

# PROGRAMA CONSULTA AL EXPERTO

**COORDINADORA: DRA GRACIELA LEÓN DE GONZÁLEZ**

## COMITÉ DE EDUCACIÓN CONTINUA Y CONTINUADA

**COORDINADORA: BIOL. ANA CLAUDIA PERÓN**

### **“INMUNOTERAPIA CON CÉLULAS CAR-T: ESTRATEGIAS DE APLICACIÓN, LIMITACIONES Y EFECTOS ADVERSOS”**

#### **PROFESORAS INVITADAS:**

- **DRA VANINA ANDREA FONTANA:** Licenciada en Ciencias Biológicas con Orientación a la Biología Molecular. Doctora de la Universidad de Buenos Aires en el área de Química Biológica. [v\\_fontana@yahoo.com](mailto:v_fontana@yahoo.com)
- **DRA GABRIELA VERÓNICA SALAMONE:** Licenciada en Biología de la Universidad CAECE. Doctora en Ciencias Biológicas de la Universidad de Buenos Aires. [salamone.gabriela@gmail.com](mailto:salamone.gabriela@gmail.com)

Las enfermedades oncológicas son una de las principales causas de muerte y uno de los principales obstáculos para que la esperanza de vida, en el siglo XXI continúe creciendo (1). En 2022, se registraron aproximadamente 9.7 millones de muertes por cáncer en todo el mundo según el Centro Internacional de Investigaciones sobre el Cáncer (CIIC) de la Organización Mundial de la Salud (OMS).

Las características moleculares de los tumores conducen a una expresión antigénica particular, que pueden permitir que el sistema inmunológico distinga una célula tumoral de su contraparte normal. El reconocimiento de estos antígenos implica la activación de una respuesta inmune; hasta que las células tumorales logran, a través de mecanismos de escape, evadir esta respuesta (2, 3).

Las inmunoterapias adoptivas, que han demostrado ser prometedoras en el tratamiento de neoplasias hematológicas, pueden actuar sobre la leucemia mieloide aguda (LMA) a través de vías distintas y complementarias. La inmunoterapia adoptiva con linfocitos T puede ser particularmente potente debido a la longevidad y a la fuerte actividad citotóxica de los linfocitos T transferidos. Una de estas inmunoterapias adoptivas son los receptores de antígenos quiméricos en células T (CAR-T), que son receptores de antígenos recombinantes de una sola molécula, capaces de redirigir la especificidad de las células T y aumentar la potencia antitumoral (4).

Nuevos tratamientos como la inmunoterapia, y en particular las células CAR-T, han surgido como herramientas terapéuticas prometedoras para el tratamiento del cáncer. Este tipo de tratamiento ha mostrado un notable éxito en neoplasias hematológicas ya avanzadas, y actualmente se están llevando a cabo numerosos estudios para evaluar su utilidad también en tumores sólidos (3, 4).

### **Principio de la terapia con células CAR-T**

La terapia con células CAR-T es una estrategia que está demostrando una gran eficacia en términos de actividad antitumoral. Los CAR-T de primera generación fueron creados originalmente por Zelig Eshhar en 1989 (5) quien describió una nueva forma para re dirigir el reconocimiento de las células T y ha transformado desde entonces el campo de la medicina, al inducir respuestas a largo plazo y potencialmente curativas en pacientes con neoplasias principalmente hematológicas (6, 7). Las células CAR-T son células T diseñadas o rediseñadas específicamente, para dirigirse contra antígenos expresados predominantemente por células tumorales. Al unirse a un antígeno específico, inician la señalización y la activación de la célula T, induciendo la muerte de la célula blanco (6, 7).

Estructuralmente, los CAR son proteínas de fusión en las células T que combinan: A) un dominio extracelular de unión a la célula blanco que confiere especificidad antigénica, esta porción contiene las regiones variables dirigidas al tumor derivadas de anticuerpos, también llamadas

fragmentos variables de cadena única, ya que es un único paratope (scFv), con B) una bisagra espaciadora y elementos transmembrana que conecta con C) un dominio de activación de células T (regiones constantes derivadas del receptor de células T, es decir, CD3 $\zeta$ ) (8) Figura 1, para mayor detalle estructural dirigirse al Box1.

#### **Box 1:**

#### **Fragmentos de Cadena Única Variable (scFvs)**

El scFv es la porción de unión al antígeno del CAR y se deriva de los dominios variables de la cadena pesada (VH) y la cadena ligera (VL) de la inmunoglobulina. El dominio de unión al receptor y/o ligando debe ser funcionalmente activo una vez que se une al antígeno, es determinante la afinidad y avidéz que poseen estos dominios (9).

#### **Espaciador Extracelular**

Los espaciadores más comunes pertenecen a la región Fc de la IgG, junto con CD4 y CD8. Debido al riesgo presentado por la interacción entre los receptores Fc (FcR $\gamma$ ) expresados por las células NK, se requiere una modificación en la región Fc. La modificación se realiza en la porción Fc para evitar la interacción con los FcR (10).

#### **Dominio Transmembrana**

La región transmembrana actúa como un puente entre los dominios de unión al antígeno y los dominios intracelulares que atraviesan la membrana celular. Esta región estructural también sirve para transmitir la señal desde el exterior hacia el interior de la célula T. Estos dominios que atraviesan la membrana provienen principalmente de CD4, CD8, CD28 o CD3 $\zeta$ . Dominio de Activación. La elección del dominio de activación incluido en los CAR de primera generación fue CD3 $\zeta$  o FcR $\gamma$ , con CD3 $\zeta$  fue con el que mejores resultados se obtuvieron.

#### **Dominio Coestimulador**

Estos dominios se encuentran junto al dominio transmembrana en el interior de la célula. Facilitan la proliferación, diferenciación, activación, persistencia de las células T y contribuyen a la producción de citoquinas. Los dominios coestimuladores más utilizados son CD28 y 4-1BB (CD137), también se han realizado construcciones con ICOS, OX40. Se han reportado mejoras significativas en los ensayos clínicos con la adición de dominios coestimuladores en los CAR de primera generación, 4-1BB a los CAR promueve la supervivencia y persistencia y CD28 induce mayor activación de las células T en respuesta a un estímulo antigénico (11, 12).

