

## **Semblanza:**

Rafael Danilo García P. es Biólogo Celular egresado de la Universidad Central de Venezuela, Magister Scientarum en Fisiología y Biofísica de el Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas, realizó sus pasantías académicas en el departamento de ciencias biomédicas de la Cornell University, en New York en el área de fisiología renal y biología molecular y ha sido colaborador de varios proyectos de investigación en el área de fisiología celular y bioingeniería con la Hochschule Bremen de Alemania, la Universidad de Carabobo y la Universidad Central de Venezuela. Actualmente se desempeña como Medical Science manager del área de oncología para Venezuela del laboratorio farmacéutico Bristol Myers Squibb.

## **Melanoma Metastático: un breve recorrido sobre el pasado, presente y futuro en la terapéutica.**

En los últimos años se ha encontrado un significativo aumento en la incidencia de melanoma y por el hecho de ser un tipo cáncer en cuya patogenia juega un papel fundamental el medio ambiente, es posible que solo estemos apreciando la punta del iceberg de un fenómeno cuya magnitud epidemiológica no se conozca por completo. El melanoma maligno es una forma muy agresiva y quimiorresistente de cáncer. Recientes trabajos (Ohanna et al 2011) revelan que la resistencia a drogas por parte de este tipo de tumor está asociada a las células senescentes melanoma, de hecho, expresa un secretoma inflamatorio, y han delineado las vías genéticas involucradas: el agotamiento del factor de transcripción MITF, o la exposición a los fármacos anti-melanoma, se activa la respuesta al daño del ADN y dispara la senescencia. Las células senescentes melanoma expresan una PARP-1 y NF- $\kappa$ B - secretoma asociados, que contiene altos niveles de la quimiocina CCL2. CCL2, a su vez, conduce a una pérdida de E-cadherina y un fenotipo invasivo.

Existen muchísimas publicaciones médicas sobre ensayos terapéuticos en el melanoma que emplean múltiples agentes citostáticos, citocinas o la combinación de ambos. Muchos agentes citostáticos han demostrado su actividad en los pacientes con melanoma metastásico. Sin embargo, la tasa global de respuesta oscila entre el 10 y el 20%, sin superar el 30% en los trabajos que refieren los mejores resultados.

El fármaco universalmente aceptado como tratamiento en monoquimioterapia para el melanoma diseminado es el DTIC, con el que se consiguen tasas de respuesta global que oscilan entre el 10 y el 30%, y alrededor de un 3% de remisiones completas (RC). Otros citostáticos útiles también para el tratamiento del melanoma metastásico en monoquimioterapia son algunos agentes alquilantes como la ifosfamida, las nitrosoureas clásicas como el BCNU y el CCNU y la nueva fotemustina, los alcaloides de la vinca (vincristina, vinblastina y vindesina), los análogos del platino (cisplatino y carboplatino) y los nuevos taxanos (paclitaxel y docetaxel). Ninguno de ellos, sin embargo, ha demostrado ser superior al DTIC.

Una vez demostrada la actividad frente al melanoma de los diferentes citostáticos comentados administrados como único fármaco, se han desarrollado diferentes pautas de poliquimioterapia que combinan distintos tipos de citostáticos entre sí cuando se han

aplicado en grandes ensayos multicéntricos o en protocolos clínicos aleatorizados, ninguna de dichas pautas ha conseguido resultados que superaran al DTIC administrado como único citostático. De todas ellas, las más conocidas son la denominada BOLD (que incluye bleomicina, vincristina, CCNU y DTIC), la pauta CVD (cisplatino, vinblastina y DTIC) y el régimen de Darmouth o CBDT (que incluye cisplatino, BCNU, DTIC y tamoxifeno).

Las citocinas empleadas con más frecuencia en el tratamiento del melanoma son el interferón alfa (IFN- $\alpha$ ) y la interleucina 2 (IL-2). Trabajos que demostraron la efectividad de este fármaco sobre el melanoma, los resultados conseguidos, tanto respecto al porcentaje de respuesta global (16%), como de remisiones completas (3%) y duración de las mismas (4 meses de mediana), fueron inferiores a los conseguidos con los tratamientos quimioterápicos convencionales.

