ve afectada por efectos adversos como la nefrotoxicidad, impactando negativamente el pronóstico. Nuestra hipótesis sugiere que los ICIs podrían producir daño renal subclínico, no evidenciado por pruebas clínicas habituales. El objetivo del trabajo fue estudiar la aplicación de biomarcadores urinarios en el diagnóstico temprano del daño renal asociado a los ICIs. Se realizó un estudio prospectivo en el que se reclutaron pacientes tratados con ICIs o con terapia combinada ICIs/quimioterapia. Se realizó un seguimiento de los pacientes durante 12 ciclos de tratamiento y se recogieron muestras de orina antes de iniciar el tratamiento, así como antes y después del tercer ciclo. Los pacientes se clasificaron en “casos” (si durante el tratamiento desarrollaban daño renal, según criterio KDIGO y/o aparecían alteraciones electrolíticas compatibles con el tratamiento con ICIs) y “controles” (pacientes sin daño renal durante el estudio). Se determinaron los biomarcadores A, B, C, D y E mediante la técnica de ELISA. Nuestros resultados evidenciaron una excreción significativa de A y B antes de recibir el tercer ciclo en los casos respecto a los controles.

Además, se observó una tendencia de mayor excreción de C y D, incluso antes de recibir la terapia. Por tanto, estos biomarcadores podrían predecir el daño renal producido por los ICIs permitiendo un manejo preventivo y personalizado del paciente.

Palabras clave: biomarcadores urinarios; diagnóstico; inhibidores del punto de control inmunitario (ICIs); nefrotoxicidad; riesgo; quimioterapia.

ABSTRACT: In recent decades, immune checkpoint inhibitors (ICIs) have revolutionized cancer treatment, although their efficacy is affected by adverse effects such as nephrotoxicity, negatively impacting prognosis. Our hypothesis suggests that ICIs could produce subclinical renal damage, not evidenced by usual clinical tests. The aim of this work was to study the application of urinary biomarkers in the early diagnosis of renal damage associated with ICIs. A prospective study was carried out in which patients treated with ICIs or with combined ICIs/chemotherapy were enrolled. Patients were followed for 12 treatment cycles and urine samples were collected before starting treatment, as well as before and after the third cycle. Patients were classified into “cases” (if during treatment they developed renal damage, according to KDIGO criteria and/or electrolyte alterations compatible with treatment with ICIs appeared) and “controls” (patients without renal damage during the study). Biomarkers A, B, C, D and E were determined by ELISA. Our results showed a significant excretion of A and B before receiving the third cycle in cases compared to controls. In addition, a trend of increased excretion of C and D was observed, even before receiving therapy. Therefore, these biomarkers could predict the renal damage produced by ICIs allowing a preventive and personalized management of the patient.

Keywords: urinary biomarkers; diagnosis; immune checkpoint inhibitors (ICIs); nephrotoxicity; chemotherapy.

1. INTRODUCCIÓN

El tratamiento del cáncer ha experimentado grandes avances en las últimas décadas gracias a la inmunoterapia, cuyos agentes más ampliamente utilizados son los inhibidores del punto de control inmunitario (ICIs); los cuales potencian la inmunidad natural del organismo (Seidel *et al.*, 2018).

Los puntos de control inmunitario son receptores fundamentales en la limitación de la respuesta inmunitaria exacerbada, principalmente en células T y previene de la autoinmunidad del organismo bajo condiciones fisiológicas (Seidel *et al.*, 2018). Estos son; el antígeno 4 de linfocitos T citotóxicos (CTLA-4), la proteína 1 de muerte celular programada (PD-1) y su ligando PD-L1 (Bagchi *et al.*, 2021). Las células T CD4+ se activan por la interacción de los antígenos tumorales presentes en el complejo mayor de histocompatibilidad (MHC) en las células presentadoras de antígenos (Francis, Thomas, 2017). Esta activación está mediada, conjuntamente, por la interacción de los ligandos CD80/CD86 en la APC y CD28 en el TCR. CTLA-4 muestra mayor afinidad por CD80/86 en comparación con CD28, induciendo señales inhibitorias en la célula (Seidel *et al.*, 2018). Por otro lado, la señalización de PD-1 puede ser activada por la unión a su ligando PD-L1, expresado en la superficie de las células tumorales desencadenando una señalización inhibitoria (He, Xu, 2020). Sin embargo, las células tumorales han integrado mecanismos de evasión inmunitaria como la expresión de PD-1 o PD-L1 para seguir proliferando (de Francisco *et al.*, 2019).

