

Nuevas perspectivas en oncología. Las células CAR-T: una fuente inagotable de recursos terapéuticos

Francisco Zaragoza García[†], Lucinda Villaescusa Castillo.

Departamento de Ciencias Biomédicas. Universidad de Alcalá.

Resumen

Los medicamentos elaborados a base de las denominadas células CAR-T, constituyen una de las aportaciones a la terapéutica más importantes en los últimos años.

Por el momento, su principal aplicación se inscribe en el campo de la Onco-hematología, ofreciendo unos resultados espectaculares y unas excelentes perspectivas para ampliar sus indicaciones.

Es un tipo de terapia celular génica inmunológica en la que se emplean células inmunitarias del propio paciente, es decir, linfocitos T modificados genéticamente para que expresen un receptor de antígeno quimérico (CAR) capaz de unirse específicamente a un CD expresado por las células tumorales, pudiendo de este modo identificar y atacar a dichas células.

Presentan la ventaja de una administración única, además de su especificidad sobre las células malignas.

Palabras clave

Oncología, células CAR-T.

Conflicto de intereses

Este artículo no presenta conflicto de interés.

Summary

Medicines made from so-called CAR-T cells, have become one of the most important contributions to therapeutics in recent years.

Its main contribution at the moment belongs to the field of Onco-hematology, offering spectacular results and excellent perspectives to broaden its usage.

Basically, it consists in a type of immunological genetic cell therapy, in which we use the patient's own immune cells, that have been previously genetically modified the T lymphocytes, to express a chimeric antigen receptor (CAR) capable of specifically binding to a CD expressed by the tumor cells. Being able to identify and attack said cells.

They offer the advantage of a single administration, in addition to its specificity on malignant cells.

Key words

Oncology, CAR-T cells.

Conflict of interests

This article does not present a conflict of interest.

Introducción

Las posibilidades terapéuticas que presentan las células CAR y, en concreto, las CAR-T, nos trasladan a otro escenario farmacológico distinto a lo conocido hasta ahora. Por el momento, hay dos medicamentos CAR-T autorizados que ofrecen unos resultados espectaculares en términos de curación en onco-hematología, pero se han abierto con ellos, más horizontes esperanzadores en la terapia antineoplásica. Convergen aquí la terapia génica con la terapia celular somática, lo que ha permitido la obtención de estos medicamentos personalizados que atacan selectivamente a las células tumorales. Las famosas balas mágicas de Ehrlich son ya una realidad.

En los últimos años, a los farmacólogos nos han puesto las cosas difíciles para poder estar al día de los conocimientos. Los hallazgos suceden a un ritmo trepidante y es la vocación asociada al deseo de saber, así como la satisfacción que se recibe al efectuar una integración racional de los conocimientos que vamos adquiriendo, quienes nos sostienen en pie al comprobar que los días no tienen horas suficientes para satisfacer nuestros afanes científicos.

En efecto, desde hace pocos años a esta parte, los temas estrella o los fármacos blockbuster, como queramos considerarlos, han ido sucediéndose casi vertiginosamente. Platón atribuyó al filósofo presocrático Heráclito la opinión de que todo está en cambio, todo fluye, no nos bañamos dos veces en el mismo río, “panta rei”. Pero, si hacemos una traslación al presente, unos dirán: “todo está cambiante”, pero nosotros diríamos “sí, pero actualmente, mucho más deprisa”.

Estas afirmaciones tienen un claro reflejo en el caso de las Terapias Avanzadas que, si bien tuvieron dificultades para su introducción en terapéutica, hoy son una clara realidad que, de modo disruptivo, está revolucionando la terapéutica por sus espectaculares resultados y por los cambios de paradigma que han generado desde el punto de vista socio-sanitario. Los sistemas de salud han de adoptar medidas para poder permitir a los pacientes el acceso a estas terapias, afrontando el impacto inicial que suelen tener sobre los presupuestos sanitarios, aunque, ya a corto plazo tienen sus grandes compensaciones, no solo en términos de salud sino económicos.

Si efectuamos un rápido repaso mental en lo referente a las terapias más innovadoras de los últimos años, veremos que estamos en una escalada difícil de seguir, ya que la última novedad deja eclipsada a la anterior y así sucesivamente. Hace dos años, algunos anticuerpos monoclonales introducidos para el tratamiento de determinados tumores fueron revolucionarios. Los llamados familiarmente bloqueantes

de “check-point”, sean del tipo PD-1 o PDL-1 están siendo determinantes en el tratamiento de distintos tumores, como los escamosos de pulmón. De hecho, se está logrando una supervivencia libre de enfermedad, de casi seis años, es decir, lo que podríamos llamar curación. Asimismo, otros anticuerpos monoclonales con propiedades antiinflamatorias, están diseñados para controlar “sine-die” patologías incapacitantes que, si bien no logran la curación, al menos proporcionan confort y calidad de vida al paciente, logrando aportar necesidades médicas no cubiertas hasta ahora. Es el caso de la artritis reumatoide, espondilitis anquilosante, enfermedad de Menière, etc.

