

INMUNOTERAPIA DE CÉLULAS T CON CAR PARA EL TRATAMIENTO DEL CÁNCER

Ariza Orozco Paula, Durán Epieyú Kendris, Macías De La Puente Maria¹; Carranza López Liliana².

Introducción

Los progresos científicos en biotecnología celular y molecular de los últimos 15 años han llevado al desarrollo de la terapia génica con células T con receptor de antígeno quimérico (CART).

El uso de células T con receptor de antígeno quimérico (T CAR) es un nuevo tipo de tratamiento emergente clasificado entre las inmunoterapias de transferencia de células adoptivas (ACT, por sus siglas en inglés). Este receptor contribuye a la detección de los antígenos malignos específicos sobre la membrana de las células cancerígenas y la destrucción de estas, que, junto a la quimioterapia, permiten un tratamiento antitumoral efectivo.

Palabras clave: T-car, inmunoterapia, linfocitos, cáncer, genética.

Inmunoterapia

El sistema inmunitario es un complejo de células, tejidos, órganos y proteínas encargado de la vigilancia y protección de nuestro organismo contra elementos extraños, mediante una serie de reacciones y pasos conocidos como respuesta inmunitaria. Las células que forman parte del sistema inmune son llamados leucocitos los cuales se encuentran formados por fagocitos y leucocitos (T y B), estos últimos son producidos en la médula ósea y permanecen allí hasta que maduran para convertirse en linfocitos B o bien desplazados hasta la glándula del timo, en donde maduran para

convertirse en linfocitos T(1).

Cuando el sistema inmunológico se encuentra totalmente funcional y competente, las células de defensas circulan por todo el organismo buscando cuerpos u organismos extraños que puedan perjudicarlo, esto lo hacen mediante el uso de receptores que les permiten reconocer lo extraño de lo propio, cuando estos se encuentran con algún elemento extraño o invasor actúan unas células inmunitarias especiales para destruirlo, estas células reciben el nombre de células T citotóxicas. Pero desafortunadamente existen células que tiene la capacidad de evadir estas respuestas inmunitarias como lo son las células del cáncer, están son capaces de ocultarse del sistema inmune para no ser detectadas, lo que les permite desarrollarse o proliferar de manera descontrolada, permitiéndoles que se multipliquen de manera autónoma y adquieran la capacidad de invadir otros tejidos(2,3).

Es aquí donde juega un papel importante el tratamiento del cáncer haciendo uso de la inmunoterapia con transferencia adoptiva celular, cuyo objetivo es reforzar la capacidad natural de las células T para combatir el cáncer, dándole a estas la capacidad de reconocer y destruir las células de cáncer(4), existen varios tipos de transferencia celular adoptiva ("ACT: TIL, TCR y CAR").

La terapia celular adoptiva (ACT) tiene di-

1 Universidad Libre Barranquilla, Semillero Sigma, Grupo IMB. Estudiantes

2 Universidad Libre Barranquilla, Semillero Sigma, Grupo IMB. Profesora lilianap.carranza@unilibre.edu.co

versas ventajas en comparación con otros tipos de inmunoterapia contra el cáncer que se basan en el desarrollo activo in vivo de un número suficiente de células T antitumorales con las funciones necesarias para mediar la regresión del cáncer(5). Para el uso de ACT se requieren grandes cantidades de linfocitos antitumorales (hasta 10¹¹) que pueden cultivarse fácilmente in vitro y seleccionarse para el reconocimiento de alta avidéz del tumor, así como para las funciones efectoras requeridas para mediar la regresión del cáncer. La activación in vitro permite que dichas células liberen los factores inhibitorios que existen in vivo.(6)

La inmunoterapia de células T con receptor antigénico quimérico (CAR-T) consiste en la extracción de sangre del paciente neoplásico y la posterior separación y modificación de sus linfocitos T(7). Las células T-CAR actúan de manera independiente del HLA y a su vez poseen una gran capacidad de identificar o reconocer de manera eficiente antígenos de superficie.