En concreto, la asociación de IL-2 e IFN- $\alpha$  produce una tasa de respuesta global de alrededor del 15-30%, y una mejoría de la supervivencia a los 5 años (14%), respecto a la IL-2 administrada como único fármaco (4%). Las mejores tasas de respuesta global se obtienen con la asociación de IL-2, IFN- $\alpha$  y citostáticos (v. apartado siguiente) con diferencias estadísticamente significativas entre la utilización de IL-2 sola, IL-2 + quimioterapia, IL-2 + IFN- $\alpha$  e IL-2 + quimioterapia + IFN- $\alpha$ . Sin embargo, no existenevidencias estadísticas de que la adición de quimioterapia a la bioterapia (con IL-2 e IFN- $\alpha$ ) determine un aumento del porcentaje de supervivencia a los 5 años.

Posteriormente la aparición de nuevos esquemas combinados incorporaría IL-2 i.v. a altas dosis que son las que aún se emplean en la actualidad. De todas ellas la pauta más conocida es la de Legha et al<sup>79</sup>, que asociaba cisplatino, vinblastina y DTIC a IL-2 i.v. e IFN- $\alpha$  s.c. logrando un beneficio objetivo (remisiones completas prolongadas) para alrededor del 10% de los pacientes.

En el marco de poseer nuevas herramientas contra la enfermedad dadas las bajas tasas de respuesta, técnicas novedosas como la inmunoterapia mediante linfocitos, o inmunoterapia pasiva la cual consiste en extraer linfocitos del paciente y estimularlos in vitro, los cuales una vez activados, son reintroducidos para que actúen contra el tumor, sin necesidad de que el sistema inmunológico del enfermo tenga que participar de forma activa en este proceso. Hasta ahora se han utilizado tres tipos de células para la inmunoterapia pasiva del melanoma; las células LAK, o linfocitos asesinos activados, las TIL, o linfocitos infiltrantes del tumor, y las células IVS, o células sensibilizadas in vitro. Existe otra línea de abordaje conocida como inmunoterapia activa, en contraposición a la inmunoterapia pasiva o por transferencia de linfocitos, su objetivo es el de activar el sistema inmunitario del paciente para que el mismo sea capaz de destruir las células neoplásicas. Inmunización con antígenos de melanoma.

Actualmente, puede emplearse en vacunación péptidos tumorales sintéticos ya que se conocen las secuencias aminoácidas de los antígenos asociados a melanoma (entre estos MAGE 1 y 3, BAGE, Melan-A/MART-1, gp100, tirosinasa, gp75, CDK4 y los gangliósidos GD2, GM2 y GD3). Éstos ofrecen la ventaja teórica de provocar una respuesta (producción de anticuerpos o respuesta citotóxica) más fácil de monitorizar que la desencadenada por vacunas más complejas. Sin embargo, debido a la inestabilidad genética del tumor y a su interacción con el sistema inmunológico del

huésped, es posible que en la progresión tumoral se generen nuevos subclones celulares que dejen de expresar el antígeno empleado, fallando así la estrategia terapéutica.

La combinación de diferentes péptidos pretende evitar esta situación. Además, también presentan el inconveniente de que este tipo de vacunas sólo tienen efecto en aquellos individuos que poseen el alelo de clase I del sistema HLA idóneo para presentar el péptido utilizado para la inmunización (p. ej., el antígeno MAGE-1 sólo es efectivo en individuos HLA-A1 y los antígenos MART-1, gp100 y tirosinasa, en individuos HLA-A2.1).

La quimioterapia más utilizada consiste en la administración de un solo agente quimioterápico -la dacarbazina- que consigue unas respuestas parciales en el 15-25% de los pacientes, pero que generalmente suelen ser de corta duración.

La utilización de poliquimioterapia no mejora los porcentajes de remisión y supervivencia. Los fármacos que historicamente han mostrado mejores resultados contra el melanoma son: carmustina; lomustina; vinblastina; cisplatino; paclitaxel; docetaxel; temozolomida y fotemustina. También se ha utilizado la combinación de quimioterapia con interferón, G-CSF o interleuquinas (bioquimioterapia), sin ofrecer beneficios frente a la monoterapia y añadiendo toxicidades importantes, que obligaban a parar el tratamiento.

