



FACULTAD DE FARMACIA

Grado en Farmacia

CÉLULAS CAR-T EN LEUCEMIA LINFOBLÁSTICA AGUDA

CAR-T CELLS IN ACUTE LYMPHOBLASTIC LEUKEMIA

Memoria de Trabajo Fin de Grado

Sant Joan d'Alacant

Junio 2024

Autora: María López Sáez

Modalidad: Revisión bibliográfica

Tutor: Francisco Navarrete Rueda

ÍNDICE

1. Resumen.....	3
2. Introducción.....	5
2.1. Leucemia: qué es, como se produce y tipos.....	5
2.2. Leucemia linfoblástica aguda: características genético-moleculares y tratamiento convencional.....	6
2.2.1. Clasificación.....	6
2.2.2. Características genético-moleculares.....	6
2.2.3. Tratamiento convencional.....	7
2.3. Terapia con células CAR-T en el tratamiento de la leucemia linfoblástica aguda (LLA).....	10
3. Objetivos.....	15
4. Metodología.....	16
5. Resultados.....	19
5.1. Eficacia.....	19
5.1.1. Expansión in vivo.....	23
5.1.2. Terapias previas a la infusión de Tisagenlecleucel.....	24
5.1.3. Quimioterapia puente y quimioterapia linfodeplectora.....	26
5.1.4. Recaídas.....	27
5.2. Seguridad.....	28
6. Discusión.....	32
7. Conclusiones.....	35
8. Bibliografía.....	36

1.RESUMEN

La leucemia linfoblástica aguda (LLA) es el tipo de cáncer más frecuente en la edad pediátrica pero también puede presentarse en otro rango de edades. Los pacientes que padecen esta enfermedad rara vez consiguen alcanzar una remisión completa durante toda la vida. Este cáncer tiene su origen en la médula ósea, afecta a las células del linaje linfoide y se reproduce de una manera muy rápida. Numerosas terapias como la quimioterapia o los anticuerpos monoclonales, incluso el trasplante de médula ósea, han intentado controlar las células cancerígenas que produce la LLA, pero, hasta el momento, ninguna había tenido unos resultados tan esperanzadores como los que ha demostrado la terapia con células CAR-T dirigidas a CD19, comercializado como Tisagenlecleucel.

Uno de los objetivos principales de esta memoria de trabajo de finde grado es clarificar y actualizar los datos sobre la eficacia y la seguridad de la terapia de células con CAR-T en el tratamiento de la LLA de pacientes en recaída o refractarios con más de dos líneas de tratamiento previas y que por sus características son elegibles para favorecerse de esta terapia. Para ello se ha llevado a cabo una búsqueda bibliográfica en las bases de datos Medline, a través de su buscador Pubmed, y ClinicalTrials.gov.

Se han recopilado los resultados de eficacia y seguridad del Tisagenlecleucel, comparando también con las terapias que se han usado convencionalmente para el tratamiento de la LLA con el objetivo de evidenciar las ventajas y/o inconvenientes de esta nueva estrategia terapéutica. Atendiendo a los resultados obtenidos hasta la fecha podemos establecer que la terapia con células CAR-T es una terapia innovadora que presenta grandes resultados en el tratamiento de la LLA y puede ser un tratamiento muy favorable para los pacientes que cumplan los requisitos para su uso. Sin embargo, la fabricación, logística, personal, etc, son aspectos todavía limitantes y hace falta tener conocimientos muy especializados sobre esta terapia y un equipo multidisciplinar muy bien formado para que todos los pasos previos a la infusión del fármaco se desarrollen correctamente y se puede garantizar la máxima eficacia y seguridad al paciente que reciba el tratamiento.

SUMMARY

Acute lymphoblastic leukemia (ALL) is the most common type of cancer in the pediatric age group but can also occur in other age ranges. Patients with this disease rarely achieve complete remission throughout their lives. This cancer originates in the bone marrow, affects cells of the lymphoid lineage and reproduces very rapidly. Numerous therapies such as chemotherapy or monoclonal antibodies, including bone marrow transplantation, have attempted to control the cancer cells that produce ALL, but, until now, none have had such encouraging results as those demonstrated by therapy with CAR-T cells targeting CD19, marketed as Tisagenlecleucel.

One of the main objectives of this thesis is to clarify and update the data on the efficacy and safety of CAR-T cell therapy in the treatment of ALL in relapsed or refractory patients with more than two previous lines of treatment and whose characteristics make them eligible to benefit from this therapy. To this end, a bibliographic search was carried out in the Medline database, through its Pubmed search engine, and ClinicalTrials.gov.

The efficacy and safety results of Tisagenlecleucel have been compiled and compared with the therapies that have been conventionally used for the treatment of ALL in order to demonstrate the advantages and/or disadvantages of this new therapeutic strategy. Based on the results obtained to date, we can establish that CAR-T cell therapy is an innovative therapy that shows great results in the treatment of ALL and can be a very favorable treatment for patients who meet the requirements for its use. However, manufacturing, logistics, personnel, etc., are still limiting aspects and it is necessary to have very specialized knowledge about this therapy and a very well trained multidisciplinary team so that all the steps prior to the infusion of the drug are carried out correctly and maximum efficacy and safety can be guaranteed for the patient receiving the treatment.

2.INTRODUCCIÓN

2.1. Leucemia: qué es, cómo se produce y tipos

La leucemia es una enfermedad cancerosa que se produce en la sangre teniendo su comienzo en la médula ósea, lugar en el que se forman las células sanguíneas.

La palabra leucemia hace referencia a la sangre blanca, es decir, a los glóbulos blancos que utiliza nuestro cuerpo para combatir infecciones y protegernos de sustancias extrañas. Lo que este cáncer genera es un aumento incontrolable de los glóbulos blancos haciendo así imposible la generación de células rojas, plaquetas y glóbulos blancos maduros ¹.