Los ICIs son anticuerpos monoclonales, en su mayoría, inmunoglobulinas humanas o humanizadas. Su mecanismo de acción consiste en la interacción inhibitoria de los puntos de control, conduciendo a una activación linfocitaria y de la actividad antitumoral.

Los ICIs presentan grandes beneficios terapéuticos, aunque se suele asociar a su uso un número considerable de efectos adversos inmunomediados (EAI) (Poto *et al.*, 2022). Puede estar afectado casi cualquier órgano, siendo los EAI más frecuentes la erupción cutánea, diarrea, hepatitis, pancreatitis y tiroiditis, entre otros. El riñón es uno de los órganos afectados. Los estudios más recientes teorizan una incidencia de nefrotoxicidad del 13-29% (Miao *et al.*, 2022; Wanchoo *et al.*, 2017). La complicación más común es el daño renal agudo (DRA) (Rao *et al.*, 2023), consecuencia de una nefritis tubulointersticial aguda (NTIA) en el 90% de los casos (Herrmann, Perazella, 2020). Generalmente, el tiempo de aparición es de 2-3 meses tras iniciar el tratamiento (Wanchoo *et al.*, 2017). Además, se han identificado diversas lesiones glomerulares y alteraciones electrolíticas vinculadas a los ICIs, que afectan a la homeostasis iónica. La alteración más frecuente es la hiponatremia (Alonso *et al.*, 2023). El manejo clínico de la nefrotoxicidad implica la suspensión del tratamiento con ICIs, la administración de corticosteroides y descartar otras causas posibles (Rao *et al.*, 2023).

El diagnóstico está basado en los cambios en la concentración de creatinina sérica, que se utiliza para estadificar a los pacientes según los criterios KDIGO (Tinawi *et al.*, 2020) Sin embargo, para que este marcador se altere en plasma, tiene que producirse una disminución del 50% del filtrado glomerular. Para confirmar el diagnóstico, se requiere una biopsia renal, una técnica invasiva y no exenta de

complicaciones asociadas (Shingarev, Glezerman, 2019). Los marcadores diagnósticos actuales presentan limitaciones, son inespecíficos y únicamente indicativos del daño ya establecido.

En los últimos años, consecuencia de las limitaciones actuales en el diagnóstico, se están validando una batería de biomarcadores urinarios con potencial utilidad diagnóstica en el daño renal. Algunos marcadores en estudio son KIM-1 (molécula de daño renal 1) y NGAL (lipocalina asociada a la gelatinasa de neutrófilos) sensibles en DRA o TIMP-2 (inhibidor tisular de metaloproteinasas 2) involucrada en la remodelación del tejido extracelular, cuya elevación puede reflejar respuestas celulares al estrés o daño en el tejido renal. La presencia de albúmina en la orina sugiere daño glomerular, mientras que de transferrina puede indicar tanto daño tubular como glomerular (Seijas *et al.*, 2017). Otros ejemplos son RBP (Proteína de Unión al Retinol) o IGFBP-7 (Proteína de Unión al Factor de Crecimiento Similar a la Insulina 7).

2. HIPÓTESIS Y OBJETIVO

La nefrotoxicidad es uno de los efectos adversos asociados al tratamiento con ICI's cuyo diagnóstico presenta limitaciones significativas. En este contexto, es fundamental desarrollar nuevos enfoques diagnósticos que faciliten la detección precoz del daño. La hipótesis de investigación se centra en la existencia de un daño renal subclínico asociado al tratamiento con ICI's, no evidenciado con pruebas clínicas convencionales. La utilización de nuevos biomarcadores urinarios como herramienta diagnóstica permitiría detectar dicho daño renal subclínico y manejar a estos pacientes de manera preventiva y personalizada.