#### **Mecanismo de Señalización**

Se han establecido diferentes vías para introducir los CAR en las células T, comúnmente en células T CD8+ y/o CD4+. La transducción viral de CAR en células T ha logrado una expresión constitutiva de éste. Los constructos de CAR con dominios de señalización derivados de los segmentos citoplasmáticos de CD3 $\zeta$  (este dominio es suficiente para acoplarse con la transducción de señales

asociadas al receptor), CD28 y 4-1BB son los más comúnmente utilizados en los CAR clínicos. CD28 y 4-1BB consisten en residuos de aminoácidos básicos cargados positivamente en sus colas citoplasmáticas (11, 13). Uno de los sitios principales para la fosforilación de CD3 $\zeta$  requiere motivos de activación basados en tirosina (ITAMs) en su dominio citoplasmático. La transducción de señales requiere la fosforilación de estos ITAMs por las tirosinas quinasas de la familia Src, Lck y/o Fyn. Los ITAMs fosforilados luego reclutan y activan el dominio citoplasmático (Zap-70) a través de la asociación entre los ITAMs doblemente fosforilados y los dominios SH2 en tándem de Zap-70 (14).

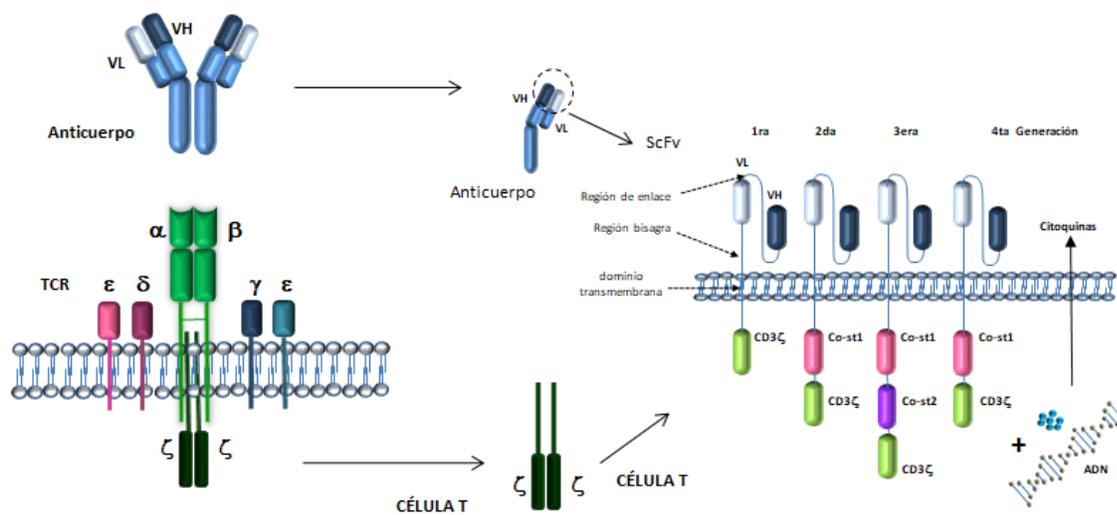
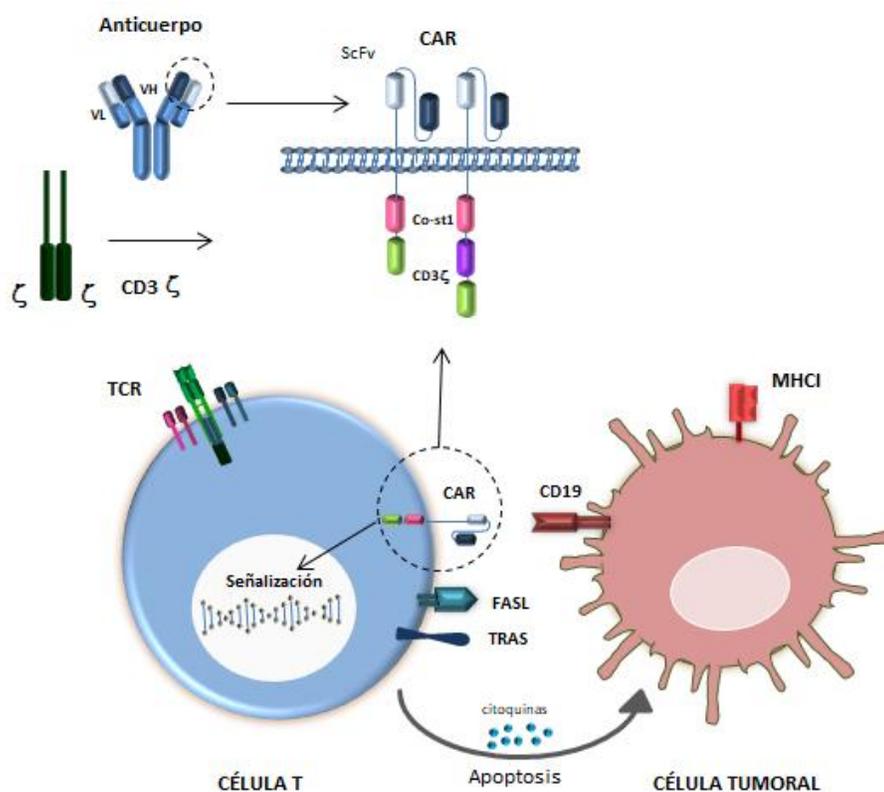


Figura 1. Estructura de los receptores de antígenos quiméricos (CAR) y las diferentes generaciones de CAR. La primera generación de CAR está compuesta por un fragmento variable de cadena sencilla (scFv) seguido de una bisagra, un dominio transmembrana y una región intracelular, más comúnmente el componente de señalización de TCR el CD3 $\zeta$ . La segunda y tercera generaciones de CAR incluyen uno o dos dominios coestimuladores (Co-st), respectivamente, y suelen derivar de los receptores CD28 y 4-1BB, entre otros. Los CAR o células T redirigidas para la secreción universal de citoquinas (TRUCK) de cuarta generación suelen combinar una construcción de CAR de segunda generación con la expresión constitutiva o inducible de citoquinas.