Los CAR con receptores sintéticos conformados por tres dominios: un dominio de unión a un objetivo específico de antígeno extracelular derivado del fragmento variable de cadena única (scFv) de un anticuerpo, una bisagra y un segmento transmembrana generalmente derivado de CD 8 α o IgG4 así como un dominio intracelular. Este último da cuenta de la señalización intracelular y medía las señales de activación y estimulación de las células T que expresan CAR. Las células T están diseñadas genéticamente para expresar CAR mediante vectores virales (retrovirales, lentivirales, adenovirales) o no virales (electroporación, basados en transposones o de edición de genes). Los CAR expresados en las células T comparten las propiedades de unión a antígeno de un anticuerpo con la función activado-

ra, efectora y a largo plazo de una célula T. A diferencia de los anticuerpos monoclonales, las células T CAR no dependen de jugadores adicionales del sistema inmune para destruir la célula objetivo y no se ven comprometidas por una corta persistencia in vivo(8,9).

Historia

En 1990, se comenzaron a realizar los primeros estudios preclínicos de las células CAR T para el tratamiento del cáncer, en un principio de ovario. En 2003, se publicaron los primeros estudios preclínicos que demostraron la actividad, tanto in vitro como in vivo, de las células CAR T dirigidas al antígeno CD19. En el 2010, se publicaron los primeros reportes sobre la actividad anticáncer de las células CAR T contra el antígeno CD19, en el cual se describió el caso de un paciente con linfoma folicular con múltiples recaídas tratado en el Instituto Nacional del Cáncer de EEUU. A este se le administró un régimen de quimioterapia consistente en fludarabina y ciclofosfamida y, posteriormente, se le añadió una infusión de células T autólogas, las cuales expresaron un CAR anti-CD19. Luego de la administración de las células, se suministró interleucina 2(IL-2) en altas dosis. Los resultados del tratamiento fueron bastante prometedores: en primera instancia alcanzó una remisión parcial de una duración de 7 meses; posteriormente con la administración del mismo tratamiento se logró otra remisión parcial, permaneciendo durante 7 años libre de progresión, aunque no recibió más dosis de células CAR T. A pesar de que el paciente sufrió una aplasia de células B prolongada a causa de la muerte de todas las células que presentaran el antígeno CD19, no tuvo ninguna toxicidad crónica. También observaron éxito con el trasplante de células madre alogénicas en cuatro pacientes con linfomas de células B refractario, siguiendo el mismo procedi-

miento clínico. Esto sirvió para dar paso a conclusiones sobre el posible funcionamiento de este tratamiento no solo para masa de linfoma, sino también para otras hemopatías malignas.(10) Primeramente el desarrollo de este tratamiento fue usado en pacientes pediátricos con leucemia linfoblástica aguda en Children's Hospital of Philadelphia donde el 80% de los niños con dicho cáncer de predominio de linfocitos B obtuvieron una remisión completa del cáncer gracias a este tratamiento y sesiones intensas de quimioterapias. Este grupo se sometió a una prueba con células CAR T, las cuales reconocían específicamente CD19, antígeno que se expresa con gran cantidad en los linfocitos B tumorales. Los resultados fueron bastante gratificantes, de los 30 pacientes que se trataron 27 presentaron una respuesta completa al tratamiento. Además, muchos de estos pacientes no presentaron signos de recaídas de la enfermedad mucho tiempo después del tratamiento(11,12,13).

Debido al éxito de este tratamiento se logró llevar a cabo un ensayo más extenso de una terapia de celular T-CAR llamada Tisagenlecleucel (Kymriah™) para niños y adolescentes que presentaran LLA. Gracias a esta prueba, muchos pacientes alcanzaron una respuesta completa y prolongada, lo que dio paso a la aprobación de dicho tratamiento por la FDA en agosto del 2017(14,15).

¿Como Se Hace?