El origen de todas las células sanguíneas está en una célula madre, y ésta se puede dividir en una célula madre mieloide o una célula madre linfoide. De la célula madre mieloide se originarán los glóbulos rojos, las plaquetas y los granulocitos, mientras que de la célula madre linfoide se originarán los linfoblastos y dentro de éstos encontramos los linfocitos B, los linfocitos T y los linfocitos citolíticos naturales. A su vez, a los linfocitos B, linfocitos T, linfocitos citolíticos naturales y a los granulocitos se les conoce como glóbulos blancos (imagen 1) ².

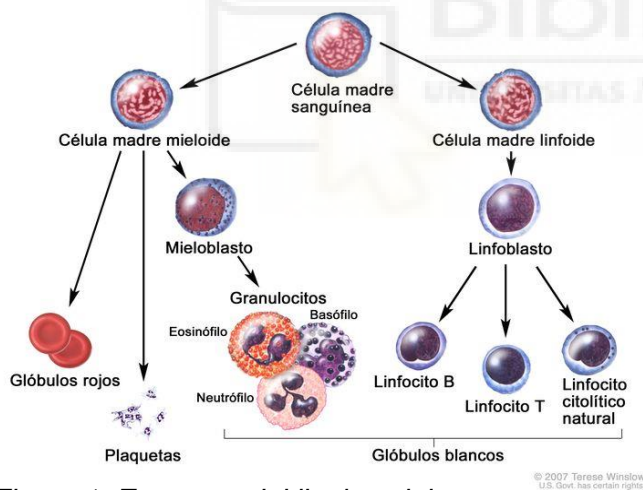


Figura 1. Esquema del linaje celular.

Los tipos de leucemia se clasifican tanto por la rapidez con la que evoluciona clínicamente la enfermedad, como por las células a las que afecta.

En función de la rapidez con la que se produce podemos encontrar:

- **Leucemias agudas:** Se producen con rapidez y el número de células cancerosas se incrementa muy rápido.
- **Leucemias crónicas:** Se producen de forma más lenta y son mejor toleradas, aunque son más difíciles de detectar y diagnosticar ya que al principio las células leucémicas se comportan como células normales.

En función de las células afectadas encontramos:

- **Leucemia mieloide:** Tiene su origen en las células mieloides.
- **Leucemia linfoide:** Tiene su origen en las células linfoides.

Conforme a la clasificación anterior, los tipos más comunes de leucemia son la leucemia mieloide aguda (LMA), la leucemia mieloide crónica (LMC), la leucemia linfoblástica aguda (LLA) y la leucemia linfocítica crónica (LLC).

2.2 Leucemia linfoblástica aguda: características genético-moleculares y tratamiento convencional.

2.2.1. Clasificación

Centrándonos en la **leucemia linfoblástica aguda** o **LLA**, está ocurre cuando la presencia de linfoblastos o linfocitos en la médula ósea es muy elevada. Este tipo de leucemia es la más frecuente en los pacientes pediátricos, pero se puede producir a cualquier edad. Surge por la transformación maligna de células progenitoras B o T en la médula ósea que, además, tienen una diferenciación no normal y una supervivencia prolongada, y todo esto hace que haya un número muy elevado de blastocitos malignos que acaban reemplazando en la médula ósea a los blastocitos sanos con una posible filtración al sistema nervioso central.

Dentro de la LLA, podemos diferenciar varios tipos teniendo en cuenta características morfológicas, características citogenéticas, marcadores inmunitarios de superficie celular y bioquímicos y características citoquímicas ².

- LLA L1 → Se caracteriza por linfoblastos de aspecto más maduro y está presente en menos del 50% de pacientes.
- LLA L2 → Se caracteriza por linfoblastos más inmaduros y polimorfos y es la más predominante en los pacientes.
- LLA L3 (Burkitt) → Se caracteriza por presentar blastocitos con vacuolas citoplasmáticas y la expresión de inmunoglobulinas de superficie, además, con frecuencia la médula ósea tiene una apariencia denominada “cielo estrellado” debido a la presencia de muchas células en apoptosis. Es menos común que los otros dos tipos.

2.2.2. Características genético-moleculares

Las células leucémicas linfoblásticas B y T expresan antígenos de superficie muy similares a los característicos del desarrollo de sus respectivos linajes. Típicamente, la LLA de células precursoras B expresan CD10, CD19 y CD34 en su superficie junto con la dioxinucleotidil-transferasa terminal (TdT) nuclear, mientras que la LLA de células precursoras T por lo general expresan CD2, CD3, CD7, CD34 y TdT.

De todos los pacientes con LLA, de todos los tipos, solo el 5% no tiene una expresión elevada de dioxinucleotidil-transferasa terminal (TdT), es decir, el 95% si lo presenta, aunque la utilidad del TdT como marcador de linaje es limitada ya que el 20% de los casos de LMC también lo presenta.

Los pacientes con leucemia de Burkitt presentan ausencia de TdT y expresan la inmunoglobulina superficial, ya que estos pacientes, por lo general, tendrán una translocación cromosómica que puede ser t(8;14), t(2;8) o t(8;22).

Algunos de los pacientes que padecen LLA, concretamente en el 20% de los adultos y en menor porcentaje en niños, presentan una anomalía citogenética del cromosoma Filadelfia (Ph1). Este cromosoma también se presenta en la LMA y en la LMC, pero las anomalías moleculares son diferentes a las de la LLA ².

2.2.3. Tratamiento convencional

Para considerar que un tratamiento es exitoso debe de poder controlar la médula ósea y la enfermedad sistémica, es decir, que todos los valores de glóbulos blancos, glóbulos rojos, linfocito, plaquetas etc, se encuentren dentro de los rangos que se consideran normales. Una parte muy importante que también debe tenerse en cuenta es el tratamiento o prevención de enfermedades en el sistema nervioso central (SNC).