Muchos tumores inducen la disminución de la expresión del complejo mayor de histocompatibilidad (CMH) de clase I, o mutaciones en el procesamiento y presentación antigénica, entre otros; como mecanismo de evasión, resistiendo de este modo a los efectos antitumorales de las células T citotóxicas. Esta resistencia se evita gracias a la naturaleza funcional del mecanismo de acción de las células CAR-T que se independiza de la presentación antigénica por el CMH, permitiendo que la célula T actúe esencialmente como una "máquina de matar" (15, 16). Evitando de esta manera, que las células tumorales utilicen mecanismos de escape del sistema inmunitario (1, 3, 16) Figura 2.

Como mencionábamos previamente, las proteínas CAR se introducen generalmente en las células T mediante vectores lentivirales o retrovirales, redirigiendo las células T a antígenos de superficie específicos de forma independiente a la restricción al CMH. Con el transcurso del tiempo se han ido perfeccionando el desarrollo de los CAR permitiendo una mejor activación del clon T. Los CAR de primera generación originalmente incluían únicamente el dominio de señalización CD3 $\zeta$ , lo que provocaba una activación insuficiente (17). En este dominio intracelular, se han utilizado otros tipos de cadenas de señalización de estimulación primaria, como la cadena FcRI, CD3, la proteína de activación DNAX 10 (DAP10), ZAP70, lck y fyn (18), entre otros Figura 1.

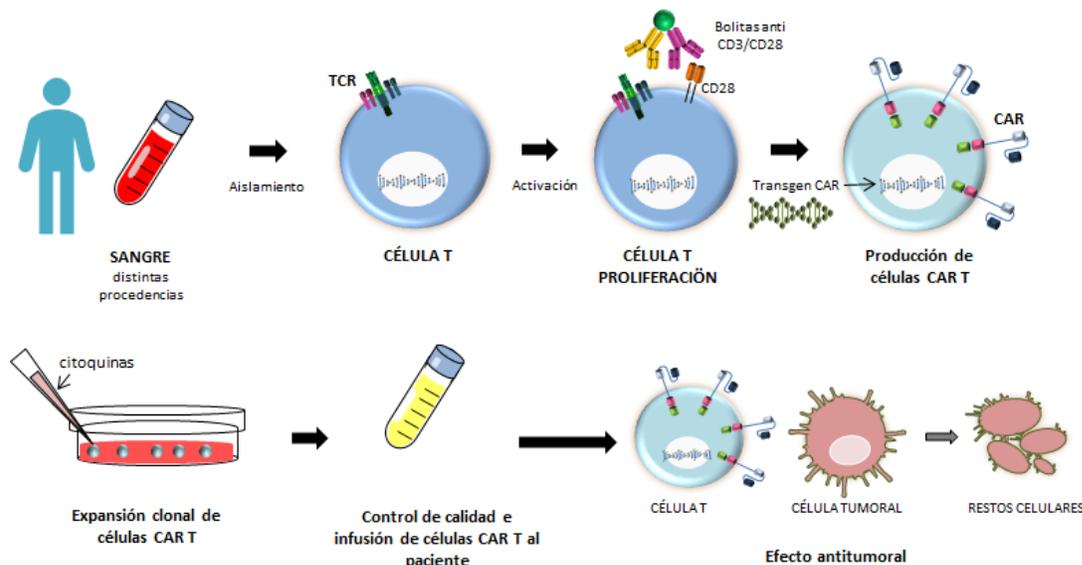
Los CAR de segunda generación suman un dominio coestimulador en la región intracelular, como CD28, 4-1BB (CD137), OX40 (CD134), CD27 o ICOS. Estos dominios aumentan la proliferación, la citotoxicidad, la respuesta sostenida y la persistencia in vivo. En la tercera generación, los receptores CAR contienen dos dominios coestimuladores para aumentar la producción de citoquinas y el efecto antitumoral (19). Además, existe una cuarta generación, también llamada TRUCK, que combina el CAR con una mayor secreción de citoquinas (p. ej., IL-2, IL-12) (20). Esta generación es capaz de aumentar la activación de las células T, reclutar y activar células inmunitarias innatas endógenas en el tumor, modificar el microambiente tumoral y aumentar la actividad de las células T (19-21) Figura 1; Box1.



**Figura 2:** Las células CAR-T pueden activarse uniéndose al antígeno expresados en la superficie de la célula tumoral. La diferencia clave entre las células CAR-T y el TCR de las células T es que las primeras no dependen del procesamiento antigénico ni de la presentación de péptidos por el CMH, lo que facilita la utilización de las células CAR-T a diferentes pacientes.

Este mecanismo es capaz de reconocer un amplio repertorio de antígenos tanto en neoplasias hematológicas como sólidas (22, 23). Desde que ha comenzado la aplicación de este tipo de terapia existieron 988 ensayos clínicos reportados en 2021. ClinicalTrials.gov (term search: CAR-T). Available online: <https://clinicaltrials.gov/ct2/results?term=car-t> (accessed on 21 September 2021).

La Administración de Alimentos y Medicamentos (FDA) y la Agencia Europea de Medicamentos (EMA) han aprobado el tratamiento con CAR-T para leucemias y linfomas, todos dirigidos a neoplasias hematológicas CD19-positivas. Además, numerosos estudios preclínicos y clínicos están probando estrategias con células CAR-T para el tratamiento de tumores sólidos (23).



**Figura 3:** Enfoque de la terapia con células CAR-T contra el cáncer colorrectal. Primero, se obtienen, seleccionan y activan células T humanas in vitro. Se realiza una modificación genética para inducir la expresión de CAR en las células T, y las células CAR-T obtenidas se expanden y formulan para fabricar el producto de células CAR-T con los controles de calidad correspondientes. El producto de células CAR-T se administra al paciente, donde se espera que elimine las células tumorales.

