

Linfocitos T CAR como tratamiento de malignidades hematológicas

Hematological malignancies treatment with Chimeric Antigen Receptor T cells

(CAR-T)

Marianela Amador-Araya⁽¹⁾, Diego Molina-Leiva⁽²⁾.

⁽¹⁾ Laboratorio Clínico Área de Salud Coronado

⁽²⁾ Laboratorio Clínico Hospital San Juan de Dios

Correspondencia: dmolinaleiva@gmail.com

Resumen

Los linfocitos T con receptor de antígeno quimérico (CAR) han demostrado ser una prometedora terapia contra las malignidades hematológicas y algunos tumores sólidos refractarios al tratamiento tradicional disponible. Desde su descubrimiento hace casi 30 años los esfuerzos se han enfocado en determinar su potencial clínico y el riesgo asociado a su uso. En la actualidad se realizan cientos de investigaciones contra diversas patologías, en especial las malignidades hematológicas refractarias o en recaída. En el presente artículo se exponen los resultados de los principales estudios clínicos con el fin evidenciar y dar a conocer su eficacia; con un enfoque especial en los linfocitos T CAR anti CD19 empleados para tratar linfomas B no Hodgkin y leucemia linfoblástica B, que recientemente recibieron aprobación de la FDA.

Abstract

T lymphocytes with chimeric antigen receptor (CAR) have been shown to be a promising therapy against refractory or relapsed hematological malignancies as well as some refractory solid tumors. Since its discovery almost 30 years ago, efforts have focused on determining its clinical potential and the risk associated with its use. In the present times hundreds of investigations are carried out against various pathologies, especially refractory or relapsed hematological malignancies that no longer have another therapeutic alternative. In this paper, we present the results of the main clinical studies in order to exhibit their effectiveness; especially anti CD19 CAR T lymphocytes that recently received approval from the FDA for non-Hodgkin's B-lymphomas and B-lymphoblastic leukemia.

Introducción

En la actualidad existen gran cantidad de investigaciones para implementar el uso clínico de estos linfocitos como tratamiento para diversas malignidades. Hasta octubre del 2018, se encuentran registrados 414 ensayos clínicos que utilizan los linfocitos T CAR como terapia; de éstos más de 200 buscan implementarlos para combatir malignidades hematológicas ⁽¹⁾.

Ensayos clínicos de los linfocitos T CAR como tratamiento en síndromes linfoproliferativos.

En los síndromes linfoproliferativos B es donde se han enfocado la mayor cantidad de investigaciones y ensayos clínicos obteniendo respuestas muy prometedoras. En 2010, Kochenderfer, *et al.* publicaron los resultados del primer paciente con linfoma folicular tratado con linfocitos T CAR anti-CD19 de su estudio clínico, reportando una remisión parcial durante 39 semanas y la presencia de células quiméricas activas. Con base a los resultados obtenidos de los primeros ensayos clínicos realizados entre 2012 y 2014, el 1 de julio del 2014 (25 años después de los descubrimientos de Gross *et al.* la FDA aprobó los CLT019 (linfocitos T CAR anti-CD19 de segunda generación con CD137 como señal coestimuladora) de Novartis en conjunto con la Universidad de Pensilvania como “fármaco experimental” lo que ha permitido agilizar el desarrollo y revisión de nuevos ensayos clínicos que utilizan éstas células ^(2,3,4).

En una revisión de los estudios clínicos publicados entre 2010-2014 por la American Society of Hematology, American Society of Clinical Oncology y European Hematology Association que incluían ensayos realizados por la Universidad de Pensilvania, el Memorial Sloan-Kettering Cancer Center, el National Cancer Institute y el Baylor College of Medicine. Entre todos, se trataron 50 pacientes con malignidades linfoproliferativas B en recaída o refractarias a tratamiento (23 pacientes con LLC y 27 con LNH); logrando remisión completa en el 24% de los pacientes, una parcial en el 24%, el 32% se mantuvo con enfermedad estable y solo un 12% de los pacientes progresaron a enfermedad agresiva. La sobrevida libre de enfermedad global para todos los casos fue de 43% a los 6 meses y de 27% a los 12 meses ⁽⁵⁾.

En el 2012 Kochenderfer, *et al.* utilizaron linfocitos T CAR anti-CD19 de segunda generación, posterior a régimen mieloablatoivo con ciclofosfamida y fludarabina, para tratar pacientes con LLC y linfoma folicular refractarios a terapias previas. Ellos lograron remisiones en 6 de los 8 pacientes tratados (1 con remisión completa y 5 con remisión parcial); 1 de los pacientes que no respondió a la terapia se le infundió otra dosis de linfocitos T CAR y obtuvo una respuesta parcial ⁽⁶⁾.

Precisamente el grupo de Kochenderfer alcanzó mayor efectividad en ensayos posteriores en casos de síndromes linfoproliferativos. En 2015, trataron 15 pacientes (9 con linfoma difuso de células grandes B, 4 con LLC, 1 con linfoma esplénico de zona marginal y 1 con linfoma de células B primario de mediastino); con linfocitos T CAR anti-CD19 de segunda generación. De los sujetos con linfoma de células grandes B, 2 obtuvieron respuestas

parciales y 1 continua con enfermedad estable; mientras que los 6 pacientes con otras malignidades B todos tuvieron respuestas parciales o completas ⁽⁷⁾.

En esta investigación además, se logró demostrar la presencia de linfocitos T CAR en los nódulos linfáticos de pacientes con masa *Bulky*, comprobando la migración hacia el sitio tumoral y evidenciaron la variación del fenotipo que sufren los linfocitos T CAR a través del tiempo posterior a la infusión, pues la dosis inicial contenía altos porcentajes de Tcm y al día 15 la cantidad de linfocitos T CAR aumento más de 10 veces la dosis inicial con porcentaje de Tcm inferior y un aumento de células efectoras demostrando el efecto citotóxico ⁽⁷⁾.