En el caso de la interleuquinas, la más utilizada es la IL-2, con beneficio en la supervivencia libre de progresión, pero sin repercusión en la supervivencia global. Hay que destacar la toxicidad de este tratamiento, por ser diferente al resto de la quimioterapia, por la mala tolerancia, en general y porque en muchas ocasiones, precisa manejo en la unidad de cuidados intensivos. Los efectos adversos habituales son: la hipotensión, arritmias cardíacas, acidosis metabólica, fiebre y escalofríos, infecciones, vómitos, disnea, edemas (retención de líquidos), oliguria (orina escasa), aumento de las transaminasas hepáticas, toxicidad neurológica a nivel periférico (manos y pies), así como rash y prurito (lesiones en los pies y picor).

También hay nuevos fármacos y combinaciones, como el sorafenib; oblimersen y algunas vacunas, que no han podido mejorar los resultados frente a la dacarbazina, como agente único, pero que forman parte del arsenal terapéutico siendo eficaces en determinadas condiciones. Nuevas terapias que pueden actuar en diferentes puntos de ciclo celular, como pudieran ser el flavopiridol, inhibidores de la HSP-90; inhibidores de la farnesil transferasa e inhibidores de Mek; PLX4032; temsirolimus; everolimus; imatinib; sunitinib; dasatanib; axitinib. También están en investigación antiangiogénicos tipo aflibercept o bevacizumab; o anticuerpos antiCTLA-4 como tremelimumab. En estos momentos los estudios que hay de estos fármacos son en muchos casos aún precoces y no se disponen en la práctica clínica diaria, salvo que se participe en un ensayo clínico.

Vemurafenib. una nueva droga anti BRAF V600 en un estudio clínico de fase III alcanzó sus objetivos primarios al mostrar un beneficio significativo de supervivencia en personas con melanoma metastásico y mutación BRAF-positiva V600 no tratados previamente. Los participantes del estudio que recibieron vemurafenib mostraron mayor SG y SLP en comparación con los participantes que recibieron dacarbazina, el tratamiento estándar actual. Vemurafenib es un potencial medicamento el primera en su clase, diseñado para inhibir selectivamente la proteína BRAF mutada que se encuentran

en la mitad de todos los casos de melanoma metastático, la forma más agresiva y letal de cáncer de piel

Ipilimumab un anticuerpo monoclonal indicado para melanoma metastático este ha demostrado que es capaz de prolongar la supervivencia en pacientes como tratamiento de primera línea, con 11,2 meses de supervivencia frente a los 9,1 meses del grupo tratado con dacarbazina y placebo. Es un Anticuerpo monoclonal completamente humano, que bloquea al antígeno 4 asociado al linfocito T citotóxico (CTLA-4). El antígeno CTLA-4 es una molécula que impide la activación de los linfocitos T y, por tanto, la respuesta inmune natural de los mismos. Ipilimumab Al bloquear el antígeno CTLA-4, facilita la activación de los linfocitos T y por consiguiente su proliferación. El mecanismo de acción de Ipilimumab es indirecto cuyo rol central es la inmunomodulación.

Así mismo, esta investigación demuestra que este efecto de Ipilimumab se mantiene a largo plazo. Así, la supervivencia del grupo tratado con el nuevo fármaco de BMS a un año fue del 47 por ciento, frente al 36 por ciento del otro grupo; a dos años, del 28,5 por ciento frente al 17,9 por ciento del grupo de dacarbazina y placebo y a tres años del 20,8 por ciento frente a 12 por ciento. Además, el grupo de Ipilimumab registró una reducción del 24 por ciento en el riesgo de progresión de la enfermedad, en comparación con el grupo tratado con dacarbazina.

Otras sustancias prometedoras actualmente en estudio son las viscotoxinas y las lectinas las cuales se encuentran componentes activos en el muérdago estas han demostrado excelente potencial citotóxico y actividad coestimuladora del sistema inmune. A la fecha se han caracterizado cuatro lectinas diferentes: ML-1, ML-2, ML-3, y la aglutinina de *Viscum album*, resulta de particular interés la ML-1 recombinante, RML (también conocida como rViscumina o aviscumina) la cual sobre el sistema influye en el sistema inmune a través de múltiples vías de acción: la activación de células presentadoras de antígeno, que evoca una fuerte respuesta de células T, el aumento de la actividad citotóxica de las células NK, e induciendo la liberación de citoquinas que mediadoras de la actividad antitumoral del sistema inmunológico.