El proceso de fabricación de las T-CAR varían entre las diferentes plataformas terapéuticas y el fenotipo del producto final representando una variable crítica que puede aumentar o disminuir la potencia de la terapia¹⁶. Para explicar el proceso de fabricación de las células T-CAR dividiremos el proceso en los siguientes pasos:

1. **Recolección de células T del paciente.** Esta es realizada mediante leucoferesis en la cual se extraen los linfocitos T que serán modificados genéticamente.
2. **Elección del antígeno y expresión del receptor quimérico.** Consiste en la selección del antígeno objetivo es decir seleccionar las células que queremos que los T-CAR destruyan, para esto se debe buscar antígenos específicos del tumor objetivo. Una vez seleccionado el antígeno y diseñado el receptor quimérico de linfocito T, introducimos la información genética de este último en el linfocito para que este empiece a fabricar y producir estos nuevos receptores.
3. **Cultivo y expansión de las células TCAR invitro.** Las células Tcar modificadas genéticamente para expresar las CAR se expande invitro en medios de cultivo especiales que contienen citocinas de cadena gamma conocidas como IL-2. Generándose miles de copias de células TCAR terapéuticas, este paso es de vital importancia ya que presenta un gran impacto en la potencia y eficacia del tratamiento.
4. **Infusión de las nuevas células TCAR al paciente.** Las células TCAR son infundidas en el paciente para que estas se multipliquen dentro de él, para que con ayuda del nuevo receptor CAR sean capaces de reconocer las células cancerígenas y destruirlas, con ayuda de las quimioterapias(17,18).

Efectos Secundarios De La Inmunoterapia Con Car

Los efectos no deseados se presentan de-

bido a la dosis administrada y la persistencia de las células CAR T, incluso a la carga tumoral. Los principales efectos adversos son:

- **Síndrome de Liberación de Citocinas.** Es el efecto no deseado más frecuente de todos. Se debe a una fuerte y rápida activación de las células T, que genera un aumento de su proliferación; de esta manera, se genera un aumento de la producción de citocinas como: interferón γ , IL 2, IL 6 y 10.

La IL 6, es una de las citocinas inflamatorias de más importancia, no solo en el proceso fisiopatológico de este efecto adverso, sino también en numerosas reacciones inflamatorias del cuerpo. Se ha demostrado un pico concentración cuando las células CAR T se encuentran en su máximo nivel de proliferación, lo que contribuye a la iniciación de una cascada de señalización proinflamatoria. Como esta IL favorece la formación de la proteína C reactiva en el hígado, suele ser utilizada para el monitoreo y seguimiento de este síndrome en los pacientes que lo padecen.

Este síndrome genera un cuadro clínico que se inicia días después del inicio de la terapia con células CAR T y que suele asemejar a un síndrome infeccioso, con sintomatología consistente en taquicardia, hipotensión, fatiga, náuseas, disnea, hipoxia, entre otros. El manejo se centra en el uso de inmunosupresores como los corticosteroides, ya que el manejo sintomático con analgésicos y líquidos endovenosos no soluciona la complicación de base(19,20).

- **Aplasia de las Células B.** El CD19 se regula positivamente cuando las células B se encuentran en las primeras etapas de su formación y continúa expresándose a lo largo de su linaje; en la única etapa en que no continúa en las células es cuando estas se diferencian en células plasmáticas. Por lo tanto, como las células CAR T actúan contra este receptor, es inevitable que como efecto secundario de la terapia se produzca una depleción de las células B endógenas que puede derivar en una hipogammaglobulinemia, lo que aumenta la probabilidad de adquirir infecciones graves y conduce a un gran riesgo para la vida del paciente.)(21)
- **Síndrome de Lisis Tumoral.** Se debe a un aumento de la liberación de productos derivados de la muerte celular por la lisis de células tumorales, que como consecuencia ocasiona una alteración metabólica que, en los casos más graves, genera insuficiencia renal aguda y puede llevar a la muerte. Estos pacientes son de especial cuidado y requieren soporte hemodinámico con líquidos endovenosos. También existen otros daños deletéreos para la salud generados por este tratamiento, como la neurotoxicidad que genera confusión, delirio, afasia, convulsiones y coma, además se reportan casos de anafilaxia debido a que las CAR poseen anticuerpos derivados del roedor murino(22,23). A pesar de que existe el riesgo de padecer alguno de estos efectos, la ciencia no se ha detenido para tratar de mitigarlos, un ejemplo de esto es la implementación de