Como parte de los protocolos realizados con las células CTL019 de la casa Novartis, Porter *et al.* publicaron en setiembre del 2015, los resultados del estudio clínico en 14 pacientes con LLC refractarias o en recaída (cada paciente había recibido una media de 5 terapias previas sin éxito). Utilizaron un régimen de acondicionamiento con fludarabina y ciclosfosfamida en 3 pacientes, pentostaina con ciclofosfamida en 5 pacientes y bendamustina en 6 pacientes antes de la infusión de las células modificadas. Ellos obtuvieron un 57% de respuesta a la terapia (4 pacientes con remisión completa y sin recaídas por 40 meses y 4 casos con remisión parcial durante 7 meses); por lo que la sobrevida media fue de 29 meses y la sobrevida libre de enfermedad fue de 29%. El grupo no encontró relación entre el estado de la enfermedad, número de terapias previas, género, cariotipo, o régimen de acondicionamiento con respecto a la efectividad de la terapia, pero lograron demostrar la correlación con la proliferación in vivo de las células CLT019, donde en los pacientes con remisión completa mantenían células quiméricas incluso 4 años después del tratamiento ⁽⁸⁾.

En mayo del 2015, Levine y colaboradores presentaron en el 21º encuentro anual de la International Society for Cellular Therapy, los resultados preliminares de un estudio fase IIa con células CTL019 (Novartis y Universidad de Pensilvania) en 30 pacientes con Linfoma no Hodgkin (incluyeron linfoma folicular, linfoma del manto y linfoma difuso de células grandes B) sin otras opciones de tratamiento curativas; de los cuales sólo 19 recibieron la terapia con CTL019. En el estudio reportaron una respuesta global del 63% con 8 pacientes en remisión completa y 2 con remisión parcial por más de 3 meses ⁽⁹⁾.

En resumen, los diversos estudios clínicos muestran resultados muy alentadores con respuestas que superan el 50% para pacientes con múltiples terapias previas fallidas y para los cuales las opciones terapéuticas restantes son escasas o nulas. La sobrevida de los pacientes con algún tipo de respuesta se ha logrado prolongar 2 años en promedio con respecto a los que no responden para los diferentes síndromes linfoproliferativos ^(6, 7, 8, 9).

Posteriormente, en otro ensayo con los CTL019 en 28 pacientes con linfoma folicular y linfoma B difuso de células grandes refractarios al tratamiento de primera y segunda línea una respuesta global del 63% con un 43% de remisión completa para los pacientes con linfoma B difuso de células grandes y 71% para el linfoma folicular. Dicha remisión completa se mantuvo por más de 28 meses de seguimiento del estudio en más del 85% de los pacientes.

En dicho estudio se presentaron 5 casos de síndrome de liberación de citoquinas severo y 1 una muerte asociada a encefalopatía relacionada a T CAR ⁽¹⁰⁾.

Los resultados obtenidos con los CTL019 demostraron una alta tasa de remisión completa duradera en síndromes linfoproliferativos refractarios en el estudio JULIET realizado en 10 países con 147 pacientes con respuestas globales superiores al 50% y remisión completa a los 6 meses en más del 30% de los pacientes lo que conllevó a que en agosto del 2017 la FDA aprobará su uso en pacientes con LLA-B y recientemente en mayo del 2018 para pacientes con linfoma B difuso de células grandes y linfoma folicular bajo el nombre Kymriah (tisagenlecleucel) y un costo por tratamiento aproximado de \$475000 ^(10, 11, 12).

Actualmente también se encuentra con aprobación de la FDA en los Estados Unidos los linfocitos T CAR Yeskarta (axicabtagene ciloleucel) de la compañía Kite Pharma, los cuales son linfocitos T CAR anti CD19 autólogos y cuyo uso solo está autorizado en linfomas No Hodgkin refractarios a dos líneas de tratamiento previo. El estudio ZUMA-1 que lo respalda utilizó 7 pacientes donde se desarrolló remisión completa en el 57% de los casos ^(13,14).

Con respecto al linfoma Hodgkin, no se han presentado muchos estudios sin embargo dos de los más prometedores se encuentran en fase 1. El primero con 7 pacientes y utiliza linfocitos T CAR anti CD30 de segunda generación, el resultado preliminar informa de una respuesta completa y una respuesta parcial y sin reporte de reacciones adversas importantes. En el segundo estudio utilizó 17 pacientes con Linfoma Hodgkin y se presentó respuesta parcial en el 40% de los casos ⁽¹⁵⁾.

Ensayos clínicos de los linfocitos T CAR como tratamiento de mieloma múltiple

El uso de estos linfocitos también se ha incorporado como opción terapéutica para mieloma múltiple (MM) en varios ensayos clínicos y preclínicos. Se ha investigado diversos antígenos blanco presentes en las células plasmáticas (CP) así como la utilización del receptor CAR incorporado en células NK. La implementación de células NK con receptor T CAR se ha utilizado en MM para evitar las complicaciones de la tormenta de citoquinas, el síndrome de lisis tumoral y otros efectos secundarios dados por la activación de los linfocitos T CAR. Uno de los blancos que se investigan es la glicoproteína de superficie 1 (CS-1), que se expresa en altas cantidades en las células mielomatosas y en muy pocas cantidades en células normales. Chu *et al.*, utilizaron un receptor T CAR de segunda generación incorporadas a células NK; y señalaron una respuesta NK con mayor citotoxicidad y producción de INF- γ que potencia la acción de linfocitos T CD8⁺ endógenos y macrófagos con gran efectividad contra diversas líneas celulares de MM in vitro y en modelos murinos ⁽¹⁶⁾.