Sin embargo, la lucha no termina aquí, existen múltiples hallazgos prometedores en el ámbito de los productos biológicos y el diseño de moléculas “inteligentes” que nos permitirían en un futuro no muy distante abordar con mayor eficacia esta difícil enfermedad mejorando notoriamente la calidad de vida del paciente y su supervivencia.

## Referencias

1. Flaherty LE, Liu PY, Unger J, Sondak VK. Comparison of patients characteristics and outcome between a single- institution phase II trial and a cooperative-group phase II trial with identical eligibility in metastatic melanoma. *AmJ Clin Oncol* 1997;20:600-4.
2. Green RJ, Schuchter LM. Systemic treatment of metastatic melanoma with chemotherapy. *Hematol Oncol Clin North Am* 1998;12:863-73.
52. Cohen GL, Falkson CI. Current treatment options for malignant melanoma. *Drugs* 1998;55:791-9.

3. Middleton M, Grob J, Aaronson N, Fierlbeck G, Tilgen W, Seiter S, et al. Randomized phase III study of temozolamide versus dacarbazine in the treatment of patients with advanced metastatic malignant melanoma. *J Clin Oncol* 2000;18:158-66.
4. Agarwala SS, Kirkwood JM. Temozolamide, a novel alkylating agent with activity in the central nervous system, may improve the treatment of advanced metastatic melanoma. *The Oncologist* 2000;5:144-51.
5. Bleehen NM, Newlands ES, Lee SM, Thatcher N, Selby P, Calvert AH, et al. Cancer research campaign phase II trial of temozolamide in metastatic melanoma. *J Clin Oncol* 1995;13:910-3.
6. Summers Y, Middleton M, Calvert H, Rustin G, Newell DR, Thatcher N. Effect of temozolamide (TMZ) on central nervous system (CNS) relapse in patients with advanced melanoma. *Proc Am Soc Clin Oncol* 1999;18:A531.
7. Brock CS, Newlands ES, Wedge SR, Bower M, Evans H, Colquhoun I, et al. Phase I trial of temozolamide using an extended continuous oral schedule. *Cancer Res* 1998;58:4363-7.
8. Middleton MR, Kelly J, Goodger S, Thatcher N, Margison GP. Four-hourly scheduling of temozolamide improves tumour growth delay but not therapeutic index in A375M melanoma xenograft. *Cancer Chemoter Pharmacol* 2000;45:15-20.
9. Britten CD, Rowinsky EK, Baker SD, Agarwala SS, Eckardt JR, Barrington R, et al. A phase I and pharmacokinetic study of temozolamide and cisplatin in patients with advanced solid malignancies. *Clin Cancer Res* 1999;5:1629-37.
10. Kirkwood JM, Argawala SS, Díaz B, Donnelly S, Statkevich P, Dugan M. Phase I study of temozolamide in combination with interferon alfa-2b in metastatic malignant melanoma. *Proc Am Soc Clin Oncol* 1997;16:A491.
11. Hillner BE, Agarwala S, Middleton MR. Post hoc economic analysis of Temozolamide versus Dacarbazine in the treatment of advanced metastatic melanoma. *J Clin Oncol* 2000;18:1474-80.
12. Stadler R, Ruszczak Z. Interferons. New additions and indications for use. *Dermatol Clin* 1993;11:187-99.
13. Pfeffer LM, Dinarello CA, Herberman RB, Williams BR, Borden EC, Bordens R, et al. Biologic properties of recombinant alfa interferons: 40th anniversary of the discovery of interferons. *Cancer Res* 1998;58:2489-99.
14. Atkins MB. Immunotherapy and experimental approaches for metastatic melanoma. *Hematol Oncol Clin North Am* 1998;12:877-902.
15. Vera M, Puig S, Martí R, Castel T. El uso de interferón alfa-2b en el melanoma. *Piel* 2001;16:405-10.