El objetivo de este estudio fue validar una serie de biomarcadores urinarios como herramientas diagnósticas para la detección temprana de daño renal asociado a los ICI's.

3. MATERIAL Y MÉTODOS

El estudio respeta las Buenas Prácticas Clínicas (BPC) y los principios éticos de la Declaración de Helsinki. Ha sido aprobado por el Comité Ético de los hospitales implicados. Todos los pacientes participaron voluntariamente y recibieron por escrito la información detallada; además de firmar los consentimientos informados.

Se realizó un estudio prospectivo de tipo casos y controles, en el que se reclutaron pacientes tratados con ICI's de Oncología Médica del Complejo Asistencial Universitario de Salamanca y del Hospital Clínico Universitario de Valladolid. El reclutamiento se realizó entre enero-2021 y diciembre-2023 con unos criterios de inclusión. Se recogieron muestras de orina de los pacientes en tres tiempos diferentes; Basal (previo a comenzar el tratamiento), Pre-3 (antes del tercer ciclo) y Post-3 (7 días después de administrar el tercer ciclo). La manipulación

y conservación de las muestras (-80 °C) tuvo lugar en el Biobanco del CAUSA o en el propio Servicio de Oncología del Hospital Universitario de Valladolid. Posteriormente, las muestras fueron enviadas al laboratorio de la Unidad de Tera-nóstica de Enfermedades Renales y Cardiovasculares del IBSAL, manteniendo la cadena de frío. En la “Hoja de datos del paciente” se recogieron los datos clínicos y antropométricos de cada paciente. A partir de las analíticas de los Servicios de Bioquímica, se recopiló la concentración plasmática de creatinina, electrolitos (sodio, potasio, calcio, magnesio) y la tasa de filtrado glomerular (TFG).

Los pacientes se clasificaron en dos grupos: casos y controles. Se consideraron “Casos” a aquellos pacientes que cumplieron durante los doce primeros ciclos, al menos, uno de los criterios siguientes:

- Un descenso de la TFG <60 ml/min/1,73 m².
- Incremento de creatinina plasmática de 1,5 veces [$\geq 0,3$ mg/dL] (según criterios KDIGO) con respecto al valor basal.
- ≥ 2 alteraciones electrolíticas compatibles con daño renal causado por ICIs. Tanto la hipermagnesemia como la hipernatremia no aplican al criterio, según bibliografía (Uppal *et al.*, 2022).

Por otro lado, se consideraron “Controles” a los pacientes que no cumplieron los criterios establecidos.

La determinación cuantitativa de los biomarcadores urinarios se llevó a cabo mediante la técnica de ELISA (*Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*) tipo sándwich. Una vez transcurridas las seis etapas de la técnica, se midió la absorbancia de cada muestra mediante espectrofotometría. Las concentraciones de los biomarcadores se calcularon interpolando los valores de absorbancia en una curva de cuatro parámetros generada con concentraciones conocidas de las proteínas estudiadas.

El ajuste por creatinina urinaria se realiza para normalizar la concentración de los biomarcadores estudiados en la orina, compensando las variaciones en la diuresis y otras diferencias fisiológicas entre individuos. Para su determinación se utilizó el método de Jaffé, que se fundamenta en la formación de un complejo de color rojo (complejo de Janovsky) resultado de la reacción en medio alcalino entre el ácido pícrico y la creatinina. La intensidad del color es directamente proporcional a la concentración de creatinina en la muestra, calculada mediante interpolación de la absorbancia obtenida en una recta patrón.

Los datos y las concentraciones de los biomarcadores urinarios se recopilaron en una base de datos con Microsoft® Excel®. La excreción de cada biomarcador se representó gráficamente como diagrama de cajas y bigotes (box-plot) utilizando Microsoft® Excel®. Respecto al análisis estadístico de los datos, se utilizó IBM® SPSS® Statistics. En primer lugar, se aplicó la Prueba de Grubbs para eliminar valores atípicos. Las variables cualitativas se analizaron con la Prueba de Chi-Cuadrado de Pearson. Se realizaron dos tipos de análisis: comparación