El potencial de las células NK con receptores CAR también se ha estudiado contra el CD138⁺. Jiang *et al.*; demostraron un aumento en la citotoxicidad de las NK modificadas acompañado de aumentos significativos en la secreción de granzina B, IFN- γ y fuerte

expresión del CD107a (marcador de activación y degranulación de las células NK) cuando se enfrentaron a CP patológicas de 5 pacientes *in vitro* ⁽¹⁶⁾.

En 2015, se publicaron los resultados de los primeros ensayos clínicos en humanos utilizando los linfocitos T CAR contra MM. En China, Guo, *et al.* trataron 4 pacientes con MM y 1 con leucemia de células plasmáticas refractaria a quimioterapia (15-18 esquemas de tratamiento previo) con linfocitos T CAR anti-CD138. Midieron la persistencia de las células modificadas tanto en sangre periférica como en médula ósea, encontrando un pico a los 10 días post infusión y altos número de copias de genes CAR durante al menos 4 semanas en todos los casos. Además, obtuvieron respuesta y regresión del mieloma en 4 pacientes con disminución del componente monoclonal y manteniendo la enfermedad estable por un período promedio de 5 meses. Sin embargo, destacan que a pesar del elevado número de linfocitos T CAR, la cantidad de CP patológicas en médula ósea no disminuyó significativamente; entre las razones que podrían explicar el descenso en la efectividad (pues *in vitro* se demostró citotoxicidad con las células de cada paciente) son la alta viscosidad sanguínea debido al aumento de la IgG, la presencia de múltiples sitios tumorales pequeños que dificultan la localización, cambios en la expresión del CD138 en las células tumorales y el ambiente de citoquinas en el tumor que afectan la activación de los linfocitos T CAR ⁽¹⁷⁾.

Otro antígeno blanco que ha demostrado importancia en el tratamiento del MM con estas células T CAR corresponde al CD19; a pesar de tener expresión en células mielomatosas limitada. Se han realizado ensayos clínicos utilizando las CLT019 de Novartis y en el 21º encuentro anual de la International Society for Cellular Therapy, Garfall *et al.* presentaron los resultados en 4 pacientes (3 con MM y 1 con leucemia de CP). Al día 100 reportaron enfermedad mínima residual (EMR) negativa en 2 casos y progresión de la enfermedad en un tercero (datos del cuarto paciente no fueron reportados) ⁽¹⁸⁾.

Posteriormente, este grupo publicó con mayor detalle el caso clínico de uno de los individuos que logró tener EMR negativa. La biopsia al momento de iniciar el ensayo mostraba un 95% de infiltración con cariotipo complejo. En este ensayo, se utilizaron altas dosis de melfalán como acondicionamiento seguido de una infusión de células madre autólogas y a los 12 días la infusión de las CTL019. Antes de iniciar el estudio los niveles de IgA se encontraban en 6000mg/dl, los cuales disminuyeron a 3000mg/dl a los 10 días post infusión de las células madre hematopoyéticas y posterior a la infusión de las CTL019 continuaron disminuyendo hasta niveles indetectables. A los 100 días la biopsia de médula ósea mostraba una celularidad del 1 al 2%, sin CP, con EMR negativa (menos de 1 célula neoplásica en 3.11×10^6 células estudiadas) cumpliendo todos los criterios de fuerte respuesta completa de la clasificación del International Myeloma Working Group (IMWG) Al momento de la publicación de este caso, ellos ya han tratado a 10 pacientes y reportan que 6 de ellos se mantienen libres de progresión de la enfermedad ⁽¹⁹⁾.

En 2016, Alí *et al.* utilizaron linfocitos T CAR anti BCMA (antígeno de maduración de células B) de segunda generación en 12 pacientes con mieloma refractario (con 7 líneas de

tratamiento) obteniendo repuesta parcial en 1 paciente (3 semana de duración) y respuesta completa en otro (5 meses de duración) ⁽²⁰⁾.

Ensayos clínicos de los linfocitos T CAR como tratamiento en leucemia linfocítica aguda

Los linfocitos T CAR también se encuentran en investigación para tratar leucemia linfocítica aguda (LLA), mostrando excelentes resultados en los primeros ensayos clínicos publicados. En el 2015, se publicó un estudio fase I para determinar la dosis de linfocitos T CAR anti-CD19 de segunda generación (CD28 coestimulador) tanto en niños como en adultos con LLA y linfoma no Hodgkin refractarios o en recaída (20 pacientes con LLA-B y 2 de ellos con infiltración en sistema nervioso central) Se utilizó una dosis de 1×10^6 células/kg como máximo. En la LLA se obtuvo una respuesta completa en el 70% y el 60% alcanzó una EMR negativa. La supervivencia libre de enfermedad a los 10 meses para los casos que alcanzaron la EMR negativa fue de 78.8%, pues 2 pacientes presentaron una recaída LLA-B CD19neg. En este estudio se demostró que la proliferación de los linfocitos T CAR correlaciona con el efecto anti-leucemia y mayor severidad del síndrome de liberación de citoquinas. Además, relacionan la neurotoxicidad con la penetración de las células CAR en el líquido cefalorraquídeo. En esta investigación se alcanzó respuesta completa mucho mayor que la clofarabina (respuesta completa del 8-20%) que era el medicamento más nuevo aprobado por la FDA para LLA pediátrica en recaída en ese momento ⁽²¹⁾.