Pero, tal vez, los medicamentos que más fuertemente han impactado en los pacientes (favorablemente) y en los Ministerios de Sanidad (no tanto), en los últimos años, han sido los inhibidores de la polimerasa del ARN del virus de la hepatitis C, como sofosbuvir, simeprevir y los que vinieron después. Como es bien sabido, esta enfermedad era prácticamente mortal hasta la introducción de los modernos fármacos. Cabe recordar que la autorización de los interferones α pegilados más ribavirina, supuso un antes y un después en el tratamiento de la hepatitis C. Era una esperanza de vida para quien no la tenía, a pesar de lo que ahora calificaríamos como de resultados modestos. Por eso, cuando irrumpen en terapéutica dos medicamentos, boceprevir y telaprevir ofreciendo un 50% de curaciones, se tenía la certeza de que se estaba ya en los albores de algo más importante aún, que llegaba mejorando de modo espectacular ese resultado.

Concretamente, el sofosbuvir, que fue el primero de la familia, arrasó al proporcionar una tasa de curación del 98% y, con la llegada de otros para administrar en asociación, se acarició la meta tan deseada de la más que posible erradicación de la hepatitis C. Los resultados fueron clarísimos y de todo tipo: curación de la enfermedad, cese de trasplantes hepáticos, reducción de ingresos hospitalarios, disminución de patologías concomitantes, e incluso, como acabamos de afirmar, erradicación de la enfermedad.

Es cierto que la autorización de estos fármacos no estuvo exenta de cierta polémica, por cuanto el precio que, como condición “sine-qua-non”, fijaba el fabricante, era a todas luces muy elevado por una serie de condicionantes previos que no vienen al caso. Pero, en sentido contrario, por mucho que el decisor/financiador intensificase sus resistencias al máximo, el registro en el arsenal terapéutico era una cuestión de conciencia.

Los farmacólogos tuvimos que considerar las cuestiones y negociaciones que hay detrás de los precios y aprendimos más. Como anécdota importante diremos que apenas se vendieron unidades de bocepre-

vir y telaprevir ante el auténtico empuje de los más modernos, por lo que se suscita la siguiente duda: ¿quién carga con los aproximadamente 2.000 millones de euros que se gastaron los promotores de estos medicamentos que apenas se usaron? Evidentemente, el fabricante, pero eso, desgraciadamente, apenas se toma en consideración.

También podíamos hacer extensivo este tema hacia los avances en terapia cardiovascular, con los modernos fármacos dirigidos a la insuficiencia cardíaca, los dispositivos empleados en cardiopatía isquémica, en patología valvular, etc.

Pues bien, mientras esto ocurría, las terapias avanzadas iban cobrando fuerza, fundamentalmente en el área del cáncer. En este sentido, la EMA autorizó en 2018, 42 principios activos nuevos, entre los que se incluyen tres de terapias avanzadas, concretamente de terapia génica y de administración única: voretigen neparvovec, tisagenlecleucel y axicabtagene ciloleucel. El primero fue etiquetado como el medicamento más caro del mundo, estando indicado para combatir una distrofia hereditaria de la retina. Se trata de una terapia génica de una sola aplicación para el tratamiento de pacientes con pérdida de visión debido a una determinada mutación genética; mientras que los otros dos son terapias a base de células CAR-T, estando ambos dirigidos al área de la oncohematología.

Las células CAR-T

Las células CAR-T constituyen un tipo de inmunoterapia en la que se emplean las células inmunitarias del propio paciente, es decir, los linfocitos T modificados genéticamente para que expresen un receptor de antígeno quimérico (de ahí las siglas CAR) capaz de identificar y atacar a las células tumorales, con la ventaja de que las células T del propio paciente son extraídas previamente para ser modificadas y luego, ser reintroducidas en el individuo enfermo, de modo que las células sanas no se vean afectadas.

De esta definición se desprenden algunas cuestiones importantes. La primera es que el concepto CAR es amplio, puesto que abarcaría la introducción inducida de un receptor quimérico sin distinguir el tipo de célula que se va a manipular. En el caso de las CAR-T, ya se perfila que la modificación queremos generarla en los linfocitos T, por lo que conviene matizar que se trata de un tipo de terapia avanzada donde confluye la terapia génica con la terapia celular y la inmunología. Dicho de otra forma, en este tipo de tratamientos, se extraen las células de defensa (linfocitos T), se manipulan genéticamente y se vuelven a introducir en el organismo como células defensoras ante otras células tumorales.

Con este fin, hay que diseñar cuidadosamente la manipulación genética pero, sobre todo, es imprescindible conocer el antígeno tumoral que interceptarán las células T con el receptor específico que se introduce en ellas.

En esencia, son tres las claves básicas: células elegidas para ser modificadas, antígeno tumoral seleccionado y tipo de transfección para modificar los genes que expresen el receptor quimérico específico.

A priori, frente a los tratamientos existentes, se perfila una ventaja: en teoría, las células que pueden verse afectadas son las patológicas y no las sanas, pero, para ello, hay que definir, como hemos dicho, el antígeno con el que se ha de unir el receptor que se expresará en las células T, como veremos más adelante. También ha sido preciso aclarar previamente, al tratarse de productos que se encuentran en los inicios de su desarrollo, que son medicamentos. Es decir, que cumplen estrictamente con lo que las disposiciones legales vigentes definen como medicamento. No se trata únicamente de un “procedimiento” más o menos complicado, sino que va más allá, cumpliendo con las condiciones de curar o aliviar un estado patológico con eficacia, seguridad y calidad, entendiendo estos términos desde el punto de vista farmacoterapéutico. Las consecuencias de este hecho representan un claro beneficio para el paciente, desde distintos puntos de vista, como el de la posible financiación por el sistema de salud correspondiente.