Según la fase en la que se encuentre el paciente podemos clasificar la LLA en tres estadios: enfermedad no tratada, en remisión o recidivante, pero aun así no es un sistema de clasificación específico.

Decimos que la enfermedad es no tratada cuando el paciente del que se habla es recién diagnosticado y sin tratamiento previo. Estos pacientes tienen unas características específicas entre las que encontramos un recuento anormal de leucocitos, recuentos anormales de hematocrito/hemoglobina y plaquetas, médula ósea con más del 5% de blastocitos y signos y síntomas de la enfermedad.

En cambio, cuando un paciente ha recibido tratamiento, se dirá que está en el estadio de remisión si cumple con unos criterios específicos entre los que se

encuentran: 1) que la médula ósea sea normocelular con un 5% de blastocitos o mejor, 2) que no haya signos o síntomas de la enfermedad y estos tampoco se muestran en el sistema nervioso central o alguna otra infiltración molecular y 3) que los valores del recuento de leucocitos, la concentración de hematocrito y hemoglobina y el recuento plaquetario estén dentro de los valores normales.

El tratamiento se divide en 3 fases:

- a. Inducción a la remisión.
- b. Profilaxis del SNC
- c. Posremisión o mantenimiento

La clave del tratamiento es la quimioterapia combinada administrada sistémicamente junto con tratamiento preventivo del SNC, pudiéndose hacer con quimioterapia o radioterapia craneal. Esta enfermedad puede ser abordada con diferentes estrategias farmacoterapéuticas entre las que podemos encontrar la quimioterapia, que es el tratamiento principal en la mayoría de pacientes (Tabla 1²). Los medicamentos que normalmente se utilizan son: vincristina o vincristina liposómica, daunorrubicina, citarabina, L-asparaginasa o PEG-L-asparaginasa, 6-mercaptopurina, metotrexato, ciclofosfamida, prednisona, dexametasona y nelarabina^{3,4}.

Estos tratamientos son los principales en la mayoría de personas que padecen esta enfermedad, pero presentan graves efectos adversos, que se producen en los ciclos más intensos del tratamiento y que no deben dejarse a un lado, debiendo valorar cual es la terapia más adecuada para cada paciente. Entre los efectos adversos más comunes destacan la caída del pelo, úlceras en la boca, pérdida del apetito, así como alteraciones gastrointestinales (náuseas, vómitos, diarrea o estreñimiento). Pero, por otra parte, la quimioterapia también afecta a las células normales y sanas de la médula ósea pudiendo provocar un aumento del riesgo de infecciones, causado por la escasez de glóbulos blancos normales, así como cansancio y dificultad para respirar, producido por la falta de glóbulos rojos, además de fácil sangrado y aparición de fenómenos hemorrágicos, ya que hay un bajo recuento plaquetario

Algunos de estos efectos adversos se pueden tratar o prevenir con medicamentos como los antibióticos, factores de crecimiento o mediante transfusiones de plaquetas y glóbulos rojos, pero la salida del hospital de los pacientes se ve condicionada o influenciada por sus recuentos sanguíneos.

Otros efectos adversos que podemos encontrar en relación con la quimioterapia son la aparición de segundos cánceres como la leucemia mieloide aguda y, con menor frecuencia, linfoma no Hodgkin, así como, el síndrome de lisis tumoral, que es el efecto adverso más común entre los pacientes que presentan un elevado número de células leucémicas.

Una parte importante también del tratamiento es la terapia para la profilaxis del sistema nervioso central. Este se emplea para evitar que las células leucémicas se extiendan por el SNC o para tratar aquellos casos en los que esta propagación ya ha ocurrido. La profilaxis del SNC se suele iniciar en la fase de inducción y se suele continuar durante el resto de fases.

Estado de la enfermedad	Opciones de tratamiento estándar
<u>LLA no tratada</u>	<p><u>Terapia de inducción a la remisión</u> → régimen que incluye una combinación de vincristina, prednisona y antraciclinas con asparaginasa o sin esta. También puede administrarse quimioterapia combinada, Mesilato de imatinib, Mesilato de imatinib junto con quimioterapia combinada y cuidados médicos de apoyo.</p> <p><u>Terapia profiláctica del SNC</u> → Radioterapia craneal más metotrexato intratecal (IT), metotrexato sistémico de dosis elevada y metotrexato IT sin radioterapia craneal o quimioterapia IT sola.</p>
<u>LLA en remisión</u>	<p><u>Terapia posremisión</u> → Quimioterapia, tratamiento en curso con un inhibidor de tirosina–cinasas BCR-ABL como el imatinib, el nilotinib o el dasatinib o trasplante de médula ósea (TMO) autógeno o alogénico.</p> <p><u>Tratamiento profiláctico del SNC</u> → Radioterapia craneal más metotrexato intratecal (IT), metotrexato sistémico de dosis elevada y metotrexato IT sin radioterapia craneal o quimioterapia IT sola.</p>
<u>LLA recidivante</u>	<p>Quimioterapia de reinducción seguida de trasplante de médula ósea alogénico (TMO alogénico)</p> <p>Blinatumomab seguido de TMO alogénico.</p> <p>Inotuzumab ozogamicina seguido de TMO alogénico.</p> <p>Tratamiento con radioterapia paliativa.</p> <p>Dasatinib.</p>

Tabla 1. Resumen del tratamiento farmacoterapéutico según el estadio de LLA ².