En otro ensayo publicado en el 2014 por Davila *et al.*, se trataron 16 pacientes con LLA en recaída o refractaria con linfocitos T CAR anti-CD19 (CD28 como coestimulador), y se obtuvo un 88% de remisión completa y 75% pacientes alcanzaron una EMR negativa. Resultados similares fueron logrados por Maude *et al.*, en 30 pacientes pediátricos y adultos (29 LLA-B refractaria o en recaída y 1 LLA-T con CD19+) con las células CTL019 (Novartis), donde registraron remisión completa en el 90% de los casos y 73% EMR negativa, con un sobrevida media libre de enfermedad del 67% a los 6 meses y una sobrevida global del 78%. En este trabajo, se reportó EMR negativa sin presencia de blastos en el líquido cefalorraquídeo en 2 pacientes que al iniciar el ensayo presentaban infiltración en el sistema nervioso central. En el período de seguimiento (aproximadamente 2 años), 19 personas continuaron en remisión y en aquellos que presentaron recaída ninguno presento leucemia con el marcador CD19+ ^(22, 23).

Además del tratamiento de LLA-B, se ha estudiado el uso de los linfocitos T CAR para LLA-T aunque éstos aún se encuentran en fase de experimentación en animales. El tratar malignidades T, ha sido ampliamente debatido por los posibles efectos adversos que se podrían contraer, pues cuando se tratan malignidades B los linfocitos T CAR eliminan las células tumorales y conducen a una aplasia B que puede ser tratada con inmunoglobulinas intravenosa, pero en el caso de producirse una aplasia T la inmunodeficiencia no se puede tratar y sería mortal. Precisamente en el 2015, Mamonkin, *et al.* demostraron la eficiencia linfocitos T CAR de segunda generación contra el CD5, para eliminar células tumorales de

LLA-T y linfomas T, tanto in vitro como en modelos murinos. Lo importante de esta investigación es que al utilizar un blanco que se expresa también en los linfocitos T CAR, éstos atacan las células tumorales y a la vez atacan a otros linfocitos T CAR eliminándolos rápidamente del cuerpo y evitando una aplasia T ^(24, 25).

La terapia de LLA refractaria o en recaída con linfocitos T CAR ha mostrado en promedio tasas de sobre vida media libre de enfermedad entre el 60-80% y la sobrevida global alrededor del 85% a los 6 meses; cifras muy superiores a los mostrados en diferentes ensayos que han utilizado la clorafibina, nelarabina y vincristina liposomal encapsulada que son los últimos medicamentos aprobados por la FDA para el tratamiento LLA en recaída (cuyas tasas de remisión completa es del 25% y con una duración de la respuesta de 4-9 semanas), demostrando el gran potencial de esta terapia. Como se mencionó anteriormente, actualmente el Kymriah de Novartis cuenta con la aprobación de FDA para LLA-B refractaria o en recaída en niños y adultos. Su estudio ELIANA ha tratado a 75 pacientes en 25 centros con tasas de remisión a los 3 meses y EMR negativa en el 81% de los casos; obtenido una sobrevida al año superior al 75%; aunque los efectos adversos importantes como el síndrome de liberación de citoquinas se ha presentado en más del 70% de los pacientes y solo 1 muerte asociada a la toxicidad de los linfocitos T CAR ^(23, 26).

Ensayos clínicos de los linfocitos T CAR como tratamiento para leucemia mieloide aguda

Para el tratamiento de leucemia mieloide aguda (LMA) se han desarrollado pocos ensayos clínicos en humanos, principalmente por la dificultad de encontrar un blanco específico para blastos mieloides que se exprese en un alto porcentaje de las LMA y que no altere la mielopoyesis normal; pues causaría alteraciones en muchas líneas celulares. En el 2015 se han publicado los primeros ensayos preclínicos en modelos murinos, demostrando su efectividad para eliminar los blastos y seguridad ⁽²⁷⁾.

Con el fin de minimizar la afectación de la mielopoyesis normal, la mayoría de estos protocolos han utilizado linfocitos T CAR “biodegradables” donde el ARNm del receptor CAR es introducido por electroporulación y se expresan sobre los linfocitos por aproximadamente 6 días y los esquemas de tratamiento se acompañan de trasplante alogénicos de células madre hematopoyéticas. Además, se ha cambiado la selección de los linfocitos T que van a ser modificados, pues al tener un período de expresión del receptor corto se necesitan células efectoras y no las Tcm; para los ensayos preclínicos en LMA se han utilizado células asesinas inducidas por citoquinas (CIK) CD3+/CD56+ que son linfocitos T con propiedades funcionales similares a las células NK ^(27, 28).

El CD33 ha sido seleccionado como uno de los antígenos contra los que se podrían dirigir los linfocitos T CAR, puesto que los anticuerpos monoclonales contra CD33 (Lintuzumab y Gentuzumab) han demostrado efectividad contra LMA en ensayos preclínicos. O’Hear *et al.*, señalan el CD33 como un buen candidato para tratar LMA, pues las mutaciones presentes en

los blastos mieloides, también se presentan en las células madre hematopoyéticas, por lo que al utilizar el CD33 (normalmente expresado en células madre hematopoyéticas) se eliminan estas mutaciones, evitando recaídas. Investigaciones recientes se enfocan además en reestablecer la hematopoyesis mieloide regenerativa por radiación de la médula con progenitores modificados sin expresión del CD33 con fin de evitar la destrucción por parte de los linfocitos T CAR utilizados, mostrando resultados prometedores al desarrollar células mieloides maduras funcionales en modelos murinos y mono Rhesus ^(29, 30).

Otro antígeno importante es el CD123 (receptor de la IL3), puesto que se expresa en más el 80% de la LMA (más que el CD33 o el CD34) y además se ha demostrado que una alta expresión del CD123 se relaciona a reducción de la apoptosis, y un aumento en el STAT5 que favorece la proliferación; sin embargo también es expresado en muchas células hematopoyéticas normales ^(31, 32). Con respecto a cuál de los dos antígenos es más efectivo y produce menos efectos secundarios, aún hay criterios divididos entre ambos. Aunque diversos estudios concuerdan en que ambos son efectivos para destruir las células leucémicas y la mielotoxicidad presentada es tolerable y puede resolverse con el posterior trasplante de células madre hematopoyéticas ^(27, 28, 31, 32).