El protocolo aceptado para el tratamiento de los pacientes comienza con la extracción de sangre de los pacientes hospitalizados. En la mayoría de los casos, los pacientes se acondicionan antes

de la infusión de células CAR-T y luego se someten a leucoaféresis, seguida del aislamiento de células T de su fracción de células mononucleares de sangre periférica (CMSP). Además, estas células T recolectadas se activan ex vivo con microesferas o con suplementos exógenos de citoquinas. Posteriormente, se introduce un gen para la expresión de CAR mediante métodos de ARNm, lentivirales o retrovirales en estas células T autólogas expandidas para redirigirlas y que reconozcan tumores. Luego de la expansión, estas células CAR-T se introducen en el paciente y se monitorean mediante citometría de flujo. Se sabe que estas células pueden censar constantemente la presencia de células tumorales (24, 25).

Los estudios preclínicos sobre las células CAR-T y sus modificaciones han dado lugar a varios ensayos clínicos. Actualmente, existen cinco terapias con células CAR-T aprobadas por la FDA: Tisagenlecleuel (26-28) (KYMRIAH; Novartis), Axicabtagene ciloleucel (18, 29, 30) (YESCARTA, Kite Pharma, Gilead Science), Brexucabtagene autoleucel (TECARTUS; Kite Pharma), Isocabtagene maraleucel (BREYANZI; Juno Therapeutics, Inc., una compañía de Bristol-Myers Squibb) e Idecabtagene vicleucel (ABECMA; Celgene Corporation, una compañía de Bristol-Myers Squibb). La mayoría de las terapias con células CAR-T aprobadas se dirigen a CD19, un antígeno específico de células B que ha mostrado excelentes resultados en ensayos clínicos contra la leucemia linfoblástica aguda (LLA) y el linfoma no Hodgkin (31). El 83 % de las personas tratadas con el primer fármaco CAR-T aprobado, “Kymriah” de Novartis, logró una remisión completa en 3 meses (más detalle de este protocolo y otros es descrito en el Box 2). El potencial terapéutico de las células T de transferencia adoptiva que expresan las CAR ha demostrado éxito clínico contra neoplasias avanzadas de células B (32, 33) y leucemia recidivante y refractaria (r/r) (5, 32, 33). El desarrollo de los CAR no se ha limitado al cáncer hematológico, sino que se está expandiendo ampliamente a tumores sólidos (34).

**Box 2:**

La terapia CAR-T fue desarrollada por la Universidad de Pensilvania y evaluada en un estudio sobre la LLA de células B pediátricas en colaboración con el Hospital Infantil de Filadelfia. En 2012, Novartis Pharmaceuticals y la Escuela de Medicina Perelman de la Universidad de Pensilvania iniciaron una colaboración para seguir investigando, desarrollando y comercializando terapias CAR-T. Kymriah® (tisagenlecleucel), la cual es dirigida contra CD19, fue la primera terapia génica basada en células aprobada por FDA en 2017 para el tratamiento de la LLA pediátrica y de adultos jóvenes en recaída/refractaria (r/r), tras una recomendación unánime para su aprobación por parte del Comité Asesor de Medicamentos Oncológicos de la FDA. Actualmente, Tisagenlecleucel está aprobado para el tratamiento de la LLA de células B r/r (pacientes pediátricos y adultos jóvenes), el linfoma difuso de células B grandes (DLBCL) r/r y el linfoma folicular (FL) r/r en Estados Unidos, la Unión Europea y Japón. Actualmente está disponible para su uso en al menos una de las indicaciones mencionadas anteriormente en 34 países y en más de 430 centros de tratamiento certificados, y hasta ahora, se ha enviado a más de 7000 pacientes en ensayos clínicos, este protocolo ha recibido numerosos premios.

### Links de los diferentes protocolos clínicos:

KYMRIAH (tisagenlecleucel) | FDA. 2022. [www.fda.gov/vaccines-blood-biologics/cellular-gene-therapy-products/kymriah](http://www.fda.gov/vaccines-blood-biologics/cellular-gene-therapy-products/kymriah). Accessed 13 Oct 2022.

Kymriah | European Medicines Agency. 2022. [www.ema.europa.eu/en/medicines/human/EPAR/kymriah](http://www.ema.europa.eu/en/medicines/human/EPAR/kymriah). Accessed 21 Dec 2022.

YESCARTA (axicabtagene ciloleucel) | FDA. 2022. [www.fda.gov/vaccines-blood-biologics/cellular-gene-therapy-products/yescarta](http://www.fda.gov/vaccines-blood-biologics/cellular-gene-therapy-products/yescarta). Accessed 13 Oct 2022.

TECARTUS (brexucabtagene autoleucel) | FDA. 2022. [www.fda.gov/vaccines-blood-biologics/cellular-gene-therapy-products/tecartus](http://www.fda.gov/vaccines-blood-biologics/cellular-gene-therapy-products/tecartus). Accessed 13 Oct 2022

BREYANZI (lisocabtagene maraleucel) | FDA. 2022. [www.fda.gov/vaccines-blood-biologics/cellular-gene-therapy-products/breyanzi-lisocabtagene-maraleucel](http://www.fda.gov/vaccines-blood-biologics/cellular-gene-therapy-products/breyanzi-lisocabtagene-maraleucel). Accessed 13 Oct 2022.

ABECMA (idecabtagene vicleucel) | FDA. 2022. [www.fda.gov/vaccines-blood-biologics/abecma-idecabtagene-vicleucel](http://www.fda.gov/vaccines-blood-biologics/abecma-idecabtagene-vicleucel). Accessed 13 Oct 2022.

CARVYKTI | FDA. 2022. [www.fda.gov/vaccines-blood-biologics/cellular-gene-therapy-products/carvykti](http://www.fda.gov/vaccines-blood-biologics/cellular-gene-therapy-products/carvykti). Accessed 14 Oct 2022.

En la última década, los CAR de segunda generación dirigidos a células CD19+ resultaron ser la terapia de células T adoptivas más eficaz hasta la fecha. En comparación con la primera generación, los CAR de segunda generación, ofrecieron un mayor potencial de respuestas antitumorales y duraderas en el linfoma de células B de alto grado en adultos (35-37) y en la LLA-B tanto en niños como en adultos refractarios a todas las terapias estándar (18, 29, 38).