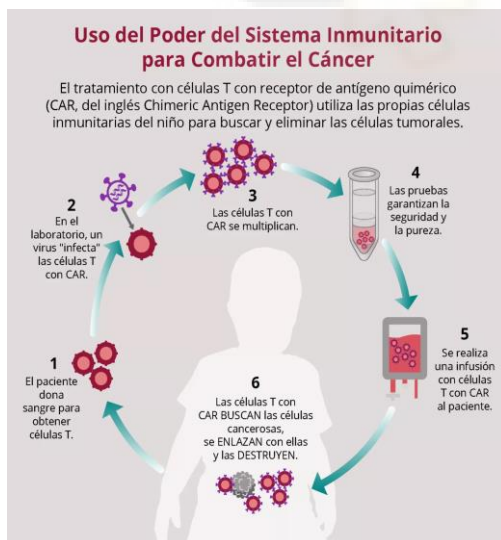
Como se ha mencionado anteriormente, los efectos adversos derivados de la terapia convencional constituyen una limitación para la recuperación de los pacientes. Pero, por otra parte, encontramos también limitaciones en la eficacia de estas

terapias, ya que la tasa de remisión completa (RC) y la supervivencia general (SG) se han demostrado que son menores en comparación con la tasa de RC y la SG que presenta Tisagenlecleucel o la terapia con células CART19. Por otra, parte Blinatumumab, un anticuerpo biespecífico de células T CD3 dirigido a CD19, e Inotuzumab ozogamicina, el cual contiene un anticuerpo monoclonal que se une a CD22, proporcionan tasas de respuesta más altas que la quimioterapia estándar y también una supervivencia más prolongada, pero, en comparación con Tisagenlecleucel, la supervivencia general sigue siendo menor ⁵. Por lo que:

- La eficacia de Blinatumumab e Inotuzumab ozogamicina es mayor que la eficacia de la quimioterapia convencional.
- La eficacia de Tisagenlecleucel es mayor que la eficacia de la quimioterapia convencional y que la eficacia de Blinatumumab e Inotuzumab ozogamicina.

2.3. Terapia con células CAR-T en el tratamiento la leucemia linfoblástica aguda (LLA).

La terapia basada en células CAR-T (receptor de antígeno quimérico de células T) posee especificidad para CD19 y ha demostrado ser una alternativa eficaz en el abordaje de la LLA. Las células CAR-T se obtienen tras la aféresis o leucoféresis de



linfocitos T del paciente que, tras este proceso, expresan en su superficie un receptor de antígeno quimérico que incluye un anticuerpo anti CD19 unido a un dominio de señal intracelular en el linfocito T junto a diferentes dominios coestimuladores que proporcionan otra señal (imagen 2). Una vez que los linfocitos se infunden al paciente, este dominio coestimulador activa al linfocito T para que ataque a las células leucémicas CD19 + y las lise ⁶.

Figura 2. Proceso de obtención de células CAR-T ⁶.

El antígeno CD19 tiene unas características únicas que lo hacen muy atractivo para ser escogido como objetivo principal. El antígeno CD19 muestra un patrón de expresión que está restringido a células B y células progenitoras de células B, permite

apuntar con certeza al linaje de células B sin que otros linajes hematopoyéticos puedan verse afectados ya que CD19 no parece expresarse por células madre hematopoyéticas y, por último, CD19 se expresa considerablemente en células malignas que derivan del linaje de células B, como son la mayoría de linfomas y leucemias linfocíticas ⁷.

Los CAR son proteínas generadas por la fusión de un dominio de unión a antígeno, un fragmento variable monocatenario extracelular (scFv) unido a dominios de señalización de células T intracelulares del receptor de células T (TCR) que proporciona especificidad para que estas se dirijan al tumor. La expansión y diferenciación de las células T vírgenes requieren de la interacción antígeno específica del complejo péptido:MHC con el TCR (lo que se denomina señal 1) y también requieren de señalización coestimuladora a través de la interacción de receptores coestimuladores en la superficie de las células T (lo que se denomina señal 2).

Las células CAR-T de primera generación se caracterizan por tener scFv específicos del objetivo junto a la cadena CD3-z del complejo TCR/CD3. Esta cadena es la encargada de emitir las señales de activación y de reconocer al receptor de la célula T, es decir, proporciona la señal 1. Se observó que la persistencia, expansión y eficacia de las células T de primera generación eran limitadas, por lo que se optó por introducir dominios de señalización citoplasmática de receptores coestimuladores de células T que proporcionan la señal 2, obteniéndose así las células CAR de segunda generación, mejorando la eficacia y persistencia antitumoral. Se agregaron dominios coestimuladores como CD28 y 4-1BB (Imagen 3). **Tisagenlecleucel** es una terapia de células CAR-T de segunda generación que incluye un dominio coestimulador 4-1BB, mejorando la expansión y supervivencia de las células CAR, y un dominio CD3-z, que es imprescindible para iniciar la actividad antitumoral y la activación de las células T ⁸ (Imagen 4). Los CAR de tercera generación se caracterizan por tener un conjunto de múltiples dominios coestimuladores.

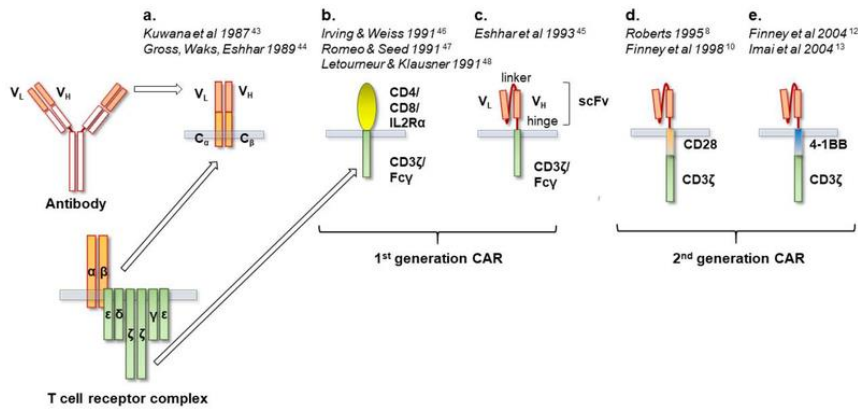


Figura 3. Imagen de la evolución del receptor de antígeno quimérico⁹.