También se han utilizado otros blancos como el receptor β del folato. Lynn *et al.*, comprobaron la efectividad de los linfocitos T CAR para eliminar los blastos mieloides en ratones, además demostrando que la expresión del receptor de folato y por tanto la eficacia de los linfocitos T CAR se ve aumentada con la administración de ATRA ⁽³³⁾.

Como se mencionó anteriormente las investigaciones clínicas en humanos son pocas y no han alcanzado la efectividad mostrada en otras malignidades hematológicas. En el 2015, Wang, *et al.*; trataron a un paciente de 41 años con LMA con linfocitos T CAR anti-CD33, el mismo sufrió una pancitopenia severa persistente por 1 semana con necesidad de transfusiones. A las 2 semanas post infusión el conteo de blastos en sangre periférica disminuyó de 50% a 6%; sin embargo éstos aumentaron progresivamente alcanzando el 70% a las 9 semanas y murió a las 13 semanas con progresión fuerte de la enfermedad aun cuando los conteos de los linfocitos T CAR eran altos, evidenciando un escape de las células leucémicas al ataque inmune de los linfocitos T CAR ⁽³⁴⁾.

Anteriormente un ensayo en 4 sujetos con LMA tratados con linfocitos T CAR anti Lewis Y, logró mantener la enfermedad estable en 2 pacientes y en otro se logró alcanzar una remisión citogenética transitoria; 3 de los casos presentaron una progresión de la enfermedad en menos de 5 meses y sólo 1 mantuvo la enfermedad estable por los 23 meses de seguimiento del ensayo ⁽³⁵⁾.

En el tratamiento de la leucemia mieloide aguda con células T CAR aún hay mucho por investigar; las investigaciones clínicas publicadas no han mostrado avances en la supervivencia de los pacientes. Sin embargo, con los resultados obtenidos en los ensayos preclínicos murinos y la combinación de la terapia con el trasplante alogénico de células madres puede mejorar la tasa de respuesta. En la actualidad solo hay 19 protocolos clínicos inscritos con

estos linfocitos en LMA en su mayoría fase 1 o 2 y en etapa de reclutamiento contra el CD33 y el CD123 principalmente ⁽¹⁾.

Ensayos clínicos de linfocitos T Car como tratamiento de tumores sólidos

Los linfocitos T CAR también se han utilizado como tratamiento de tumores sólidos de alto riesgo refractarios a varios esquemas de quimioterapia tradicional, sin embargo los resultados no han sido tan alentadores si se compara con los obtenidos en malignidades oncohematológicas. Existen varios factores a los que se ha relacionado la baja respuesta entre estos destacan la dificultad de migración de los linfocitos T CAR hacia el tejido u órgano donde se localiza la neoplasia, la variabilidad de antígenos tumorales presentes en las neoplasias sólidas y el microambiente tumoral producido por las células neoplásicas expresan citoquinas que dificultan anclaje y mantenimiento de los linfocitos T CD8+. Además en dicho microambiente tumoral con hipoxia producida por la prostaciclina E2 y baja disponibilidad de nutrientes se imposibilita la supervivencia y proliferación de las células CAR ^(36, 37).

Entre los estudios publicados se puede destacar el éxito alcanzado utilizando de linfocitos T CAR anti receptor alfa 2 de la interleucina 13 en 1 paciente con glioblastoma multifocal alcanzando una respuesta clínica durante 7.5 meses y linfocitos T CAR anti GD2 de neuroblastoma en 19 pacientes (11 con enfermedad activa) alcanzando remisión completa en el 60% de los casos con una supervivencia media de 931 días ^(38,39). Sin embargo, no se ha obtenido buenos resultados al tratar carcinoma renal metastásico con células T CAR anti anhidrasa carbónica IX donde se trataron 12 pacientes y no se obtuvo respuesta clínica en ninguno de los casos con una supervivencia media de 9.5 meses ⁽⁴⁰⁾.

Actualmente, se desarrollan varios ensayos clínicos en su mayoría fase I contra diferentes antígenos tumorales, algunos de los cuales se mencionan en el cuadro 1.

Cuadro 1. Resumen de algunos ensayos clínicos utilizando linfocitos T CAR contra diferentes antígenos para tratamiento de tumores sólidos.