También estimamos que conviene aclarar que las células CAR-T presentan otra complejidad distinta a la terapia celular somática. Esta última está basada en la administración de células expandidas que pueden ser autólogas (procedentes del mismo paciente), alogénicas (iguales, pero de otro individuo) o heterólogas. Van dirigidas a la reparación de tejido dañado, para lo cual se eligen células multipotentes o células madre embrionarias. Su objetivo es la reparación de lesiones como úlceras tórpidas cutáneas, miocitos en infarto de miocardio, cartílago en artrosis, enfermedades neurodegenerativas, úlceras corneales, etc.

Como ejemplos de estos medicamentos podemos citar el darvadstrocel, formado por células madre mesenquimales expandidas, alogénicas, extraídas de tejido adiposo. Presentan buenos resultados para combatir fístulas perianales y abdominales refractarias a otros tratamientos en pacientes con enfermedad de Crohn y se administran directamente en el tracto fistuloso.

También ha tenido gran repercusión la obtención de un medicamento llamado NC-1, compuesto por células mesenquimales autólogas expandidas de médula ósea y de plasma humano. Se emplea para el tratamiento de las secuelas producidas por traumatismos

sobre la médula espinal, con resultados sorprendentemente favorables en algunos casos.

En el campo de la oncohematología, se viene utilizando el trasplante de médula ósea para el tratamiento de diferentes patologías, de modo que, tras la extracción de las células madre, se radia la médula ósea para destruir las células tumorales. Una vez expandidas las células madre adultas, existen diversas formas de manipularlas antes de volver a administrarlas, de modo que se ha alcanzado un alto grado de versatilidad de cara a sus posibilidades de desarrollo e indicaciones.

Desde el punto de vista conceptual, a diferencia de lo anterior, la terapia génica da un paso más y basa su actuación en la transferencia de material genético a un ser vivo con fines terapéuticos, existiendo la posibilidad de combinar ambas cuestiones, es decir, la modificación genética en poblaciones celulares, de modo que se pueden corregir las deficiencias de estas células.

Este modo mixto de terapia celular/terapia génica está contemplado en el Reglamento (CE) 1394/2007 sobre Medicamentos de Terapia Avanzada y en la Directiva 2001/83/CE sobre Medicamentos de Uso Humano.

Digamos en este punto que la reprogramación exclusivamente de las células inmunitarias de un paciente para que destruyan las células cancerígenas, brinda unas posibilidades terapéuticas hasta ahora inéditas. Este es el fundamento de las CAR-T: extracción de linfocitos T, modificación genética de estas células para introducirles un receptor inactivador de células tumorales y nueva administración de estas células que se deberán reproducir con la modificación.

Como vemos, a diferencia de los tratamientos oncológicos habituales, solamente las células tumorales se verán dañadas sin que las sanas se vean afectadas. Además, la modificación génica es específica para la patología en cuestión, por lo que se habla de terapia personalizada.

Las perspectivas que brindan los CAR son amplísimas, al menos desde el punto de vista teórico. Más adelante veremos los problemas de seguridad que presentan y las dificultades para plasmar todo ello en una realidad.

Tratamientos con CAR-T

Hasta el momento presente, solamente hay dos productos a base de CAR-T autorizados tanto por la EMA como por la FDA: tisagenlecleucel y axicabta-

gene ciloleucel, si bien existen en la “bandeja de salida” al menos cuatro más que aspiran a superar las altas exigencias regulatorias.

Por el momento, sus indicaciones son las siguientes:

- Tisagenlecleucel: leucemia linfoblástica aguda (LLA) y linfoma difuso de células grandes de tipo B (LDCGB).
- Axicabtagene ciloleucel: linfoma difuso de células grandes de tipo B y linfoma mediastínico primario de células B.
- En todos los casos, en situaciones de refractariedad tras dos o más líneas de tratamiento,

Todas las terapias disruptivas presentan un inicio llamativo por la excelencia de los resultados o por alguna circunstancia que acompaña a esos inicios del tratamiento como sucedió con las células He-La inmortales de adenocarcinoma en la Universidad John Hopkins y su “propietaria”, Henrietta Lacks.

Pues bien, en el caso que nos ocupa, en 2010 sucedió un hecho clave que marcó el inicio de la administración de las CAR-T. En esa fecha, a la niña de 5 años, Emily Whitehead, se le diagnostica una leucemia linfoblástica aguda en recaída, sin opciones terapéuticas. Incluida en ensayo clínico, recibe células CAR-T anti-CD19 en la Universidad de Pensilvania, la primera en hacerlo. Como resultado, Emily, con una dosis recibida, es una chica sana, de 15 años, y su supervivencia ayudó a revitalizar una línea de investigación, entonces incierta.

En efecto, en 1989, Gros, Waks y Eshar habían logrado incorporar una especificidad tipo anticuerpo dentro de un receptor de las células T, creando así los primeros linfocitos CAR-T. La especificidad provenía del fragmento variable de un anticuerpo monoclonal, por lo que se amplió considerablemente el número de antígenos tumorales que pudiera reconocer el linfocito T (Gross et al., 1989). En otras palabras, el CAR confiere a los linfocitos especificidad contra el antígeno que interese. La cuestión radica en saber dónde está el acierto, es decir, el antígeno que exprese la célula tumoral y que sea más abordable. La suerte que tenemos en la actualidad es que la Biología Molecular nos proporciona el camino a seguir gracias a las investigaciones básicas realizadas sin un fin aparente.