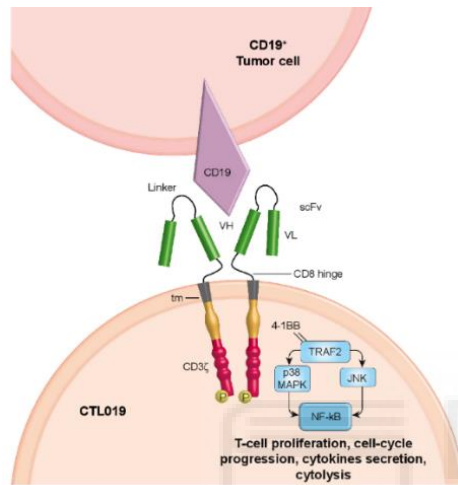


Figura 4. Estructura del Tisagenlecleucel¹⁰.

El término coestimulación describe la modificación del proceso de activación de la célula T a partir de la interacción de receptores expresados en las células T con sus ligandos expresados en las membranas de las células dendríticas u otras células presentadoras de antígenos. Varios estudios han demostrado que la adición de dominios coestimuladores, en particular el CD28, aumenta la capacidad de los receptores para estimular la secreción de citoquinas y mejorar la eficacia antitumoral, al igual que se ha demostrado que la introducción de dominios como CD137 (4-1BB) en los CAR aumenta las respuestas de las células T mediadas por CAR⁷. Los estudios in vivo han demostrado que el dominio CD137 tiene una persistencia mejorada y una eficacia antileucémica superior, por lo que la incorporación del dominio CD137 frente a la incorporación del dominio CD28 se supone que mejora la persistencia de los CAR, lo que se correlaciona con una maximización de su actividad antitumoral.

Para que las células CAR tengan una buena persistencia es necesario que la transferencia de genes sea óptima. Generalmente se utilizaban retrovirus murinos o

electroporación que introducían el receptor quimérico, pero se observó que la utilización de transferencia de genes lentivirales permite que las células T tengan más de un 85% de transferencia exitosa ⁷. Tisagenlecleucel presenta un vector lentiviral y un promotor del vector denominada factor de elongación 1-alfa, el cual demostró una expresión más estable tanto en células CD4+ como en células CD8+ ¹¹.

Actualmente el fármaco más desarrollado y estudiado es el Tisagenlecleucel, comercializado bajo el nombre de Kymriah, medicamento compuesto por células T, es decir linfocitos T del paciente que se han modificado ex vivo mediante una transducción lentiviral para expresar CAR dirigido a CD19. Tisagenlecleucel ha sido la primera terapia génica aprobada por la FDA. La aprobación inicial fue para el tratamiento de la leucemia linfoblástica aguda de células B pediátrica y adultos jóvenes en recaída o refractaria en agosto de 2017. Kymriah fue aprobado también por la Agencia Europea de Medicamentos (EMA) y por la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios (AEMPS) el 23 de Agosto de 2018 ¹². Además de los CAR-T dirigidos a CD19 para la LLA, se han desarrollado otros para enfermedades como el linfoma de Hodgkin y las neoplasias mieloides malignas, aunque el desarrollo de estos ha sido más difícil debido a la ausencia de antígenos tumorales expresados por la células madres ¹³.

Como se ha comentado anteriormente, los linfocitos T que se modifican son obtenidos por la aféresis de sangre del propio paciente o de un donante compatible con el paciente. Debido a esto, la terapia con células CAR-T es una terapia autóloga, es decir, específica para cada paciente. Las bolsas de infusiones con células T modificadas son individuales, intransferibles y específicas para cada paciente en concreto, ya que estas contienen una determinada cantidad de células CAR-T calculadas de forma individual para poder obtener el mejor resultado posible y evitar que los efectos adversos sean graves.

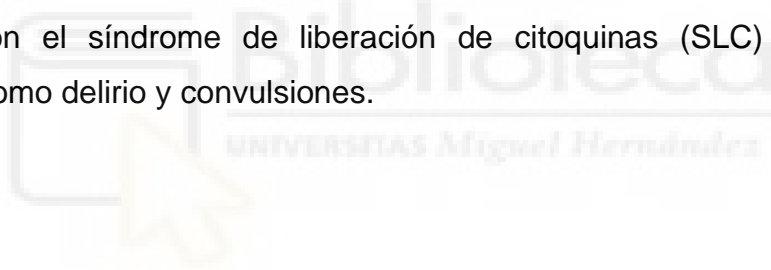
Kymriah está destinado exclusivamente a un uso autólogo y no debe administrarse bajo ninguna circunstancia a otros pacientes. Además, no debe administrarse si la información de las etiquetas del producto y la documentación específica del lote no coincide con la identidad del paciente.

La concentración de linfocitos T-CAR positivos viables depende de cada indicación y peso del paciente. Según el centro de información online de medicamentos de la AEMPS (CIMA):

- Para paciente de 50 kg o menos: la dosis se encuentra en el intervalo de 0,2 a $5,0 \times 10^6$ de linfocitos T CAR-positivos viables por kg de peso corporal.
- Para paciente de más de 50 kg: la dosis se encuentra en el intervalo de 0,1 a $2,5 \times 10^8$ de linfocitos T CAR-positivos viables (no basado en el peso).

Se dice que la terapia con células CAR-T son fármacos “vivos”, debido a que su expansión dentro del cuerpo ocurre durante un tiempo prolongado después de la infusión. Es decir, una vez infundido el fármaco las células se expanden más allá de la dosis inicial, lo que hace que la remisión de la enfermedad sea más duradera comparada con otro tipo de terapias. También se le denomina así porque son fármacos que han sido editados genéticamente y que son capaces de reconocer y matar las células cancerígenas.