<i>Antígeno</i>	<i>Cáncer</i>	<i>Ensayo clínico</i>
CD133 ⁽⁴¹⁾	Hígado, cerebral, mama, LLA y LMA	NCT02541370
CD138 ⁽⁴²⁾	MM	NCT01886976
CD171 ⁽⁴³⁾	Neuroblastoma y ganglioblastoma	NCT02311621
CD70 ⁽⁴⁴⁾	Renal	NCT02830724
CEA ^(45, 46, 47)	Pulmón, colorrectal, gástrico y pancreático	NCT02349724-NCT00004178-NCT03267173-NCT00673829-NCT02850536
EGFR ^(47, 48)	Pulmón, colorrectal, ovárico, pancreático y glioma avanzado	NCT01869166-NCT02331693-NCT03182816-NCT03152435
EGFRvIII ^(49, 50)	Glioblastoma	NCT02209376-NCT02664363-NCT01454596-NCT03267173-NCT03170141
EPCAM ⁽³⁶⁾	Hígado	NCT02725125-NCT02915445-NCT03013712-NCT02729493
EphA2 ⁽⁴¹⁾	Glioma maligno	NCT02575261
FAP ⁽⁴²⁾	Mesotelioma pleural maligno	NCT01722149
GD2 ^(42, 51, 52)	Neuroblastoma, sarcoma, osteosarcoma, melanoma	NCT02439788-NCT02107963-NCT02765243-NCT01822652-NCT02761915-NCT01953900-NCT01460901-NCT00085930-NCT03356795-NCT02919046
GPC3 ⁽⁴¹⁾	Carcinoma pulmonar de células escamosas, hepático.	NCT02723942-NCT02905188-NCT02876978-NCT02715362-NCT02395250-NCT03198546-NCT03084380
HER2 ^(41, 42, 53)	Glioblastoma, cáncer de mama, ovario, gástrico, hepático y sarcoma avanzado	NCT02547961-NCT02442297-NCT01109095-NCT00889954-NCT02713984-NCT01935843-NCT00902044
IL13Ra2 ⁽⁴²⁾	Glioma	NCT02208362
Mesotelina ⁽⁵⁴⁾	Adenocarcinoma pancreático, cáncer de ovario y mesotelio pleural maligno	NCT02159716-NCT02706782-NCT02580747-NCT02792114-NCT03356795-NCT03323944-NCT03267173-NCT03182803-NCT02930993-NCT02465983
MG7 ⁽⁵⁵⁾	Metastasis hepática	NCT02862704
MUC1 ⁽⁵⁵⁾	Glioma, carcinoma pancreático, colorrectal y hepático	NCT02839954-NCT02617134-NCT02587689-NCT03356808-NCT03356795-NCT03267173-NCT03198052
PSCA ⁽⁵⁵⁾	Pancreático	NCT02744287
PSMA ⁽⁵⁶⁾	Próstata	NCT01929239-NCT03185468-NCT03089203

Conclusiones

En la actualidad existen gran cantidad de investigaciones en curso para implementar el uso clínico de los linfocitos T CAR como tratamiento para diversas malignidades hematológicas, la mayoría enfocadas en el campo de los síndromes linfoproliferativos B que muestran resultados muy alentadores con respuestas que superan el 50% para pacientes con múltiples terapias previas fallidas y para los cuales las opciones terapéuticas restantes son escasas o nulas ^(8,9).

Con respecto a terapia de LLA refractaria o en recaída con linfocitos T CAR ha mostrado sobrevida global alrededor del 85% a los 6 meses y remisión completa superior al 75%; cifras muy superiores a los mostrados en diferentes ensayos que han utilizado la con la terapia convencional demostrando el gran potencial de esta inmunoterapia ⁽²³⁾.

Por último el tratamiento de la LMA con células T CAR aún hay mucho por investigar los ensayos clínicos publicados no han mostrado avances en la sobrevida de los pacientes, sin embargo con los resultados obtenidos en los últimos ensayos preclínicos murinos y la combinación de la terapia con el trasplante alogénico de células madres podría mejorar la tasa de respuesta ⁽³²⁾.

Referencias

1. U.S. National Institutes of Health. Clinical trials 2018. Disponible en <https://clinicaltrials.gov/> 2018.. Visitado por última vez el 12/10/2018
2. Kochenderfer J, Wilson W, Janik J, Dudley M, Stetler-Stevenson M, Feldman S 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): 4099-4102.
3. Novartis. Novartis destaca los datos del CTL019 que demuestra su potencial en el tratamiento de subtipos concretos de linfoma no Hodgkin difíciles de tratar. Comunidos de prensa especializada 2015. Disponible en <http://www.novartis.es/sala-de-prensa/comunicados-de-prensa-especializada/2015/06/01a/novartis-destaca-los-datos-de-ctl019-que-demuestran-su-potencial-en-el-tratamiento-de-subtipos-concretos-de-linfoma-no-hodgkin-dificiles-de-tratar>. Visitado por última vez el 12/10/2018.
4. Mato A, Porter D. A drive through cellular therapy for CLL in 2015: allogeneic cell transplantation and CARs. *Blood* 2015; 126(8): 478-486.

5. Zhu Y, Tan Y, Ou R, Zhong Q, Du Y, Zhang Q, et al. Anti-CD19 chimeric antigen receptor-modified T cells for B-cell malignancies: a systematic review of efficacy and safety in clinical trial. *European Journal of Haematology* 2016; 96:389-396.
6. Kochenderfer J, Dudley M, Feldman S, Wilson W, Spaner D, 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): 2709-2720.
7. Kochenderfer J, Dudley M, Kassim S, Somerville R, Carpenter R, 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* 2015; 33(6): 540-549.
8. Porter D, Hwang W, Frey N, Lacey S, Shaw P, Loren A, et al. Chimeric antigen receptor T cells persist and induce sustained remissions in relapsed refractory chronic lymphocytic leukemia. *Science Translational Medicine* 2015; 7(303):303-329.
9. Levine B, Svoboda J, Nasta S, Porter D. Chimeric antigen receptor modified T cells directed against CD19 (CTL019) induce clinical responses in patients with relapsed or refractory CD19+ lymphomas. *Cytotherapy* 2015; 17(6): S13.
10. Shuster S, Svoboda J, Chong E, Nasta S, Mato A, Anak Ö, Brondon J, et al. Chimeric antigen receptor T cells in refractory B-cell lymphomas. *The New England Journal of Medicine* 2017; 377(26):2545-2554.
11. Novartis. Kymriah® (tisagenlecleucel), first-in-class CAR-T therapy from Novartis, receives second FDA approval to treat appropriate r/r patients with large B-cell lymphoma. Media release 2018. Disponible en <https://www.novartis.com/news/media-releases/kymriah-r-tisagenlecleucel-first-class-car-t-therapy-from-novartis-receives-second-fda-approval-treat-appropriate-rr-patients-large-b-cell-lymphoma>. Visitado por última vez el 15/10/2018.
12. Grady D. FDA approves first gene-altering leukemia treatment, costing \$475 000. *New York Times* 2017. Disponible en <https://www.nytimes.com/2017/08/30/health/gene-therapy-cancer.html>. Visitado por última vez el 15/10/2018.