Como vemos, para conseguir un medicamento de CAR-T, cabría pensar a priori que contamos con posibilidades ideales:

- Resultados, por el momento, espectaculares en determinados tipos de cáncer

- Terapia selectiva frente a las células tumorales, que no afecta, teóricamente, a las células sanas del paciente
- Administración única

Ahora bien, si intentamos introducirnos en la mente del investigador, surgen muchas dudas que vamos a tratar de despejar.

Así, por ejemplo:

- ¿Qué receptor podemos introducir en el linfocito?
- ¿Qué características diferenciadas presentan las células tumorales para poderlas atacar?
- ¿Qué tipo de tumores serían sensibles?
- ¿Por qué la diana que se ha elegido es un CD19?
- ¿Cómo se maneja al paciente?
- ¿Qué reacciones cabe esperar tras la readministración de los linfocitos modificados en el exterior?
- ¿Cómo se tratan estas reacciones?
- ¿Qué le ocurre al paciente en el tiempo de espera mientras le elaboran su medicamento?
- ¿Quién sabe dónde y cómo se hace la transfección para que el linfocito aprenda a expresar el receptor quimérico de antígeno?
- ¿Se necesitará una repetición de dosis y qué ocurrirá?
- ¿La curación es definitiva?
- ¿Qué perspectivas tenemos cuando se descubran nuevas dianas?
- ¿Quién conoce e integra todo esto?

Procuraremos ir aclarando estas cuestiones seguidamente en diferentes apartados, pero debemos ser claros: no basta, para resolverlo, ser un brillante especialista en Biología Celular e Inmunología; hacen falta, además, profundos conocimientos de Oncohematología y de Patología integrados con los anteriores. Porque, entre otras cosas, vamos aprendiendo que el fracaso en el tiempo de estas terapias radica en que la reproducción de los linfocitos modificados ha de ser consistente.

Es bien sabido que una célula no sobrevive más que a un número determinado de divisiones (alrededor

de 50) porque acumulan estrés, mutaciones y sus telómeros se acortan demasiado, sobreviniendo de forma natural, la apoptosis. Pues bien, las células modificadas genéticamente, han de manifestar “sostenibilidad”, es decir, capacidad para reproducirse con la modificación que se ha inducido, porque esa es la garantía de la capacidad de ataque frente a cualquier brote neoplásico intempestivo. De aquí que el diseño molecular del receptor sea una de las claves más importantes, debiendo guardar correlación con el material y el método para la transfección.

Características moleculares

El CAR es una proteína de fusión cuya estructura se compone de cuatro partes diferenciadas: un dominio extracelular, una bisagra, un dominio transmembrana y un dominio intracelular (Figura 1).

El dominio extracelular tiene funciones de reconocimiento del antígeno y suele ser un fragmento variable procedente de un anticuerpo monoclonal que se une de modo específico a un antígeno tumoral, como antes se ha comentado.

El sitio de unión está compuesto por una cadena simple, variable, ligera, que le da especificidad, y otra cadena variable pesada, estando ambas separadas entre sí por una secuencia estable de más de 12 aminoácidos que simulan la estructura Fab de un anticuerpo.

El dominio intracelular proviene de una de las cadenas del CD3 que genera las reacciones de señalización intracelular y es crítico para el comportamiento de las células T, ya que regula la activación, proliferación y citotoxicidad a través de diferentes vías de señalización. Entre ambos dominios se encuentra, tal como antes se ha indicado, una bisagra y una región transmembrana que une el CAR a la membrana plasmática del linfocito T.

Esta estructura era la base con la que se diseñaron inicialmente las CAR-T, pero evidenciaron un importante problema, tal vez el más importante desde el punto de vista de la eficacia y el mantenimiento del efecto: se perdía eficacia por la imposibilidad de multiplicación de los linfocitos guardando la configuración del receptor cuando se introducían en el paciente.

Esta fue la causa por la que hubo que rediseñar la experiencia con el fin de obtener CAR-T de segunda generación, modificando sobre todo el dominio intracelular, que ha ido evolucionando a lo largo de los años con el fin de potenciar su proliferación, citotoxicidad y persistencia in vivo. En los comienzos del siglo actual, se incorporó un dominio coestimulador y