En general, las neoplasias hematológicas relacionadas con células B se dirigieron inicialmente contra CD19 y CD20. La implementación del CD19-CAR fue la más utilizada (39). Entre todos los CAR, la terapia con células CAR-T CD19 para la LLA ha mostrado los resultados más prometedores (>85%), ya que los CAR que responden al marcador pan-linfocitos B CD19 han demostrado una eficacia robusta. Sin embargo, si bien la citotoxicidad está dirigida a los linfocitos B malignos que expresan CD19, también afecta a los linfocitos B sanos. La toxicidad extra-tumoral provocó aplasia de linfocitos B, se trata de forma profiláctica con gammaglobulina (40). La adición de los dominios coestimuladores CD28 y 4-1BB (CAR de segunda generación) al diseño de CAR no solo elevó significativamente la actividad antitumoral, sino que también prolongó la supervivencia in vivo de los linfocitos CAR-T.

Finalmente, con CAR-T CD19+, se observó un reconocimiento antigénico en células tumorales circulantes sin mayores complicaciones, no se detectó ningún factor inmunosupresor importante, como CD95/FasL y citoquinas como interleuquina (IL)-10 o el factor de crecimiento transformante (TGF- $\beta$ ). Todas estas condiciones juntas hicieron que CD19 fuera el candidato más adecuado para la terapia con células CAR-T. Se han presentado nuevos obstáculos tecnológicos y biológicos; una de las principales preocupaciones es la falta de células T del paciente, que son necesarias para producir las células CAR-T. Con estos desafíos, los científicos se están preparando para simplificar la viabilidad y la logística de la generación de células CAR-T con el concepto de "células CAR-T universales", que funcionarían como células CAR-T "listas para usar" (41, 42).

### **Nuevas estrategias: aumento de la función de las CAR-T mediante la inhibición de puntos de control**

Actualmente, se están desarrollando múltiples estrategias para mejorar las terapias con células CAR-T, como las dirigidas a tratar de inhibir el microambiente inmunosupresor tumoral, mediante la eliminación de la muerte celular programada 1 (PD-1) y/o el antígeno 4 del linfocito T citotóxico (CTLA-4), o para mejorar la especificidad y la seguridad de los CAR dirigidos a dos antígenos tumorales diferentes, entre otros. Además, muchos esfuerzos se están focalizando en estrategias de modificación genética para que las células CAR-T de donantes sanos sean una terapia adecuada para su uso alogénico (42).

Los clones T exhaustos o agotados poseen algunos marcadores fenotípicos que suelen asociarse con estados efectoros y de memoria (43), pero en realidad presentan propiedades fenotípica y funcionalmente diferentes a las de ambos subgrupos (44). Dado que el agotamiento y la senescencia comparten varias características que se solapan, como funciones efectoras defectuosas, proliferación reducida y detención del ciclo celular, podrían usarse indistintamente. Sin embargo, existen ciertas características que permiten distinguir estos estados, como las características de secreción de citoquinas y la expresión de receptores de superficie celular y factores de transcripción (45).

Las células T agotadas se vuelven disfuncionales mediante un proceso progresivo. Pérdida de funcionalidad mediada principalmente por la sobreexpresión de múltiples receptores inhibidores, entre ellos PD-1 y CTLA-4, que se observa típicamente en infecciones crónicas y cánceres (46, 47). Sin embargo, la expresión de estos receptores inhibidores no es un indicador absoluto del agotamiento de las células T, ya que también pueden inducirse en células T específicas del tumor al activarse al encontrar su antígeno tumoral específico (48). Otras características importantes del agotamiento de las células T incluyen modificaciones en la señalización del TCR, el perfil de citoquinas, las vías que regulan la migración, la expresión de quimioquinas y las propiedades metabólicas (49).

Se han caracterizado varios receptores inhibidores en las células T: además de PD1 y CTLA-4, se describió la proteína 3 que contiene el dominio de inmunoglobulina y el dominio de mucina de las células T (TIM-3), el gen 3 de activación de linfocitos (LAG-3). Estas moléculas se regulan positivamente tras la activación sostenida de las células T en enfermedades crónicas y cáncer, y promueven la disfunción y el agotamiento de las células T, lo que resulta en el escape del tumor de la inmunovigilancia. Dirigir los inhibidores de puntos de control en las células T ha sido una estrategia atractiva en tumores sólidos y neoplasias hematológicas (50-52). Se han probado diferentes enfoques con el objetivo de mejorar la función de las células T CAR sin desencadenar la proliferación descontrolada de células T no CAR, lo que provocaría efectos secundarios autoinmunes (50, 51, 53). Blaeschke et al. crearon una proteína de fusión a PD-1-CD28 para transformar las señales inhibitoras de las células leucémicas (PD-1) en estimulación de células T (CD28)(54). Al añadir células diana a los CAR anti-CD19 cada 3 o 4 días para evaluar la función efectora persistente, las células CAR-T con las proteínas de fusión PD-1-CD28 superaron claramente a las células CAR-T convencionales. Las células CAR-T diseñadas para expresar el anticuerpo scFv PD-L1 demostraron una actividad antitumoral mejorada en modelos murinos in vitro e in vivo al bloquear la señalización PD-1/PD-L1 (55).

## **Efectos Adversos de la terapia con células CAR-T**

### **Síndrome hemafagocítico**

El síndrome hemofagocítico (HS), también conocido como linfohistiocitosis hemofagocítica (LHH), es un síntoma poco frecuente, pero potencialmente mortal, de desregulación inmunitaria que se manifiesta como una activación anormal del sistema inmunitario con una activación exacerbada de las células inflamatorias. Si bien la aparición de HS/LHH es poco común, es muy significativa en la terapia con células CAR-T, ya que esta afección puede causar complicaciones clínicas graves. Las principales manifestaciones clínicas de HS/HLH incluyen fiebre alta persistente, esplenomegalia y hepatopatía, hematopenia (incluyendo anemia, leucopenia y trombocitopenia), hipertrigliceridemia, hipergliceridemia y metahemoglobinemia (56). También pueden presentarse síntomas neurológicos, como espasmos o confusión, y los casos graves se asocian con una alta tasa de mortalidad. Este tipo de toxicidad mostró niveles elevados de citoquinas (57, 58).