13. Locke F, Neelapu S, Bartlett N, Siddiqi T, Chavez J, Hosing C, et al. Phase 1 results of ZUMA-1: a multicenter study of KTE-CD19 anti-CD19 CAR T cell therapy in refractory aggressive lymphoma. *Molecular Therapy* 2017; 25(1): 285-295.
14. Kite Pharma. YESCARTA™ (axicabtagene ciloleucel) suspension for intravenous infusion. Highlights of prescribing information 2017. Disponible en https://www.yescarta.com/?utm_source=kitepharma.com_therapies&utm_medium=referral&utm_campaign=ecosystem_tracking. Visitado por última vez el 15/10/2018.
15. Brudno J, Kochenderfer J. Toxicities of chimeric antigen receptor T cell: recognition and management. *Blood* 2016; 127(26): 3321-3330.
16. Jiang H, Zhang W, Shang P, Zhang H, Fu W, Ye F, et al. Transfection of chimeric anti-CD138 gene enhances natural killer cell activation and killing of multiple myeloma cells. *Molecular Oncology* 2014; 8: 297-310.
17. Guo B, Chen M, Han Q, Hui F, Dai H, Zhang W, et al. CD 138- directed adoptive immunotherapy of chimeric antigen receptor (CAR)-modified T cells for multiple myeloma. *Journal of Cellular Immunotherapy* 2016; 2(1): 28-35.,.
18. Gargall A, Valderrama M, Lacey S, Mahnke Y, Mlenhorst J, Zheng Z, et al. Safety and efficacy of anti-CD19 chimeric antigen receptor (CAR)-modified autologous T cells (CTL019) in advanced multiple myeloma. *Journal of Clinical Oncology* 2015; 33: 8517.
19. Gargall A, Maus M, Hwang W, Lacey S, Mahnke Y, Melenhorst J, et al. Chimeric antigen receptor T cells against CD19 for multiple myeloma. *New England Journal of Medicine* 2015; 373(11): 1040-1047.
20. Alí S, Shi V, Maric I, Wang M, Stroncek D, Rose J, et al. T cells expressing an anti-B-cell-maturation-antigen chimeric antigen receptor cause remissions of multiple myeloma. *Blood* 2016; 128(13): 1688-1700.
21. Lee D, Kochenderfer J, Stetler-Stevenson M, Cui Y, Delbrook C, Feldman, S et al. T cells expressing CD19 chimeric antigen receptors for acute lymphoblastic leukemia in children and young adults: a phase 1 dose-escalation trial. *The Lancet* 2015; 385: 517-528.
22. Davila M, Rievere I, Wang X, Bartido S, Park J, Curran K, et al. Efficacy and toxicity management of 19-28z CAR T cell therapy in B cell acute lymphoblastic leukemia. *Science Translational Medicine* 2014; 6(224): 1-9.

23. Maude, S, Frey, N, Shaw, P, Aplenc R, Barret D, Bunin N, et al. Chimeric antigen receptors T cells for sustained remissions in leukemia. *The New England Journal of Medicine* 2014; 371(16): 1507-1517.
24. Stauss H. Engineered T cells can fight malignant T cells. *Blood* 2015; 126(8): 927-928.
25. Mamonkin M, Rouce R, Tashiro H, Brenner M. A T cell-directed chimeric antigen receptor for the selective treatment of T cell malignancies. *Blood* 2015; 126(8): 983-992.
26. Maude S, Laetsch J, Buechner S, Rives M, Boyer M, Bittencourt H, et al. Tisadenlecleucel in children and young adults with B-cell lymphoblastic leukemia. *The New England Journal of Medicine* 2018; 378: 439-447.
27. Kenderian S, Ruella M, Shestova O, Klichinsky M, Aikawa V, Morrisste J, et al. CD33-specific chimeric antigen receptor T cells exhibit potent preclinical activity against human acute myeloid leukemia. *Leukemia* 2015; 29: 1637-1647.
28. Pizzitola I, Anjjos-Afonso F, Rouault-Pierre K, Lassailly F, Tettamanti S, Spinelli O, et al. Chimeric antigen receptors against CD33/CD123 antigens efficiently target primary acute myeloid leukemia cells in vivo. *Leukemia* 2014; 28: 1596-1605.
29. O'Hear C, Heiber J, Schubert I, Fey G, geiger T. Anti-CD33 chimeric antigen receptor targeting of acute myeloid leukemia. *Haematologica* 2015; 100(3): 336-344.
30. Kim Y, Yu K, Kenderian S, Ruella M, Chen S, Shin T, et al. Genetic inactivation of CD33 in hematopoietic stem cells to enable CART T cell immunotherapy for acute myeloid leukemia. *Cell* 2018; 173:1439-1453.
31. Liu K, Zhu M, Huang Y, Wei S, Xie J, Xiao Y. CD123 and its potential clinical application in leukemias. *Life Sciences* 2015; 122: 59-64.
32. Gill S, Tasian S, Ruella M, Shestova O, Li Y, Porter D, et al. Preclinical targeting of human acute myeloid leukemia and myeloablation using chimeric antigen receptor -modified T cells. *Blood* 2014; 123: 2343-2354.
33. Lynn R, Poussin M, Kalota A, Feng Y, Low, P, Dimitrov D, Powell D. Targeting of folate receptor-beta on acute myeloid leukemia blast with chimeric antigen receptor expressing T cells. *Blood* 2015; 125(22):3466-3476.