entre controles y casos en el mismo tiempo de muestreo y comparación de cada grupo de estudio entre los distintos tiempos de muestreo. Se realizó una prueba de normalidad (test de Shapiro-Wilk $n < 50$). Los datos que seguían una distribución normal se analizaron con la Prueba T para muestras independientes y aquellos no normales se analizaron con la Prueba U de Mann-Whitney. Cuando se analizaron más de dos grupos, se sometieron a un análisis de varianza de un factor (ANOVA) y la prueba de Scheffe como análisis post-hoc. Para los valores no normales, se utilizó el test de Kruskal-Wallis para comparar medianas y la prueba post-hoc de Bonferroni para identificar diferencias significativas. El nivel de significación considerado durante el análisis bioestadístico para reflejar diferencias estadísticamente significativas entre grupos fue $p < 0,05$.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las características individuales de los pacientes fueron estadísticamente similares en ambos grupos (Tabla 1), por lo que no se puede atribuir las diferencias en la excreción urinaria a ninguno de ellos.

TABLA 1. Características iniciales de los pacientes incluidos en el estudio. Los datos se expresan como porcentaje (variables cualitativas) o media \pm error estándar de la media (variables cuantitativas). [IMC: índice de masa corporal, TFG: tasa de filtrado glomerular].

Grupo (N=44)	Edad (años)	Peso (kg)	Talla (m)	IMC (kg/m ²)	Género	
					Masculino	Femenino
Control (n=25)	66,15 \pm 1,09	70,69 \pm 1,73	1,66 \pm 0,01	25,76 \pm 0,55	69,2%	30,8%
Caso (n=19)	65,42 \pm 1,29	70,61 \pm 1,88	1,68 \pm 0,01	25,00 \pm 0,72	68,4%	31,6%

Los parámetros bioquímicos, se encuentran en rangos de normalidad en ambos grupos a tiempos Basal y Pre-3 (Tabla 1), por lo tanto, no reflejan un posible daño renal en los pacientes sometidos al tratamiento. Sin embargo, aunque los parámetros bioquímicos no muestren alteraciones, no se puede descartar la presencia de daño renal. Las diferencias en la excreción se deben a la clasificación establecida en el estudio.

TABLA 2. Parámetros bioquímicos de los pacientes incluidos en el estudio.
 *Significación $p < 0,05$ vs control

Grupo (N=44)	Control (n=25)		Caso (n=19)	
	Basal	Pre-3	Basal	Pre-3
Creatinina plasmática (mg/dL)	0,82 ± 0,03	0,79 ± 0,03	0,88 ± 0,06	0,88 ± 0,05
TFG (ml/min/1,73 m ²)	82,85 ± 1,50	84,33 ± 1,51	77,00 ± 2,77	77,00 ± 2,87
Calcemia (mg/dL)	9,53 ± 0,06	9,40 ± 0,06	9,35 ± 0,08	9,37 ± 0,07
Magneemia (mg/dL)	1,90 ± 0,03	1,78 ± 0,04	1,73 ± 0,08	1,66 ± 0,06
Potasemia (mmol/L)	4,48 ± 0,07	4,49 ± 0,05	4,49 ± 0,09	4,59 ± 0,10
Natremia (mmol/L)	140,25 ± 0,29	140,81 ± 0,30	139,28 ± 0,40	138,69 ± 0,45*

En primer lugar, se encontraron diferencias significativas entre grupos en la excreción del biomarcador A antes de recibir el tercer ciclo, y de B antes y después del ciclo 3 (*Figura 1*). Este aumento en la excreción renal del biomarcador permitiría identificar el daño renal subclínico una vez iniciado el tratamiento con ICIs, por lo que monitorizar sus niveles a lo largo del tratamiento se podría utilizar como herramienta diagnóstica en el manejo preventivo del paciente.

Por otro lado, en los biomarcadores C, D y E se observó una tendencia de mayor excreción en los casos; incluso antes de recibir la terapia (*Figura 1*). Estos marcadores podrían predecir el riesgo individual de cada paciente antes de la administración del tratamiento. Este riesgo individual reflejaría un daño renal subclínico previo del paciente no evidenciado hasta el momento, provocado posiblemente por la exposición a contaminantes, fármacos nefrotóxicos, edad avanzada o enfermedades concomitantes, entre otras causas.