FIGURA 1

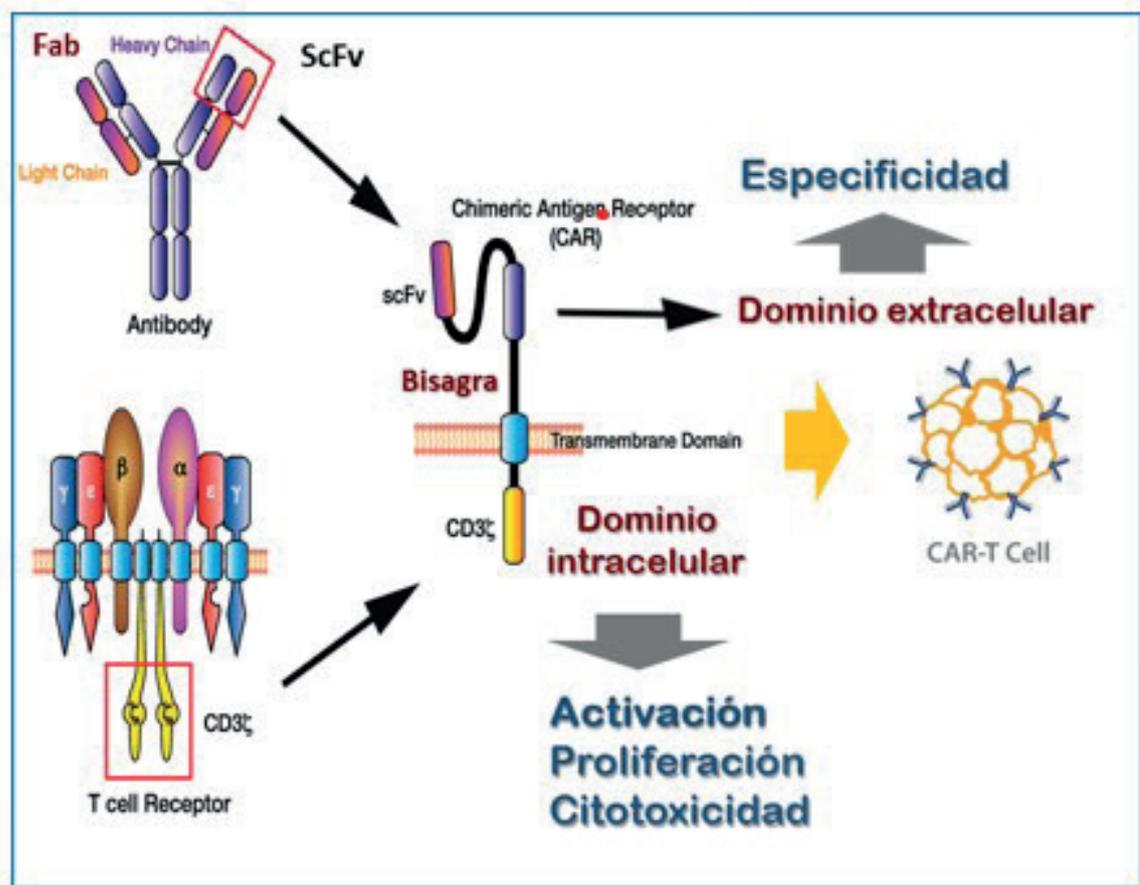


Figura 1. Estructura básica del receptor de antígeno quimérico (Modificada de Hannah et al., 2020).

después, en 2003, se desarrolló una línea anti-CD19 que fue decisiva para su empleo con éxito en 2010 en la paciente antes citada que sufría una leucemia linfoblástica aguda.

Los dos CAR-T autorizados por los principales organismos regulatorios, tisagenlecleucel y axicabtagene ciloleucel presentan algunas diferencias en cuanto a la configuración del receptor quimérico, si bien ambos van dirigidos a la misma diana, CD19, como inmediatamente veremos.

Tisagenlecleucel presenta un CAR formado por un anticuerpo de cadena simple de origen murino que reconoce al antígeno CD19 y se une al dominio intracelular de señalización 4-1BB (CD137) y al CD3- ζ . Éste último es crítico para iniciar la activación de la célula T y la actividad antitumoral, mientras que el primero la incrementa y favorece la expansión y la persistencia de tisagenlecleucel.

En el caso de axicabtagene ciloleucel, los dominios coestimuladores son CD28 y CD3 ζ , los cuales acti-

van cascadas de señalización que dan lugar a la activación, proliferación y adquisición de funciones efectoras. En ambos casos son responsables también de secreción de citoquinas y quimioquinas inflamatorias de las células T, lo que provoca la necrosis de las células tumorales que expresan CD19 (Subklewe et al., 2019; Hannah et al., 2020).

La selección del antígeno CD19

Los cúmulos o “cluster de diferenciación” (CD) pueden ser expresados en la superficie de las células; son moléculas marcadoras que son reconocidas por ciertos anticuerpos que se emplean para la identificación del tipo de célula y determinación de su estado celular y de su activación. En definitiva, son un sistema de diferenciación de antígenos de superficie celular de los leucocitos humanos que se pueden caracterizar mediante anticuerpos monoclonales, permitiendo la categorización de los linfocitos y de otras células hematopoyéticas.

Con anterioridad, nos hemos referido al antígeno CD19 cuando hablábamos de su reconocimiento por parte del CAR. Este hecho obedece a la sencilla razón de que éste ha sido diseñado con dicho fin, ya que el CD19 es la diana ideal de las células CAR-T en tumores hematológicos malignos de células B puesto que tienen en común que expresan dicho antígeno de superficie.

Es importante aclarar que CD19 no se expresa en células madre pluripotentes de médula ósea, quedando restringido a las células B.

En términos generales, es importante seleccionar antígenos que expresan selectivamente las células tumorales.

¿Cómo se producen las células CAR-T?

Este es un apartado que, evidentemente, compete a la Biología Molecular y a la Biotecnología.

Describiremos sucintamente los aspectos directamente relacionados con el medicamento en sí, con los pasos que se han de seguir y su complejidad.

La modificación celular se basa en la reprogramación genética de los linfocitos T del propio paciente siguiendo las directrices de la transfección vírica, de modo que el transgén codifique el receptor quimérico capaz de identificar células que expresen un antígeno determinado.