### **Efectos contra células no tumorales**

Dentro de los efectos adversos se encuentra que las células CAR-T atacan a las células B sanas, dañando el sistema inmunológico del paciente y potencialmente provocando complicaciones graves como la dependencia transfusional (59). El reconocimiento de células normales, en particular las nerviosas, puede provocar reacciones neurotóxicas en los pacientes (60). Se han descrito, además, lesiones pulmonares y daño al sistema nervioso central, entre otras (61).

### **Producción excesiva de citoquinas (PEC)**

Las respuestas de PEC también se observan con frecuencia en tratamientos de oncología hematológica. Para el tratamiento, se suelen utilizar medidas como fármacos antiinflamatorios, glucocorticoides y anticuerpos anti-citoquinas para reducir la respuesta inflamatoria y aliviar el daño causado por la liberación excesiva de citoquinas. Se plantea la hipótesis de que, tras la activación y expansión de las células CAR-T in vivo, se libera una gran cantidad de citoquinas (TNF- $\alpha$ ; el factor de necrosis tumoral- $\alpha$  y IFN- $\gamma$ ; interferón- $\gamma$ ), lo que estimula a los macrófagos a producir cantidades aún mayores de citoquinas, desencadenando una respuesta inflamatoria sistémica y, en última instancia, conduciendo al desarrollo de PEC (62). Los macrófagos de pacientes tratados con CAR-T producen mayores niveles de IL-1 $\beta$  e IL-6 que los dadores sanos.

### **Reacción de injerto contra huésped**

La enfermedad de injerto contra huésped (EICH) es una complicación grave que puede ocurrir después de un trasplante de tejido alogénico. En esta complicación, las células madre de sangre periférica o los linfocitos trasplantados perciben el cuerpo del receptor como extraño y desencadenan una respuesta inmunitaria. Para explorar la eficacia y seguridad de la terapia CAR-T en el tratamiento de neoplasias hematológicas recidivantes/refractarias, así como la prevención eficaz de la EICH en ausencia de quimioterapia de acondicionamiento convencional, se realizó un ensayo clínico de terapia CAR-T CD7 seguida de trasplante de células madre hematopoyéticas haploidenticas en pacientes con leucemia aguda CD7-positiva. El estudio excluyó los regímenes de acondicionamiento o la profilaxis de la EICH. Los pacientes con un preacondicionamiento intenso y no aptos para el TPH alogénico estándar lograron una remisión significativa tras la terapia CAR-T. Varios pacientes lograron un quimerismo completo del donante tras el trasplante, lo que indica un injerto exitoso (63).

En resumen, el objetivo para el desarrollo perfecto de CAR-T en leucemia debería consistir en la elección de un TCR contra una molécula que se exprese en alta densidad en todas las células tumorales, incluyendo todos los clones heterogéneos que incluyan células madre leucémicas, y evitar la orientación hacia tejidos normales (cualquier órgano) o células madre progenitoras hematopoyéticas.

Debido a los ensayos clínicos que han informado algunos efectos adversos no deseados "en células blanco fuera de la célula tumoral", estos efectos adversos han inspirado a los investigadores a revisar aspectos del CAR, incluyendo la justificación del diseño modulador, afinidad y avidéz de unión, localización, proliferación sostenida, activación, mantenimiento del fenotipo inmunológico, eficacia antitumoral, sitio y número de administraciones, y, no menos importante, un enfoque de combinación.

## Bibliografía

1. Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, Siegel RL, Torre LA, Jemal A. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA: a cancer journal for clinicians*. 2018;68(6):394-424.
2. Roerden M, Spranger S. Cancer immune evasion, immunoediting and intratumour heterogeneity. *Nature reviews Immunology*. 2025;25(5):353-69.
3. Aparicio C, Belver M, Enriquez L, Espeso F, Nunez L, Sanchez A, et al. Cell Therapy for Colorectal Cancer: The Promise of Chimeric Antigen Receptor (CAR)-T Cells. *International journal of molecular sciences*. 2021;22(21).
4. Vishwasrao P, Li G, Boucher JC, Smith DL, Hui SK. Emerging CAR T Cell Strategies for the Treatment of AML. *Cancers*. 2022;14(5).
5. Gross G, Waks T, Eshhar Z. Expression of immunoglobulin-T-cell receptor chimeric molecules as functional receptors with antibody-type specificity. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 1989;86(24):10024-8.
6. Mitra A, Barua A, Huang L, Ganguly S, Feng Q, He B. From bench to bedside: the history and progress of CAR T cell therapy. *Frontiers in immunology*. 2023;14:1188049.
7. Maude SL, Laetsch TW, Buechner J, Rives S, Boyer M, Bittencourt H, et al. Tisagenlecleucel in Children and Young Adults with B-Cell Lymphoblastic Leukemia. *The New England journal of medicine*. 2018;378(5):439-48.
8. Cheadle EJ, Gornall H, Baldan V, Hanson V, Hawkins RE, Gilham DE. CAR T cells: driving the road from the laboratory to the clinic. *Immunological reviews*. 2014;257(1):91-106.
9. Pegram HJ, Lee JC, Hayman EG, Imperato GH, Tedder TF, Sadelain M, et al. Tumor-targeted T cells modified to secrete IL-12 eradicate systemic tumors without need for prior conditioning. *Blood*. 2012;119(18):4133-41.
10. Chmielewski M, Kopecky C, Hombach AA, Abken H. IL-12 release by engineered T cells expressing chimeric antigen receptors can effectively Muster an antigen-independent macrophage response on tumor cells that have shut down tumor antigen expression. *Cancer research*. 2011;71(17):5697-706.
11. Zhang C, Liu J, Zhong JF, Zhang X. Engineering CAR-T cells. *Biomarker research*. 2017;5:22.
12. Finney HM, Akbar AN, Lawson AD. Activation of resting human primary T cells with chimeric receptors: costimulation from CD28, inducible costimulator, CD134, and CD137 in series with signals from the TCR zeta chain. *Journal of immunology*. 2004;172(1):104-13.
13. Zhao Y, Tahiliani V, Salek-Ardakani S, Croft M. Targeting 4-1BB (CD137) to enhance CD8 T cell responses with poxviruses and viral antigens. *Frontiers in immunology*. 2012;3:332.
14. Yoon SH, Lee JM, Cho HI, Kim EK, Kim HS, Park MY, et al. Adoptive immunotherapy using human peripheral blood lymphocytes transferred with RNA encoding Her-2/neu-specific chimeric immune receptor in ovarian cancer xenograft model. *Cancer gene therapy*. 2009;16(6):489-97.
15. Brudno JN, Somerville RP, Shi V, Rose JJ, Halverson DC, Fowler DH, et al. Allogeneic T Cells That Express an Anti-CD19 Chimeric Antigen Receptor Induce Remissions of B-Cell Malignancies That Progress After Allogeneic Hematopoietic Stem-Cell Transplantation Without Causing Graft-

Versus-Host Disease. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology*. 2016;34(10):1112-21.