La excreción del panel de biomarcadores citados, en los muestreos en los que los parámetros clínicos se encuentran aún dentro de los rangos de normalidad, permitiría predecir el daño renal asociado a los ICIs de forma temprana. Por un lado, los biomarcadores A y B identificarían a los pacientes en riesgo una vez iniciado el tratamiento. Por su parte, los biomarcadores C, D y E conseguirían detectar a los pacientes con riesgo de sufrir daño renal incluso antes de iniciar la terapia. El abordaje de diagnóstico propuesto permitiría manejar al paciente de forma preventiva y personalizada y mejorar su pronóstico oncológico.

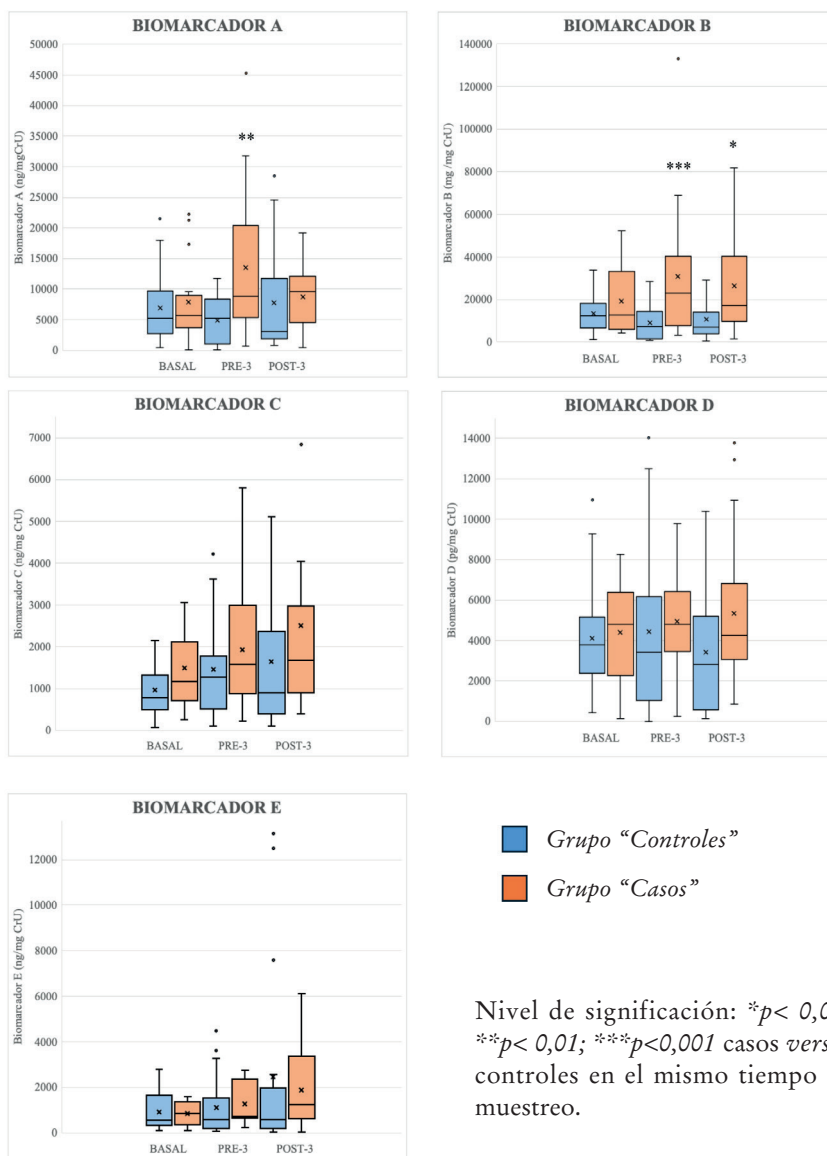


FIGURA 1. Diagrama *box-plot* de la excreción urinaria de cada uno de los biomarcadores de daño renal temprano en el estadio basal y en el momento previo (Pre-3) y posterior (Post-3) a la administración del tercer ciclo de tratamiento.

Este trabajo presenta ciertas limitaciones. El número de pacientes con el muestreo requeridos fue reducido. Sería necesario aumentar la muestra total (N) en estudios posteriores consolidar los resultados, aumentar la potencia estadística y asegurar la representatividad de la población.