La técnica consiste en extraer sangre de un paciente por leucoaféresis, separando los linfocitos del resto de las células sanguíneas con el fin de actuar solamente sobre estas células. A grandes rasgos diremos que, para la transfección se suelen emplear vectores víricos como lentivirus o retrovirus con los que se tiene bastante experiencia y que garantizan el mantenimiento de la expresión transgénica a largo plazo, algo que se traduce en durabilidad del efecto.

Y en este punto comienzan algunos de los problemas, ya que este proceso necesita unas semanas en un biorreactor (hay ya bastantes variedades), lo que acarrea un alto coste para cumplir con los elevados requerimientos de calidad que exigen las agencias reguladoras. Esto condiciona que el vector ha de ser producido por un agente externo especializado y con instalaciones específicas, lo que incrementa el coste notablemente.

El paso siguiente, una vez que las células T ya han sido modificadas genéticamente, es su expansión ex vivo, lo que requiere experiencia en líquidos nu-

trios, aporte de oxígeno, pH y demás condiciones para obtener CAR-T de calidad.

Seguidamente viene el lavado, concentración y criopreservación, así como un segundo periodo de incubación y cultivo hasta alcanzar el número requerido de células para cada paciente.

Tras introducir las en su bolsa de infusión, el medicamento queda preparado para su administración (Miliotou et al., 2018).

Condiciones del paciente y reacciones adversas que pueden presentarse

Durante el tiempo de espera, el paciente ha de sufrir estrecha vigilancia, y debe recibir quimioterapia depletiva acompañada con la llegada de su medicamento. Este tratamiento está ya bien experimentado y depende de la patología.

En el caso de la LLA, se administra fludarabina, ciclofosfamida o etopósido, pero si hay refractariedad o riesgo de cistitis hemorrágica, se utilizará citarabina o etopósido. En el caso del LDCBG, si hay refractariedad a ciclofosfamida, se sustituirá esta vez por bendamustina.

Con el fin de minimizar las reacciones propias de la infusión se administrará paracetamol y un antihistamínico H1 como medicación adyuvante.

Ahora bien, en este apartado, tal vez lo más importante está constituido por las reacciones derivadas de la actuación de las células T al unirse con las células tumorales. Después de reconocerlas y unirse a ellas, les inducen apoptosis por varios mecanismos que, a su vez, acarrearán importantes consecuencias:

1. Lisis de células tumorales asociada a la vía del ligando FAS (FasL), que activa el programa de apoptosis
2. Destrucción inducida por citoquinas
3. Lisis de células tumorales por proteínas citotóxicas como granzima y perforina. Es un mecanismo sinérgico con los anteriores

Este conjunto de actuaciones puede ocasionar efectos adversos que se han de tratar específicamente. Comoquiera que se trata de una terapia en la que las células modificadas han de garantizar su "persistencia reproductiva" como tales, la posible toxicidad también dura más tiempo que en otros casos, por lo

que es de todo punto necesario estar familiarizado con los efectos adversos y conocer de dónde provienen, así como su mecanismo, para aplicar la terapia preventiva más adecuada.

Los más importantes son:

- Síndrome de liberación de citoquinas (SLC)
- Síndrome de lisis tumoral
- Toxicidad neurológica
- Aplasia de células B
- Reacciones anafilácticas

De todas estas posibles complicaciones, el SLC es, sin lugar a duda, el efecto adverso más importante por sus posibles consecuencias. Se debe a una liberación explosiva de citoquinas por parte de las células inmunitarias (linfocitos T y macrófagos) que se han activado intensamente, aumentando la producción, sobre todo de IFN γ , IL-2, IL-6 y IL-10, de las que la IL-6 es la que más predomina. Además, reviste la mayor importancia por sus propiedades inflamatorias muy potentes que se traducen en síntomas respiratorios como hipoxia, disnea, fiebre alta, taquicardia, mialgia, fatiga, confusión, trastornos de la coagulación, disociación de la hemoglobina (con subida de la ferritina) e insuficiencia renal (Santomasso et al., 2019).

El SLC se denomina también “tormenta de citoquinas” y es una reacción inmunitaria exagerada y desproporcionada que, como ocurre en otros casos, acarrea problemas que conviene corregir porque pueden ocasionar la muerte.

Este síndrome responde al empleo de glucocorticoides, pero no se deben aplicar porque provocan pérdida de linfocitos T, con lo cual, la eficacia clínica disminuiría. Este es el motivo por el cual se hace necesaria la administración de fármacos anti IL-6 que sean bloqueantes del receptor, como tocilizumab y sarilumab, o que se unan al ligando circulante (la propia IL-6), como siltuximab, reservando los corticoides para emergencias cuando no haya buena respuesta a los anteriores.

También hay que destacar el denominado síndrome de lisis tumoral, dado que la destrucción de las células tumorales provoca alteraciones metabólicas por liberación de grandes cantidades de fosfatos, potasio y ácidos nucleicos, que pueden ocasionar insuficiencia renal aguda (Bonifant et al, 2016).

Un tema interesante: la relación de estos efectos con Covid-19

Parece interesante traer a colación algunos de los efectos adversos de los tratamientos a base de CAR-T con los efectos directos que produce SARS-CoV-2. En efecto, todo parece indicar que los síntomas respiratorios que produce este virus se deben a un síndrome de liberación de citoquinas, especialmente a la IL-6, por lo que procedería que fueran tratados con fármacos antagonistas de IL-6 como tocilizumab, sirolumab, o mejor aún, con un antagonista de la propia IL-6 como siltuximab.