16. Punt CJA. The use of interferon alfa in the treatment of cutaneous melanoma: a review. *Melanoma Res* 1998;8:95-104.
17. Argawala SS, Kirkwood JM. Interferon in melanoma. *Curr Opin Oncol* 1996;8:167-74.
18. Argawala SS, Kirkwood JM. Adjuvant interferon treatment for melanoma. *Hematol Oncol Clin North Am* 1998;12:823-33.
19. Allen IE, Kupelnick B, Kumashiro M. Efficacy of interleukin-2 in the treatment of metastatic melanoma: systematic review and meta-analysis. *Cancer Ther* 1998;1:168-73.
20. Keilholz U, Conradt C, Legha SS, Khayat D, Scheibenbogen C, Thatcher N, et al. Results of interleukin-2-based treatment in advanced melanoma: a case record-based analysis of 631 patients. *J Clin Oncol* 1998;16:2921-9.
21. Atkins MB, Lotze MT, Dutcher JP, Fisher RI, Weis G, Margolin K, et al. Highdose recombinant interleukin 2 therapy for patients with metastatic melanoma: analysis of 270 patients treated between 1985 and 1993. *J Clin Oncol* 1999;17:2105-6.
22. Atkins MB, Kunkel L, Sznol M, Rosenberg SA. High dose recombinant interleukin-2 therapy in patients with metastatic melanoma: long-term survival update. *Cancer J Sci Am* 2000;6(Suppl 1):S11-4.
23. Keilholz U, Eggermont AMM. The role of interleukin-2 in the management of stage IV melanoma: The EORTC Melanoma Cooperative Group program. *Cancer J Sci Am* 2000;6(Suppl 1):S99-103.
24. Argawala SS, Glaspy J, O'Day SJ, Mitchell M, Gutheil J, Whitman E, et al. Results from a randomized phase III study comparing combined treatment with histamin dihydrochloride plus interleukin-2 versus interleukin-2 alone in patients with metastatic melanoma. *J Clin Oncol* 2002;20:125-33.
25. Vaughan MM, Moore J, Riches PG, Johnston SR, A'Hern RP, Hill ME, et al. GM-CSF with biochemotherapy (cisplatin, DTIC, tamoxifen, IL-2 and interferon-alpha): a phase I trial in melanoma. *Ann Oncol* 2000;11:1183-9.
26. Ravaud A, Delaunay M, Chevreau C, Coulon V, Debled M, Bret-Dibat C, et al. Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor alone or with dacarbazine in metastatic melanoma: a randomized phase II trial. *Br J Cancer* 2001; 85:1467-71.
27. Hoeller C, Jansen B, Heere-Ress E, Pustelnik T, Mossbacher U, Schlagbauer-Wadl H, et al. Perilesional injection of r-GM-CSF in patients with cutaneous melanoma metastases. *J Invest Dermatol* 2001;117:371-4.
28. Falkson CI, Ibrahim J, Kirkwood J, Blum R. A randomized phase III trial of dacarbazine (DTIC) versus DTIC + interferon alfa-2b (IFN) versus DTIC + tamoxifen (TMX) versus DTIC + IFN + TMX in metastatic melanoma. An ECOG trial. *Proc Am Soc Clin Oncol* 1996;15:A1350.