5. CONCLUSIONES

- Los biomarcadores A y B podrían predecir el daño renal asociado a los ICIs antes de recibir el tercer ciclo de tratamiento.
- Los biomarcadores C, D y E podrían utilizarse como biomarcadores de riesgo individual antes de recibir la terapia.
- Por tanto, estos biomarcadores podrían predecir el daño renal producido por los ICIs y en consecuencia permitirían manejar al paciente de forma preventiva y personalizada.

6. BIBLIOGRAFÍA

- Alonso F, Martín de Francisco ÁLM, Auñón P, García-Carro C, García P, Gutiérrez E, et al. Efectos renales adversos por inhibidores del check-point (ICP) en pacientes con cáncer. Recomendaciones del grupo de Onconefrología de la Sociedad Española de Nefrología (SEN). *Nefrología*. 2023;43(5):622-35.
- Bagchi S, Yuan R, Engleman EG. Immune Checkpoint Inhibitors for the Treatment of Cancer: Clinical Impact and Mechanisms of Response and Resistance. *Annu Rev Pathol Mech Dis*. 2021;16(1): 223-49.
- De Francisco ALM, Macía M, Alonso F, García P, Gutierrez E, Quintana LF, et al. Onco-Nefrología: cáncer, quimioterapia y riñón. *Nefrología*. 2019;39(5):473-81.
- Francis DM, Thomas SN. Progress and opportunities for enhancing the delivery and efficacy of checkpoint inhibitors for cancer immunotherapy. *Adv Drug Deliv Rev* 2017;114:33-42.
- He X, Xu C. Immune checkpoint signaling and cancer immunotherapy. *Cell Res*. 2020;30(8):660-9.
- Herrmann SM, Perazella MA. Immune Checkpoint Inhibitors and Immune-Related Adverse Renal Events. *Kidney Int Rep*. 2020;5(8):1139-48.
- Miao J, Sise ME, Herrmann SM. Immune checkpoint inhibitor related nephrotoxicity: Advances in clinicopathologic features, noninvasive approaches, and therapeutic strategy and rechallenge. *Front Nephrol*. 2022;2.
- Poto R, Troiani T, Criscuolo G, Marone G, Ciardiello F, Tocchetti CG, et al. Holistic Approach to Immune Checkpoint Inhibitor-Related Adverse Events. *Front Immunol*. 2022;13.

- Rao Ullur A, Côté G, Pelletier K, Kitchlu A. Immunotherapy in oncology and the kidneys: a clinical review of the evaluation and management of kidney immune-related adverse events. *Clin Kidney J.* 2023;16(6):939-51.
- Seidel JA, Otsuka A, Kabashima K. Anti-PD-1 and Anti-CTLA-4 Therapies in Cancer: Mechanisms of Action, Efficacy, and Limitations. *Front Oncol.* 2018;8:86.
- Seijas M, Baccino C, Nin N, Lorente JA. Definición y biomarcadores de daño renal agudo: nuevas perspectivas. *Med Intensiva.* 2014;38(6):376-85.
- Shingarev R, Glezerman IG. Kidney Complications of Immune Checkpoint Inhibitors: A Review. *Am J Kidney Dis.* 2019;74(4):529-37.
- Tinawi M, Bastani B. Nephrotoxicity of Immune Checkpoint Inhibitors: Acute Kidney Injury and Beyond. *Cureus [Internet].* 2020 [citado 15 de junio de 2024]; Disponible en: <https://www.cureus.com/articles/37377-nephrotoxicity-of-immune-checkpoint-inhibitors-acute-kidney-injury-and-beyond>
- Uppal NN, Workeneh BT, Rondon-Berrios H, Jhaveri KD. Electrolyte and Acid-Base Disorders Associated with Cancer Immunotherapy. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2022;17(6):922-33.
- Wanchoo R, Karam S, Uppal NN, Barta VS, Deray G, Devoe C, et al. Adverse Renal Effects of Immune Checkpoint Inhibitors: A Narrative Review. *Am J Nephrol.* 2017;45(2):160-9.