Los pacientes que sufren la infección por Covid-19 manifiestan los síntomas adversos antes descritos, como hipoxia y disnea con saturación de oxígeno reducida, así como intensa fatiga, mialgia, fiebre, taquicardia, niveles elevados de ferritina, insuficiencia renal y trastornos en la coagulación que, en última instancia, requieren ser tratados con altas dosis de heparina de bajo peso molecular.

En el caso de Covid-19, a falta de fármacos antagonistas de IL-6, los corticoides podrían suplirlos, dado que no es tan importante el efecto inmunodepresor sobre las células T.

Eficacia clínica de los medicamentos CAR-T comercializados

En relación con la eficacia clínica, en el caso de tisagenlecleucel, el primero en autorizarse, la eficacia en LLA se evaluó en 3 ensayos clínicos, en los que han participado más de 150 pacientes pediátricos y adultos jóvenes con LLA de células B. Los resultados de los 3 ensayos muestran eficacia en el tratamiento de pacientes pediátricos y adultos jóvenes con LLA de células B.

La evidencia de la eficacia clínica se basa principalmente en datos del estudio pivotal B2202, un ensayo clínico fase II de un solo brazo, abierto, multicéntrico, en pacientes de edad entre 3 y 25 años, con enfermedad refractaria o en segunda o posterior recaída o en recaída tras trasplante alogénico de médula ósea (o no candidatos al mismo) y con expresión de CD19 en las células tumorales, el objetivo primario del estudio era la tasa de respuesta global, mantenida al menos 28 días. La tasa de remisión global dentro de los 3 meses fue del 81%, El 60% de los pacientes tuvieron remisión completa. Se trata por tanto de tasas de remisión elevadas y remisiones profundas y duraderas.

En los dos estudios de apoyo en poblaciones similares, se observaron tasas de respuesta global del 69% y del 95%, respectivamente (Shannon et al., 2018).

La eficacia clínica de tisagenlecleucel en LDCGB se basa en el estudio C2201, un ensayo clínico fase II, en pacientes adultos con LDCGB que habían recibido al menos 2 líneas de tratamiento previo y habían fracasado a autotrasplante de médula ósea, o bien no eran candidatos. La mejor tasa de respuesta global fue del 52%; el 40% de los pacientes tuvieron respuestas completas (Stephen J. Schuster, 2019).

La eficacia clínica de axicabtagene ciloleucel se evaluó en un ensayo multicéntrico de fase 2, con 111 pacientes con linfoma difuso de células B grandes, linfoma de células B mediastínico primario o linfoma folicular transformado con enfermedad refractaria. Los resultados muestran altos niveles de respuesta duradera, con un perfil de seguridad que incluía mielosupresión, síndrome de liberación de citocinas y eventos neurológicos. La tasa de respuesta global fue del 81-83%, y la tasa de respuesta completa fue del 49-71% (Sattva et al., 2017).

Seguridad clínica de los medicamentos

CAR-T comercializados

A pesar de los aspectos comunes en el perfil de toxicidad, cada medicamento CAR-T anti CD19 puede presentar una mayor propensión a uno u otro tipo de toxicidad, que depende de la estructura del CAR, de la calidad de los linfocitos del paciente, de la indicación clínica en la que se utilicen, y de otros factores aun no del todo conocidos. Por tanto, habrá que tener en cuenta estas características particulares.

En general, el perfil de seguridad de los dos medicamentos está bien caracterizado y es manejable con la aplicación de pautas de gestión específicas.

En el caso de tisagenlecleucel, en LLA, el SLC fue el efecto adverso severo más común, aunque se limitó a las primeras 4-6 semanas tras la infusión y no hubo desenlaces fatales. En todos los casos, revirtió rápidamente con tocilizumab, administrado entre los días 2 y 11.

El evento adverso más común de cualquier grado en cualquier momento después de la infusión fue el SLC. Durante el mismo se produjeron aumentos transitorios en los niveles séricos de IL-6, IFN γ y ferritina. Se observaron tendencias similares en los niveles de otras citoquinas, incluidas la IL-10, IL-12, IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-8 y TNF α . Además, se observó un aumento transitorio en el nivel de proteína C reactiva en la

mayoría de los pacientes, pero con gran variabilidad.

Los eventos neurológicos se detectaron en el 40%, pero la mayoría fueron transitorios, no incluyeron edema cerebral y parecieron ser más frecuentes en pacientes con SLC de grado superior.

Y, en relación con los efectos adversos hematológicos, los más frecuentes fueron neutropenia febril e hipogammaglobulinemia. La aplasia de células B (causante de esta última) se produjo en todos los pacientes que respondieron al tratamiento y se manejó satisfactoriamente con terapia de reemplazo de inmunoglobulina.

La neutropenia febril puede ser una consecuencia conocida tanto de la enfermedad subyacente como de la quimioterapia linfodepletiva recibida. Este efecto se informó en un 36,1% de los pacientes, dentro del período de 8 semanas después de la infusión.

En cuanto al síndrome de lisis tumoral, éste ocurre normalmente en pacientes con gran carga tumoral y/o en pacientes con neoplasias altamente proliferativas, como es el caso de la leucemia aguda (Shannon et al., 2018).