29. Legha SS, Ring S, Eton O, Bedikian A, Plager C, Papadopoulos N, et al. Development and results of biochemotherapy in metastatic melanoma: the University of Texas M.D. Anderson Cancer Center experience. *Cancer J Sci Am* 1997;3:S16-21.
30. Khayat D, Borel C, Tourani JM, Benhammouda A, Antoine E, Rixe O, et al. Sequential chemoimmunotherapy with cisplatin, interleukin-2 and interferon- $\alpha$ 2a for metastatic melanoma. *J Clin Oncol* 1993;11:2173-80.
31. Richards JM, Mehta N, Ramming K, Skosey P. Sequential chemotherapy/immunotherapy in the treatment of metastatic melanoma. *J Clin Oncol* 1992;10:1388-43.
32. Richards JM, Gale D, Mehta N, Lestingi T. Combination of chemotherapy with interleukin-2 and interferon  $\alpha$  for the treatment of metastatic melanoma. *Clin Oncol* 1999;17:651-7.
33. Atkins MB, O'Boyle KR, Sosman JA, Eiss GR, Margolin KA, Ernest ML, et al. Multiinstitutional phase II trial of intensive combination chemoimmunotherapy for metastatic melanoma. *J Clin Oncol* 1994;12:1553-60.
34. Flaherty LE, Robinson W, Redman BG, González R, Martino S, Kraut M, et al. A phase II study of dacarbazine and cisplatin in combination with outpatient administered interleukin-2 in metastatic malignant melanoma. *Cancer* 1993; 71:3520-5.
35. Atzpodien J, López Hänninen E, Kirchner H, Franzke A, Körfer A, Volkenandt M, et al. Chemoimmunotherapy of advanced malignant melanoma: sequential administration of subcutaneous interleukin-2 and interferon  $\alpha$  after intravenous Dacarbazine and Carboplatin or intravenous Dacarbazine, Cisplatin, Carmustine and Tamoxifen. *Eur J Cancer* 1995;31(Supl A):876-81.
36. O'Day SJ, Gammon G, Boasberg PD, Martin MA, Kristedja TS, Guo M, et al. Advantages of concurrent biochemotherapy modified by decrescendo interleukin-2, granulocyte colony-stimulating factor, and tamoxifen for patients with metastatic melanoma. *J Clin Oncol* 1999;9:2752-61.
37. McDermott DF, Mier JW, Lawrence DP, Van der Brink MR, Clancy MA, Rubin KM, et al. A phase II pilot trial of concurrent biochemotherapy with cisplatin, vinblastine, interleukin 2 and interferon  $\alpha$ -2B in patients with metastatic melanoma. *Clin Cancer Res* 2000;6:2201-8.
38. Vaughan MM, Moore J, Riches PG, Johnston SRD, A'Hern RPA, Hill ME, et al. GM-CSF with biochemotherapy (cisplatin, DTIV, tamoxifen, IL-2 and interferon- $\alpha$ ): a phase trial in melanoma. *Ann Oncol* 2000;11:1183-9.
39. Dreno B, Cupissol D, Joly P, Sassolas B, Bonnetterre T, Tourani JM. Ambulatory treatment of metastatic melanoma associating subcutaneous dacarbazine, interferon  $\alpha$  and interleukin-2. *JEADV* 1995;4:248-53.

41. Kirchner HH, Atzpodien J, Poliwoda H. Chemo-/Immunotherapie beim fortgeschrittenemalignan Melanom: Carboplatin und DTIC oder Cisplatin, DTIC, BCNU und Tamoxifen und anschließende Immuntherapie mit Interleukin-2 und Interferon-alpha-2a. *Med Klin* 1996;91:44-9.
40. Bernengo MG, Doveil GC, Bertero M, Quaglino O, Fieroo MT, Savoia P, et al. Low-dose integrated chemoimmunotherapy with cisplatin, subcutaneous interleukin-2, alpha-interferon and tamoxifen for advanced metastatic melanoma- a pilot study. *Melanoma Res* 1996;6:257-65.
43. Marti RM, Herrero JE, Puig S, Campoy A, Malveyh J, Conill C, et al. Treatment of metastatic melanoma with IV infusion of Cisplatin, Vinblastine, and DTIC (CVD) and SC interleukin-2 (IL-2) and interferon-alfa-2b (INF-alfa). Preliminary results of a series of 26 patients. Fifth International Conference on Melanoma. Venecia, 28 de febrero a 3 de marzo de 2001.
44. Buzaid AC, Atkins M. Practical guidelines for the management of biochemicaltherapy-related toxicity in melanoma. *Clin Cancer Res* 2001;7:2611-9.
45. Rosenberg SA, Yang JC, Schwartzentruber J, Hwu P, Mariconla FM, et al. Prospective randomized trial of the treatment of patients with metastatic melanoma using chemotherapy with Cis-platin, Dacarbazine, and Tamoxifen alone or in combination with interleukin-2 and interferon alfa-2b. *Clin Oncol* 1999;17:968-75.
- 46 Flaherty LE. Rationale for intergroup trial E-3695 comparin concurrent biochemicaltherapy with cisplatin, vinblastine and DTIC alone in patients with metastatic melanoma. *Cancer J Sci Am* 2000;6(Suppl 1):S15-20.227
47. Vilella Puig R, Benítez Ribas D, Milá Mallofré J, Castel Rodó T. Immunoterapia en el melanoma maligno diseminado. *Inmunología* 2001;20:160-72.
48. Vilella R, Benítez D, Castel T. Immunoterapia en el melanoma. *MTA-Medicina Interna* 2000;18:381-96.
49. Salgaller MI, Lodge PA. Use of cellular and cytokine adjuvants in the immunotherapy of cancer. *J Surg Oncol* 1998;68:122-38.
50. Dudley ME. Cell transfer therapy: basic principles and preclinical studies. En: Rosenberg SA, editor. *Principles and practice of the biologic therapy of cancer*. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2000; p. 305-21.
51. Rosenberg SA. Cell transfer therapy: clinical implications. *Melanoma*. En: Rosenberg SA, editor. *Principles and practice of the biologic therapy of cancer*. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2000; p. 322-33.
52. Cebon J, MacGregor D, Scott A, De Boer R. Immunotherapy of melanoma: targeting defined antigens. *Australas J Dermatol* 1997;38(Suppl 1):S66-72.
53. Boon T, Vander Eynde B. Cancer vaccines: cancer antigens. Shared tumor