34. Wang Q, Wang Y, Lv H, Han H, Guo B, Wang L, et al. Treatment of CD33-directed chimeric antigen receptor-modified T cells in one patient with relapsed and refractory acute myeloid leukemia. *Molecular Therapy* 2015; 23(1): 184-191.
35. Rictchie D, Neeson P, Khot A, Peinert S, Tai Tm, Tainton K, et al. Persistence and efficacy of second generation CAR T cell against the LeY antigen in acute myeloid leukemia. *Molecular Therapy* 2013; 21(11): 2122-2129.
36. D'Aloia M, Grazia I, Sacchetti B, Pierelli L, alimandi M. CAR-T cells: the long and winding road to solid tumors. *Cell Death and Disease* 2018; 9: 282-294.
37. Yong C, Dardalhon V, Devaud Cm Taylor N Darcy P, Kershaw M. CAR T-cell therapy of solid tumors. *Immunology and cell biology* 2017; 95: 356-363.
38. Brown C, Alizadeh D, Starr R, Weng L, Wagner J, Naranjo a et al. Regression of glioblastoma after chimeric antigen receptor T-cell therapy. *The New England Journal of Medicine* 2016, 375: 2561-2569.
39. Louis C, Savoldo B, Dotti G, Pule M, Yvon E, Myers D, et al. Anti-tumor activity and long-term fate of chimeric antigen receptor positive T-cells in patients with neuroblastoma. *Blood* 2011; 118: 6050-6056.
40. Lamers C, Sleijfer, S, Vulto A, Kruit W, Kliffen M, Debets R. Autolous T-Lymphocytes genetically retargeted against carbonic anhydrase IX: first clinical experience. *Journal of Clinical Oncology* 2006; 24: e20-e22.
41. Luo C, Wei J, Han W. spotlight on chimeric antigen receptor engineered T cell research and clinica trials in China. *Science China Life Science* 2016; 59: 349-359.
42. Gill S, Maus M, Porter D. Chimeric antigen receptor T cell therapy: 25 years in the making. *Blood Reviews* 2016; 30:157-167.
43. Aranda F, Buqué A, Bloy N, Castoldi F, Eggermont A, Cremer I et al. Trial Watch; Adoptive cell transfer for oncological indications. *Oncoimmunology* 2015; 4: e1046673.
44. Wang Q, Yu z, Hanada K, Patel K, Kleiner D, restifo N, Yang J. Preclinical evaluation of chimeric antigen receptors targeting CD70-expressing cancers. *Clinical Cancer Research* 2017; 23: 2267-2276.
45. Zhang C, Wang Z, Yang Z, Wang M, Li S, Li Y, et al. Phase I escalating-dose trial of CAR-T therapy targeting CEA+ metastatic colorectal cancers. *Molecular Therapy* 2017; 25: 1248–1258.

46. Katz S, Burga R, McCormack E, Wang L, Mooring W, Point G, et al. Phase I hepatic immunotherapy for metastases study of intraarterial chimeric antigen receptor-modified T-cell therapy for CEA+ liver metastases. *Clinical Cancer Research* 2015; 21: 3149–3159.
47. Jackson H, Rafiq S, Brentjens R. Driving CAR T-cells forward. *Nature Reviews in Clinical Oncology* 2016; 13: 370-383.
48. Feng K, Guo Y, Liu Y, Dai H, Wang Y, Ly H, et al. Cocktail treatment with EGFR-specific and CD133-specific chimeric antigen receptor-modified T cells in a patient with advanced cholangiocarcinoma. *Journal of Hematological Oncology* 2017; 10.
49. Badhiwala J, Decker W, Berens M, Bhardwaj R. Clinical trials in cellular immunotherapy for brain/CNS tumors. *Expert Rev. Neurotherapeutics* 2013; 13: 405–424.
50. Morgan R, Johnson L, Davis J, Zheng Z, Woolard K, Reap E, et al. Recognition of glioma stem cells by genetically modified T cells targeting EGFRvIII and development of adoptive cell therapy for glioma. *Human Gene Therapy* 2012; 23: 1043–1053.
51. Richman S, Nunez-Cruz S, Moghimi B, Li L, Gershenson Z, Mourelatos Z, Barrett D, et al. High-affinity GD2-specific CAR T cells induce fatal encephalitis in a preclinical neuroblastoma model. *Cancer Immunology Research* 2017; 6: 36–46.
52. Heczey A, Louis C, Savoldo B, Dakhova O, Durett A, Grilley B, et al. CAR T cells administered in combination with lymphodepletion and PD-1 inhibition to patients with neuroblastoma. *Molecular Therapy* 25: 2214–2224.
53. Kamran N, Calinescu A, Candolfi M, Mineharu Y, Asad A, Koschman C, et al. Recent advances and future of immunotherapy for glioblastoma. *Expert Opinion in Biological Therapy* 2016; 16: 1245-1264.
54. Tanyi J, Stashwick C, Plesa G, Morgan M, Porte D, Maus M et al. Possible compartmental cytokine release syndrome in a patient with recurrent ovarian cancer after treatment with mesothelintargeted CAR-T cells. *Journal of Immunotherapy* 2017; 40: 104–107.
55. Fesnak A, June C, Levine B. Engineered T cells; the promise and challenges of cancer immunotherapy. *Nature Reviews in Cancer* 2016; 16: 566-581.
56. Junghans R, Ma Q, Rathore R, Gomes E, Bais A, Lo A, Abedi M, et al. Phase I trial of anti-PSMA designer CAR-T cells in prostate cancer: possible role for interacting

interleukin 2-T cell pharmacodynamics as a determinant of clinical response. *The Prostate* 2016; 76: 1257–1270.