En el LDCBG, la incidencia de SLC fue algo menor (58%) y, en la mayoría de los casos, los pacientes respondieron a la administración de tocilizumab. Se observaron infecciones en el 44% de los pacientes. La neurotoxicidad fue algo inferior en estos pacientes (21%) (Stephen et al., 2019).

En el caso de axicabtagene ciloleucel, los eventos adversos más comunes fueron neutropenia (en el 78% de los pacientes), anemia (en el 43%) y trombocitopenia (en el 38%). El SLC de grado 3 o superior y los eventos neurológicos ocurrieron en el 13% y el 28% de los pacientes, respectivamente (Sattva et al., 2017).

Perspectivas que ofrecen las CAR-T

Como hemos comentado al comienzo del artículo, son enormes las posibilidades terapéuticas que brindan las CAR-T. Todo irá en función del receptor que se desee introducir, el cual, a su vez, será subsidiario de la diana a la que se dirija.

Pero esta actuación no tiene por qué limitarse a un receptor, sino que la célula T podrá expresar dos o más receptores en función de la utilización terapéutica.

Precisamente, al redactar estas líneas, se está celebrando en modo virtual el Congreso de la Socie-

dad Americana de Oncología (ASCO-2020) donde las CAR-T están teniendo un protagonismo singular. Además de los datos consolidados que hemos indicado en el apartado anterior, el Instituto Nacional del Cáncer de Estados Unidos ha presentado varios estudios que muestran remisión de LDCGB en casi 7 años, y en leucemia linfocítica crónica (LLC), siguen libres de la enfermedad 9 años después de la administración de las células CAR-T. Todo ello va despejando dudas de los resultados a largo plazo, que son muy positivos.

Se han presentado otros estudios dirigidos a distintas patologías oncológicas, como linfoma no Hodgkin recidivante o refractario, con un 93% de respuesta positiva (con axicabtagene ciloleucel). Otros demuestran que los resultados en pacientes mayores de 70 años son los mismos que en los de menor edad.

También se han presentado estudios con células CAR alogénicas realizados con células T de donantes sanos a las que se les elimina la proteína clave para que no haya reacción inmunológica. Sin embargo, aún habrá que esperar para conseguir resultados sobre tumores sólidos por problemas de acceso. Y también habrá que esperar, aunque menos tiempo, en el caso de mieloma múltiple.

En definitiva, podemos concluir que estamos ante un campo apasionante, con unos resultados espectaculares en patologías sin alternativas, donde ya se puede hablar de distinta forma a lo habitual en oncología: las frases sobre resultados que hasta hace poco implicaban un éxito, como “libres de síntomas” o “libres de progresión”, van siendo sustituidas por “libres de enfermedad”.

Bibliografía

1. Bonifant CL, Jackson HJ, Brentjens RJ, Curran KJ. Toxicity and management in CAR T-cell therapy. *Oncolytics* 2016:3
2. Gross G, Gorochov G, Waks T, Eshhar Z. Generation of Effector T Cells Expressing Chimeric T Cell Receptor With Antibody Type-Specificity. *Transplant Proc.* 1989 Feb;21(1 Pt 1):127-30
3. Hannah E. Hughes-Parry, Ryan S. Cross and Misty R. Jenkins. The Evolving Protein Engineering in the Design of Chimeric Antigen Receptor T Cells. *Int. J. Mol. Sci.* 2020 , 21 (1), 204; <https://doi.org/10.3390/ijms21010204>
4. Miliotou AN, Papadopoulou LC. CAR T-cell Therapy: A New Era in Cancer Immunotherapy. *Curr Pharm Biotechnol.* 2018; 19 (1): 5-18
5. Santomasso B., Bachier C., Westin J., et al. The Other Side of CAR T-Cell Therapy: Cytokine Release Syndrome, Neurologic Toxicity, and Financial Burden. *Am Soc Clin Oncol Educ Book.* 2019 :39, 433-444
6. Sattva S. Neelapu, Frederick L. Locke, Nancy L. Bartlett, et al. Axicabtagene Ciloleucel CAR T-Cell Therapy in Refractory Large B-Cell Lymphoma. *N Engl J Med* 2017; 377: 2531-2544
7. Shannon L Maude, Theodore W Laetsch, Jochen Buechner, et al. Tisagenlecleucel in Children and Young Adults with B-Cell Lymphoblastic Leukemia. *N Engl J Med* 2018; 378:439-448
8. Stephen J. Schuster, Michael R. Bishop, Constantine S. Tam, et al. Tisagenlecleucel in Adult Relapsed or Refractory Diffuse Large B-Cell Lymphoma. *N Engl J Med* 2019; 380:45-56
9. Subklewe M, von Bergwelt-Baildon, M, Humpe, A. Chimeric Antigen Receptor T Cells: A Race to Revolutionize Cancer Therapy. *Transfus Med Hemother* 2019;46:15-24
10. Van der Steegen SJ et al *Nat Rev drug Discover* 2015;14:499-509
11. Dan Li, Xue Li, Wei-Lin Zhou, Yong Huang, Xiao Liang, Lin Jiang¹, Xiao Yang, Jie Sun, Zonghai Li, Wei-Dong Han and Wei Wang. Genetically engineered T cells for cancer immunotherapy. *Signal Transduction and Targeted Therapy* (2019) 4:35