Aunque esta terapia haya abierto una ventana de esperanza para los pacientes que sufren esta enfermedad, no hay que dejar de lado los efectos adversos que conlleva. Sin embargo, aunque estos efectos preocupan, no son potencialmente peligrosos ya que pueden ser tratados con diferentes medicamentos. Los más destacados son el síndrome de liberación de citoquinas (SLC) y los efectos neurológicos como delirio y convulsiones.



3.OBJETIVOS

La realización de este Trabajo de Fin de Grado tiene como objetivos generales:

- Evaluar la eficacia y la persistencia de las células CAR-T.
- Analizar la seguridad y valorar los efectos adversos de la terapia con células CAR-T en la LLA.
- Observar los beneficios y desventajas que tiene la terapia CAR-T frente a las terapias convencionales que hay para tratar la enfermedad.



4. METODOLOGÍA

Para desarrollar la búsqueda de los diferentes artículos e información sobre el tema de este trabajo de fin de grado, se buscó en la base de datos Medline a través del buscador Pubmed. Ésta, es una biblioteca virtual sobre documentación científica, creada y mantenida por la librería nacional de medicina de estados unidos de Norteamérica.

Para realizar la búsqueda de forma eficiente debemos introducir las palabras clave. El MeSH (Medical Subject Heading) es el tesoro de Medline. Un tesoro es un lenguaje controlado de términos biomédicos que representan el contenido de cada artículo referenciado en la base de datos, términos ordenados alfabéticamente y organizados de forma jerárquica. Introducir estos MeSH o palabras clave ayuda a expresar con mayor exactitud una determinada noción que identifica unívocamente conceptos de un tema concreto. Para poder encontrar los descriptores unívocos de estas palabras claves se han consultado tanto del MeSH como los DeSC. De forma que a continuación se indica la equivalencia de cada palabra clave en MeSH y DeSC:

Palabra clave	MeSH	DeSC
Leucemia linfoblástica aguda	Precursor Cell Lymphoblastic Leukemia-Lymphoma	Leucemia-Linfoma Linfoblástico de Células Precursoras
Receptor de antígeno quimérico	Receptores Quiméricos de Antígenos	Receptors, Chimeric Antigen
Tisagenlecleucel	Tisagenlecleucel	Tisagenlecleucel.

También debemos tener en cuenta la pregunta PIR, población, intervención y resultados. En este caso, el apartado de resultados no se ha incluido en la búsqueda quedando así:

- Población: pacientes con LLA.
- Intervención: tratamiento con células CAR-T19 o Tisagenlecleucel.

De manera que las ecuaciones de búsqueda querían como:

- ("Receptors, Antigen"[Mesh]) AND "Precursor Cell Lymphoblastic Leukemia-Lymphoma"[Mesh]
- ("Precursor Cell Lymphoblastic Leukemia-Lymphoma"[Mesh]) AND "tisagenlecleucel" [Supplementary Concept]

Los filtros utilizados para la búsqueda han sido abstract y texto completo.

Como criterios de inclusión se han utilizado:

- Artículo en inglés o español.
- Artículos publicados entre 2009 y 2024.
- Ensayos clínicos realizados tanto en humanos como en animales.
- Artículos que se ajustaran a los objetivos del trabajo.

Como criterios de exclusión se han utilizado:

- Artículos publicados antes de 2009.
- Artículos de lectura completa no gratuita y los cuales no se pudo acceder por los recursos dados por la universidad.
- Artículos que no se ajustaran a los objetivos del trabajo.

Como se ve en el diagrama de flujo (figura 5) en una primera búsqueda se obtuvieron 1267 resultados, que tras aplicar los criterios de inclusión y exclusión y los filtros necesarios se redujeron a 223 resultados. De estos 223, 191 fueron eliminado mediante la lectura del resumen y del título, quedando así 32 resultados. De esos 32 resultados 18 fueron eliminados mediante la lectura completa de todos, quedando así un resultado final de 14 artículos.

Así mismo, ha habido 4 artículos los cuales han sido extraídos directamente de la bibliografía de estos 14 artículos, quedando así un total de 18 artículos.

La ficha técnica del fármaco Kymriah ha sido extraída de la página web de la AEMPS.

Los ensayos clínicos han sido visitados en la página de Clinical Trials. Esta base de datos también ha sido consultada para poder identificar ensayos clínicos que estén en marcha o haya finalizado y que no se han podido obtener en la búsqueda bibliográfica.