ARNm para la transferencia de genes, que reemplazaría los métodos virales y limitaría la vida media de las células CAR y el consiguiente riesgo de generar alguno de los efectos adversos. También se ha descrito un compuesto bivalente que mejora las propiedades de seguridad, fue experimentado en ratones que presentaban un tumor epitelial en presencia del factor del crecimiento epidérmico. (24-25)

Metodología

Se realizó una búsqueda sistemática exhaustiva en base de datos como: PubMed, NHI, LILACS BVS; filtrando a través de las palabras: T-car, inmunoterapia, linfocitos, cáncer, genética. A demás de esto también se tomó en cuenta filtrar por año para solo tener en cuenta información reciente.

Conclusión

El largo y sinuoso camino de la inmunoterapia nos ha llevado recientemente a éxitos. La transferencia adoptiva de células T CAR representa una estrategia terapéutica valiosa y atractiva que en un futuro cercano tendrá el potencial de aportar nuevas perspectivas a la inmunoterapia del cáncer y en general, proporcionar una nueva visión en el campo de tratamiento de la enfermedad. Mientras que los ensayos clínicos con CARs de primera generación mostraron un efecto antitumoral bastante modesto, dichos ensayos establecieron factibilidad, seguridad y más importante, allanaron el camino para nuevas mejoras de la función CAR, resultando en la ingeniería de segunda y tercera generación de CARs.

Referencias Bibliográficas

1. TeensHealth. El sistema inmunitario. [internet] disponible en: <https://kidshealth.org/es/teens/immune-esp.html> . Acceso septiembre 10 de 2019.
2. Greg Guthrie. Cáncer.net. Inmunoterapia de células T con CAR: el Avance del año 2018. [internet] disponible en: <https://www.cancer.net/es/blog/2018-02/inmunoterapia-de-células-t-con-car-el-avance-del-año-2018> . Acceso septiembre 10 de 2019.
3. Joel de León, Arturo Pareja. LILACS BVS. Inmunología del cáncer II: bases moleculares y celulares de la carcinogénesis. [internet] disponible en <https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/es/biblio-1007186> . Acceso septiembre 10 de 2019
4. NHI: Instituto nacional del cáncer. [internet] disponible en: <https://www.cancer.gov/espanol/cancer/tratamiento/tipos/inmunoterapia#3> . Acceso septiembre 10 de 2019
5. NHI: Instituto nacional del cáncer. Células T y CAR: manipulación de células inmunitarias de pacientes para tratar sus cánceres. [internet] disponible en: <https://www.cancer.gov/espanol/cancer/tratamiento/investigacion/celulas-t-y-car> . Acceso septiembre 10 de 2019
6. Steven A. Rosenberg y Nicholas P. Restifo. Pubmed.Transferencia celular adoptiva como inmunoterapia personalizada para el cáncer humano. [internet] disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6295668/> . Acceso septiembre 12 de 2019
7. Lina María Martínez-Sánchez, Luis Felipe Álvarez-Hernández, Mariana Roldán-Isaza. Revista cubana de hematología, inmunología y hemoterapia. Células T CAR: proeza que traspasa los avances en el tratamiento de las hemopatías malignas. [internet] disponible en: <http://www.revhematologia.sld.cu/index.php/>