16. Maalej KM, Merhi M, Inchakalody VP, Mestiri S, Alam M, Maccalli C, et al. CAR-cell therapy in the era of solid tumor treatment: current challenges and emerging therapeutic advances. *Molecular cancer*. 2023;22(1):20.

17. Yip A, Webster RM. The market for chimeric antigen receptor T cell therapies. *Nature reviews Drug discovery*. 2018;17(3):161-2.

18. Kochenderfer JN, Dudley ME, Kassim SH, Somerville RP, Carpenter RO, Stetler-Stevenson M, et al. Chemotherapy-refractory diffuse large B-cell lymphoma and indolent B-cell malignancies can be effectively treated with autologous T cells expressing an anti-CD19 chimeric antigen receptor. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology*. 2015;33(6):540-9.

19. Chmielewski M, Abken H. TRUCKs: the fourth generation of CARs. *Expert opinion on biological therapy*. 2015;15(8):1145-54.

20. D'Aloia MM, Zizzari IG, Sacchetti B, Pierelli L, Alimandi M. CAR-T cells: the long and winding road to solid tumors. *Cell death & disease*. 2018;9(3):282.

21. Kobold S, Steffen J, Chaloupka M, Grassmann S, Henkel J, Castoldi R, et al. Selective bispecific T cell recruiting antibody and antitumor activity of adoptive T cell transfer. *Journal of the National Cancer Institute*. 2015;107(1):364.

22. Breman E, Demoulin B, Agaoglu S, Mauensfeld S, Michaux A, Springuel L, et al. Overcoming Target Driven Fratricide for T Cell Therapy. *Frontiers in immunology*. 2018;9:2940.

23. Trapani JA, Darcy PK. Immunotherapy of cancer. *Australian family physician*. 2017;46(4):194-9.

24. Aparicio C, Acebal C, Gonzalez-Vallinas M. Current approaches to develop "off-the-shelf" chimeric antigen receptor (CAR)-T cells for cancer treatment: a systematic review. *Experimental hematology & oncology*. 2023;12(1):73.

25. Caballero AC, Escriba-Garcia L, Alvarez-Fernandez C, Briones J. CAR T-Cell Therapy Predictive Response Markers in Diffuse Large B-Cell Lymphoma and Therapeutic Options After CART19 Failure. *Frontiers in immunology*. 2022;13:904497.

26. Porter DL, Levine BL, Kalos M, Bagg A, June CH. Chimeric antigen receptor-modified T cells in chronic lymphoid leukemia. *The New England journal of medicine*. 2011;365(8):725-33.

27. Grupp SA, Kalos M, Barrett D, Aplenc R, Porter DL, Rheingold SR, et al. Chimeric antigen receptor-modified T cells for acute lymphoid leukemia. *The New England journal of medicine*. 2013;368(16):1509-18.

28. Schuster SJ, Svoboda J, Chong EA, Nasta SD, Mato AR, Anak O, et al. Chimeric Antigen Receptor T Cells in Refractory B-Cell Lymphomas. *The New England journal of medicine*. 2017;377(26):2545-54.

29. Kochenderfer JN, Dudley ME, Feldman SA, Wilson WH, Spaner DE, Maric I, et al. B-cell depletion and remissions of malignancy along with cytokine-associated toxicity in a clinical trial of anti-CD19 chimeric-antigen-receptor-transduced T cells. *Blood*. 2012;119(12):2709-20.

30. Kochenderfer JN, Somerville RPT, Lu T, Yang JC, Sherry RM, Feldman SA, et al. Long-Duration Complete Remissions of Diffuse Large B Cell Lymphoma after Anti-CD19 Chimeric Antigen Receptor T Cell Therapy. *Molecular therapy : the journal of the American Society of Gene Therapy*. 2017;25(10):2245-53.
31. Gisselbrecht C, Glass B, Mounier N, Singh Gill D, Linch DC, Trneny M, et al. Salvage regimens with autologous transplantation for relapsed large B-cell lymphoma in the rituximab era. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology*. 2010;28(27):4184-90.
32. Van Den Neste E, Schmitz N, Mounier N, Gill D, Linch D, Trneny M, et al. Outcomes of diffuse large B-cell lymphoma patients relapsing after autologous stem cell transplantation: an analysis of patients included in the CORAL study. *Bone marrow transplantation*. 2017;52(2):216-21.
33. Rosenberg SA, Yang JC, Sherry RM, Kammula US, Hughes MS, Phan GQ, et al. Durable complete responses in heavily pretreated patients with metastatic melanoma using T-cell transfer immunotherapy. *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research*. 2011;17(13):4550-7.
34. Eshhar Z, Waks T, Gross G, Schindler DG. Specific activation and targeting of cytotoxic lymphocytes through chimeric single chains consisting of antibody-binding domains and the gamma or zeta subunits of the immunoglobulin and T-cell receptors. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 1993;90(2):720-4.
35. Brocker T, Karjalainen K. Signals through T cell receptor-zeta chain alone are insufficient to prime resting T lymphocytes. *The Journal of experimental medicine*. 1995;181(5):1653-9.
36. Maher J, Brentjens RJ, Gunset G, Riviere I, Sadelain M. Human T-lymphocyte cytotoxicity and proliferation directed by a single chimeric TCRzeta /CD28 receptor. *Nature biotechnology*. 2002;20(1):70-5.
37. Brentjens RJ, Santos E, Nikhamin Y, Yeh R, Matsushita M, La Perle K, et al. Genetically targeted T cells eradicate systemic acute lymphoblastic leukemia xenografts. *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research*. 2007;13(18 Pt 1):5426-35.
38. Kochenderfer JN, Wilson WH, Janik JE, Dudley ME, Stetler-Stevenson M, Feldman SA, et al. Eradication of B-lineage cells and regression of lymphoma in a patient treated with autologous T cells genetically engineered to recognize CD19. *Blood*. 2010;116(20):4099-102.
39. Sadelain M. CAR therapy: the CD19 paradigm. *The Journal of clinical investigation*. 2015;125(9):3392-400.
40. Sahai I, Borgman P, Yates B, Rosenzweig S, Rampertaap S, Rankin AW, et al. Incidence of preexisting B-cell aplasia in B-ALL: implications for post-CAR T-cell monitoring. *Blood advances*. 2024;8(24):6329-33.
41. Zhang AQ, Hostetler A, Chen LE, Mukkamala V, Abraham W, Padilla LT, et al. Universal redirection of CAR T cells against solid tumours via membrane-inserted ligands for the CAR. *Nature biomedical engineering*. 2023;7(9):1113-28.