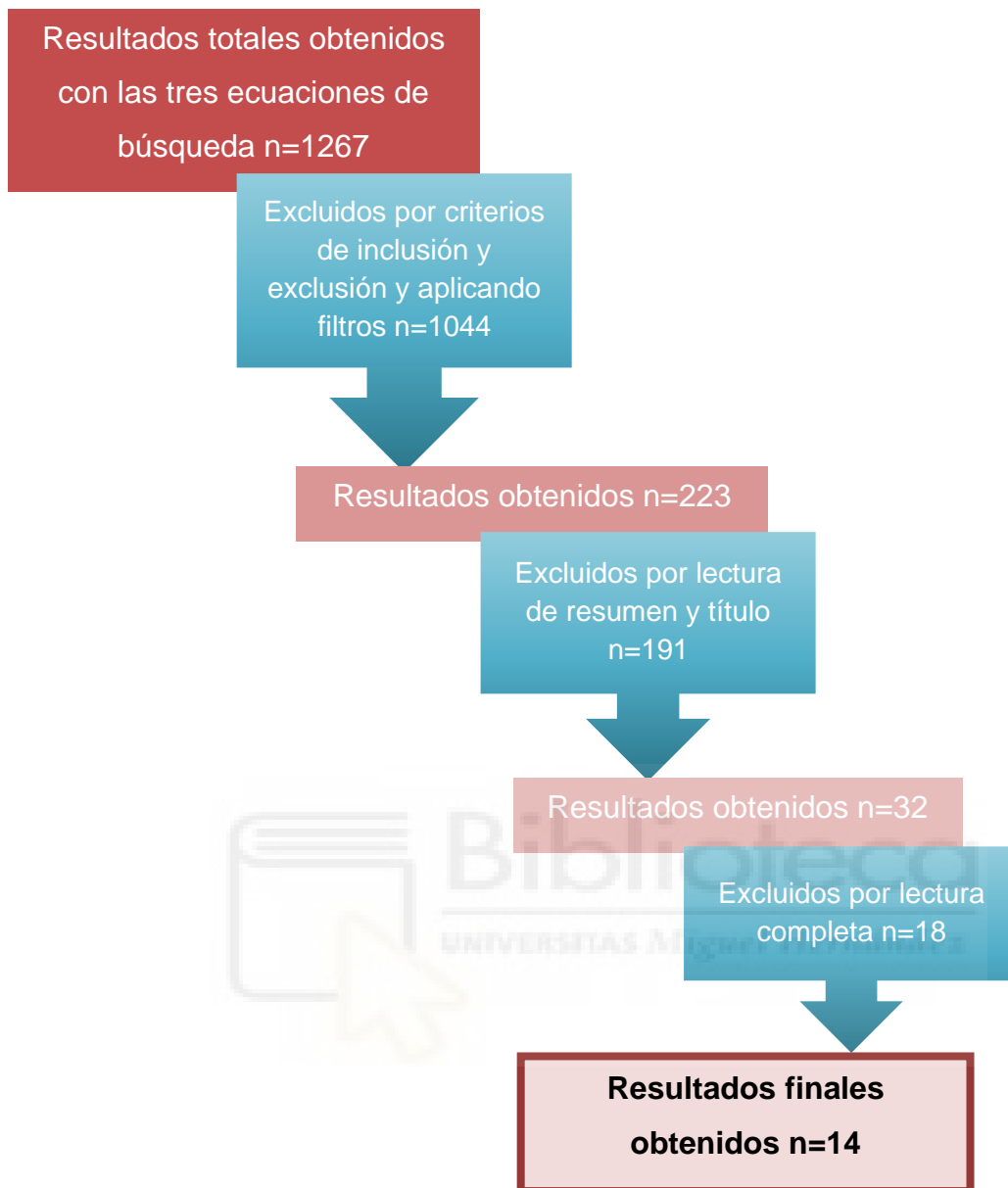


Figura 5. Diagrama de flujo de la selección de artículos.

5. RESULTADOS

En este apartado de resultados se mostrarán los datos más relevantes obtenidos de los estudios en cuanto a eficacia y seguridad.

En el punto 5.1 se hablará de la eficacia de Tisagenlecleucel y de las células CAR-T dirigidas a CD19. En este apartado encontraremos otros subapartados en los que se tratarán la expansión in vivo de estas células, las terapias previas con las que los pacientes pueden haber sido tratados antes a la infusión de Tisagenlecleucel y como estas pueden afectar al tratamiento, la quimioterapia puente y la quimioterapia linfodeplectora y las recaídas que pueden experimentar o no los pacientes tras la infusión.

En el punto 5.2 se comentarán los principales efectos adversos derivados de la terapia y como estos pueden ser tratados, así como su relación con diversos factores del paciente y de la enfermedad.

5.1. Eficacia.

En los estudios que se muestran en la tabla 3, los parámetros que se han medido para evaluar la eficacia de las células CAR-T 19 o Tisagenlecleucel (Kymriah) han sido la tasa de remisión completa (RC) y remisión completa con recuperación de hemograma incompleto (RCi), la supervivencia general (SG), la supervivencia libre de eventos (SLE) y la supervivencia libre de recaídas (SLR).

En general los estudios muestran una tasa de RC de entre el 60% y 90% de los pacientes que participaron en los estudios. La RC se entiende como la presencia de menos de un 5% de blastos en la médula ósea (MO).

La supervivencia general se definió como la duración desde el momento de la infusión hasta la muerte por cualquier causa, con una media de 18,26 meses.

<i>Ensayo</i>	<i>Participantes</i>	<i>Eficacia</i>	<i>Seguridad</i>
ELIANA NCT02435849 ⁴ <i>Un ensayo multicéntrico de fase II, de un solo grupo, abierto, sin ningún enmascaramiento, en el que el propósito</i>	75 P entre 3 y 21 años. Al menos un 5% de linfoblastos en MO. 96% recibieron terapia linfodeplectora.	TRG → 81% SLE 6 meses → 73% SLE 12 meses → 50% SG 6 meses → 90% SG 12 meses → 76% SLR 6 meses → 80% Media de duración de la persistencia de	73% P grado 3 o 4 relacionados con Tisagenlecleucel. 100% EA de cualquier grado. SLC en el 77%, de los cuales 48% recibieron tocilizumab. De grado 3 el 28% y de grado 4 el 30%

primario era el tratamiento.

Actualización estudio, seguimiento de 38,8 meses

La duración total del estudio es de 5 años desde la infusión de células CTL019.

ENSING

NCT02228096¹⁵

Este fue un estudio de fase II, multicéntrico, abierto y de un solo grupo.

El estudio da comienzo en 2014 y en 2018 se terminan de recoger datos.

NCT01029366¹⁶

Este es un estudio piloto / Fase I, de un solo brazo, de un solo centro y de etiqueta abierta para determinar la seguridad, eficacia y

Tisagenlecleucel en sangre fue 168 días.