specific antigens. En: Rosenberg SA, editor. Principles and practice of the biologic therapy of cancer. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2000; p. 493-504.

54. Robbins PF. Cancer vaccines: cancer antigens. Differentiation antigens. En: Rosenberg SA, editor. Principles and practice of the biologic therapy of cancer. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2000; p. 504-15.

55. Livingston PO, Lloyd KO. Cancer vaccines: cancer antigens. Carbohydrate antigens on glycolipids and glycoproteins. En: Rosenberg SA, editor. Principles and practice of the biologic therapy of cancer. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2000; p. 541-9.

56. Kirkwood JM, Ibrahim JG, Sosman JA, Sondak VK, Agarwala SS, Ernstoff MS, et al. High-dose interferon alfa-2b significantly prolongs relapse-free and overall survival compared with the GM2-KLH/OS-21 vaccine in patients with resected stage IIB-III melanoma: results of the intergroup trial E1694/S9512/C509801. *J Clin Oncol* 2001;19:2370-80.

57 Mitchell MS, Harel W, Kan-Mitchell J, LeMay LG, Goedegebuure P, Huang XQ. Active specific immunotherapy of melanoma with allogenic cell lysates: rationale, results and possible mechanisms of action. *Ann NY Acad Sci* 1993;690:153-66.

58. Mitchell MS. Perspective on allogeneic melanoma lysates in active specific immunotherapy. *Semin Oncol* 1998;25:623-5.

59. Berd, Maguire HC Jr, McCue P, Mastrangelo MJ. Treatment of metastatic melanoma with an autologous tumor-cell vaccine. Clinical and immunologic results in 64 patients. *J Clin Oncol* 1999;8:1858-67.

60. Berd D, Maguire HC Jr, Schuchter T, Hamilton R, Hauck WW, Sato T. Autologous hapten-modified melanoma vaccine as postsurgical adjuvant treatment after resection of nodal metastases. *J Clin Oncol* 1997;15:2359-70.

61. Morton DL, Barth A. Vaccine therapy for malignant melanoma. *CA Cancer J Clin* 1996;46:225-44.

63. Di Nicola M, Lemoli RM. Dendritic cells: specialized antigen presenting cells. *Haematologica* 2000;85:202-7.

64. Nestle FO, Alijagic S, Gilliet M, Sun Y, Grabbe S, Dummer R, et al. Vaccination of melanoma patients with peptide- or tumor lysate-pulsed dendritic cells. *Nature Med* 1998;4:328-32.

65. Thurner B, Haendle I, Röder C, Dieckman D, Keikavoussi P, Jonuleit H, et al. Vaccination with Mage-3A1 peptide-pulsed mature, monocyte-derived dendritic cells expands specific cytotoxic T cells and induces regression of some metastases in advanced stage IV melanoma. *J Exp Med* 1999;190:1669-78.

66. 1. Mickael Ohanna, Sandy Giuliano, Caroline Bonet, Veronique Imbert, Veronique Hofman, Josephine Zangari, Karine Bille, Caroline Robert, Brigitte Bressac-de

Paillerets, Paul Hofman, Stephane Rocchi, Jean-Francois Peyron, Jean-Philippe Lacour, Robert Ballotti and Corine Bertolotto. Senescent cells develop a PARP-1 and Nuclear Factor-kappa B-associated secretome (PNAS). *Genes & Development*, 2011; 25 (12)