- hih/article/view/923/820 . Acceso septiembre 12 de 2019.
8. Schubert ML , Hoffmann JM , Dreger P , Müller-Tidow C, Schmitt .Pub-Med. Células T transducidas por el receptor de antígeno quimérico: sintonización para la próxima generación. [internet] disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29119551> . Acceso septiembre 13 de 2019.
 9. Varghese AM. PubMed. Receptor de antígeno quimérico (CAR) T y otras estrategias de células T para el adenocarcinoma de páncreas. [internet] disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29156888> . Acceso septiembre 13de 2019.
 10. Brudno JN, Kochenderfer JN. Pub-Med. Chimeric antigen receptor T-cell therapies for lymphoma. [internet] disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28857075> . Septiembre 13-14 de 2019.
 11. Jackson HJ, Rafiq S, Brentjens RJ. PubMed. Driving CAR T-cells forward. [internet] disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27000958>. Acceso septiembre 15 de 2019.
 12. Avanzi MP, Brentjens RJ. PubMed. Emerging Role of CAR T Cells in Non-Hodgkin's Lymphoma. [internet] disponible: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29118234>. Acceso septiembre 15 de 2019.
 13. Ghosh A, Smith M, James SE. Pub-Med. Donor CD19 CAR T cells exert potent graft-versus-lymphoma activity with diminished graft-versus-host activity. [internet] disponible: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28067900> . Acceso septiembre 15 de 2019.
 14. Maude SL, Frey N, Shaw PA. Pub-Med. Chimeric antigen receptor T cells for sustained remissions in leukemia. [internet] disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25317870> . Acceso septiembre 15 de 2019
 15. Prasad V. PubMed. Immunotherapy: Tisagenlecleucel - the first approved CAR-T-cell therapy: implications for payers and policy makers. [internet] disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28975930> . Acceso septiembre 15 de 2019.
 16. David Akhavan Darya Alizadeh Dongrui Wang. Wiley Online Library. [internet] disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/imr.12773?sid=nlm%3Apubmed> . Acceso septiembre 16 de 2019
 17. NIH. terapia de células T con CAR. [internet] disponible en: <https://www.cancer.gov/espanol/publicaciones/diccionario/def/terapia-de-celulas-t-con-car> . Acceso septiembre 16 de 2019.
 18. Dciencia. La inmunoterapia CAR T: nuevas armas frente al cáncer. [internet] disponible en: <https://www.dciencia.es/la-inmunoterapia-car-t-nuevas-armas-frente-al-cancer/> . Acceso septiembre 16 de 2019
 19. Badiyan ZS, Hoseini SS. PubMed. Adverse Effects Associated with Clinical Applications of CAR Engineered T Cells. [internet] disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29427174> . Acceso septiembre 17 de 2019.
 20. Lee DW, Gardner R, Porter DL. Pud-Med.
 21. 28. Paszkiewicz PJ, Fräßle SP, Srivastava S, Sommermeyer D, Hudecek M, Drexler I, et al. Targeted antibody-mediated depletion of murine CD19 CAR T cells permanently reverses B cell aplasia. J Clin Invest. 2016;126(11):4262-4272. doi: 10.1172/JCI84813
 22. Revista Cubana de Hematología, In-

- munol y Hemoter. 2018;34(3) <http://scielo.sld.cu> 50-59. Curran KJ, Pegram HJ, Brentjens RJ. Chimeric antigen receptors for T cell immunotherapy: current understanding and future directions. *J Gene Med.* 2012;14(6):405-15. doi: 10.1002/jgm.2604.
23. Albert S, Arndt C, Koristka S, Berndt N, Bergmann R, Feldmann A, et al. From mono- to bivalent: improving theranostic properties of target modules for redirection of UniCAR T cells against EGFR-expressing tumor cells in vitro and in vivo. *Oncotarget.* 2018;9(39):25597-616. doi:10.18632/oncotarget.25390.
24. Zhao Y, Moon E, Carpenito C, Paulos CM, Liu X, Brennan AL, et al. Multiple injections of electroporated autologous T cells expressing a chimeric antigen receptor mediate regression of human disseminated tumor. *Cancer Res.* 2010; 70(22):9053-61. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-10-2880.
25. https://www.abc.es/salud/enfermedades/abci-clave-para-inmunoterapia-cure-primer-paciente-leucemia-linfatica-cronica-201805302204_noticia.html