42. Poorebrahim M, Quiros-Fernandez I, Fakhr E, Cid-Arregui A. Generation of CAR-T cells using lentiviral vectors. *Methods in cell biology*. 2022;167:39-69.
43. Appay V, Dunbar PR, Callan M, Klenerman P, Gillespie GM, Papagno L, et al. Memory CD8+ T cells vary in differentiation phenotype in different persistent virus infections. *Nature medicine*. 2002;8(4):379-85.
44. Wherry EJ. T cell exhaustion. *Nature immunology*. 2011;12(6):492-9.
45. Zhao Y, Shao Q, Peng G. Exhaustion and senescence: two crucial dysfunctional states of T cells in the tumor microenvironment. *Cellular & molecular immunology*. 2020;17(1):27-35.
46. Wherry EJ, Kurachi M. Molecular and cellular insights into T cell exhaustion. *Nature reviews Immunology*. 2015;15(8):486-99.
47. Akbar AN, Henson SM. Are senescence and exhaustion intertwined or unrelated processes that compromise immunity? *Nature reviews Immunology*. 2011;11(4):289-95.
48. Leclerc M, Voilin E, Gros G, Cognac S, de Montpreville V, Validire P, et al. Regulation of antitumour CD8 T-cell immunity and checkpoint blockade immunotherapy by Neuropilin-1. *Nature communications*. 2019;10(1):3345.
49. Wherry EJ, Ha SJ, Kaech SM, Haining WN, Sarkar S, Kalia V, et al. Molecular signature of CD8+ T cell exhaustion during chronic viral infection. *Immunity*. 2007;27(4):670-84.
50. Sacchetti B, Botticelli A, Pierelli L, Nuti M, Alimandi M. CAR-T with License to Kill Solid Tumors in Search of a Winning Strategy. *International journal of molecular sciences*. 2019;20(8).
51. Zeng S, Shen WH, Liu L. Senescence and Cancer. *Cancer translational medicine*. 2018;4(3):70-4.
52. Yu S, Yi M, Qin S, Wu K. Next generation chimeric antigen receptor T cells: safety strategies to overcome toxicity. *Molecular cancer*. 2019;18(1):125.
53. Bonifant CL, Jackson HJ, Brentjens RJ, Curran KJ. Toxicity and management in CAR T-cell therapy. *Molecular therapy oncolytics*. 2016;3:16011.
54. Blaesche F, Stenger D, Apfelbeck A, Cadilha BL, Benmebarek MR, Mahdawi J, et al. Augmenting anti-CD19 and anti-CD22 CAR T-cell function using PD-1-CD28 checkpoint fusion proteins. *Blood cancer journal*. 2021;11(6):108.
55. Rafiq S, Yeku OO, Jackson HJ, Purdon TJ, van Leeuwen DG, Drakes DJ, et al. Targeted delivery of a PD-1-blocking scFv by CAR-T cells enhances anti-tumor efficacy in vivo. *Nature biotechnology*. 2018;36(9):847-56.
56. Daver N, McClain K, Allen CE, Parikh SA, Otroock Z, Rojas-Hernandez C, et al. A consensus review on malignancy-associated hemophagocytic lymphohistiocytosis in adults. *Cancer*. 2017;123(17):3229-40.
57. Zu C, Wu S, Zhang M, Wei G, Xu H, Cui J, et al. A distinct cytokine network distinguishes chimeric antigen receptor T cell (CAR-T)-associated hemophagocytic lymphohistiocytosis-like toxicity (carHLH) from severe cytokine release syndrome following CAR-T therapy. *Cytotherapy*. 2023;25(11):1167-75.
58. Zu C, Wang K, Zhang Q, Hu Y, Huang H. Clinical features of hemophagocytic syndrome following BCMA CAR-T cell therapy in patients with relapsed/refractory multiple myeloma.

Zhejiang da xue xue bao Yi xue ban = Journal of Zhejiang University Medical sciences. 2022;51(2):160-6.

59. Xu X, Sun Q, Liang X, Chen Z, Zhang X, Zhou X, et al. Mechanisms of Relapse After CD19 CAR T-Cell Therapy for Acute Lymphoblastic Leukemia and Its Prevention and Treatment Strategies. *Frontiers in immunology*. 2019;10:2664.

60. Brudno JN, Kochenderfer JN. Toxicities of chimeric antigen receptor T cells: recognition and management. *Blood*. 2016;127(26):3321-30.

61. Santomaso BD, Park JH, Salloum D, Riviere I, Flynn J, Mead E, et al. Clinical and Biological Correlates of Neurotoxicity Associated with CAR T-cell Therapy in Patients with B-cell Acute Lymphoblastic Leukemia. *Cancer discovery*. 2018;8(8):958-71.

62. Davila ML, Brentjens R, Wang X, Riviere I, Sadelain M. How do CARs work?: Early insights from recent clinical studies targeting CD19. *Oncoimmunology*. 2012;1(9):1577-83.

63. Luo J, Zhang X. Challenges and innovations in CAR-T cell therapy: a comprehensive analysis. *Frontiers in oncology*. 2024;14:1399544.