TRG → 82%

Mediana SLE fue de 24 meses en el 44% de los P, la tasa SLE a los 24 meses fue del 58% y del 52% a los 36 meses

SG 36 meses → 63%

SLR 3 años → 52%

SSR??

Los P informaron de mejoras en la CV hasta 36 meses después de la infusión

Eventos neurológicos en el 40%, de los cuales el 13% fue de grado 3. De ese 13% el 32% había sufrido SLC de grado 4.

Disminución del recuento de plaquetas grado 3 o 4 (41%).
Disminución del recuento de neutrófilos grado 3 o 4 en el 53%, de los cuales el 45% tenía infección de grado 3 o 4.
Disminución apetito (39%).
Neutropenia febril (36%)

Dolor de cabeza (36%).

No se observaron nuevos EA relacionados con el tratamiento y la proporción de pacientes con EA de grado 3-4 disminuyó con el tiempo. Los EA ocurridos tras un año de la infusión fueron infecciones (20,4%) y trastornos de la piel (6,1%), los cuales no parecen disminuir la CV.

64 P con una mediana de edad de 12,4 años.

La tasa de RG dentro de los 6 meses después de la infusión fue del 70,3%.

La duración de la remisión fue de 13,6 meses.

Tasa de RC fue del 67,2%.

SLR tuvo una mediana de 13,6 meses.

La SLE fue de 6,4 meses.

La SG fue de 29,9 meses.

Se observaron EA graves en el 81,25% de los P.

Neutropenia febril en el 35,94% de los P (23/64).

SLC en el 64,06% de los P (19/64)

Pirexia en el 10,94% de los P (7/64)

Encefalopatía en el 6,24% de los P (4/64)

Convulsiones en el 6,24% de los P (4/64)

Hipotensión en el 10,94% de los P (7/67)

35 P adultos mayores de 18 años con LLA r/r CD19+. Del estudio **NCT01029366** participaron 5 P y del estudio **NCT02030847** participaron 30 P.

Tasa RC general día 28 fue de 69%.

Cohorte HDS: 3P lograron RC.

Cohorte LD: 33% lograron RC.

Cohorte LD con SLC manejable.

Cohorte DHF con toxicidad manejable.

Toxicidad neurocognitiva en el 40%.

cinética celular de CART19 (CTL019) en pacientes con leucemia y linfoma CD19 + r/r a la quimioterapia. No aleatorizado. Periodo de seguimiento de 5 años.

NCT02030847⁷

Este es un estudio de fase II de etiqueta abierta, de un solo centro, de un solo brazo para determinar la eficacia y seguridad de una única infusión de células T autólogas en pacientes adultos con LLA B en r/r. Periodo de seguimiento de 5 años.

NCT01865617⁸

Este ensayo de fase I/II, no aleatorizado, con asignación de un solo grupo y sin enmascaramiento. Periodo de seguimiento de 1 año.

MSKCC

NCT01044069⁹

Un ensayo de fase I, con asignación de un

D baja (5×10^7 células CTL019) con infusión única o fraccionada → 9 P
 D alta (5×10^8 células CTL019) con infusión única → 6 P
 D alta (5×10^8 células CTL019) con infusión fraccionada → 20 P; día 1 10% de la D, día 2 30% de la D y día 3 el 60% de la D.
 33 de 35 recibieron terapia linfodeplectora.

32P con LLA r/r y un promedio de 40 años, de los cuales 30 recibieron terapia linfodeplectora y todos habían recibido previamente una mediana de 3 regímenes de QT intensiva.
 29 de 30 tenían blastos leucémicos en la MO y 7 tenían enfermedad extramedular.
 Evaluación de 3 dosis.

53 adultos recibieron infusión y terapia linfodeplectora previa.

Cohorte DHF: tasa de RC del 90%.
 En una mediana de seguimiento de 13 meses, la mediana de SG para toda la cohorte fue de 19,1 meses y la mediana de SSC fue de 5,6 meses. La SG y la SSC mejoraron significativamente en la cohorte HDF.

29 de 30 P sobrevivieron más de 21 días, de los cuales 27 lograron RC en la MO (93%). Los dos P que no lograron la remisión presentaron <5% de blastos anormales en la MO.
 25 de 19 P lograron RC sin evidencia de ERM

RC en el 83%.
 En una mediana de seguimiento de 29 meses la mediana de SLE fue de 6,1

Toxicidad de grado 1-2 en 13 P y de grado 3 en 2 P.
 SLC de cualquier grado en el 94%, de grado 1-2 en el 23%, de grado 3 en el 54%, de grado 4 en el 9% y de grado 5 en el 9% todos de la cohorte HDS.

25 de 30 P desarrollaron SLC entre 6h y 9 días después de la infusión de células CAR-T y 7 de ellos requirieron atención en UCI.
 Neurotoxicidad grave en 15 de 30 P al mismo tiempo que se resolvía el SLC o después de él.
 La toxicidad grave se observó en P con un 20% o más de blastos en la MO.

14 de 53 sufrieron SLC grave y 45 de 53 P sufrieron SLC de cualquier grado.



solo brazo y sin enmascaramiento. Periodo de seguimiento de 2 años.

meses y la SG fue de 12,9 meses.

P con carga de enfermedad más alta tuvieron mayos incidencia del SLC y eventos neurotóxicos.

P con baja carga de enfermedad (<5% de blastos en MO) tuvieron una mediana de SLE de 10,6 meses y una mediana de SG de 20,1 meses.

P con carga de enfermedad alta tuvieron una mediana de SLE de 5,3 mes y una mediana de SG de 12,4 meses.

La expansión de células T-CAR fue mayor en P que desarrollaron efectos neurotóxicos de grado 3 o 4.

NCT01626495²⁰

Estudio de fase I/IIA, con asignación de un solo grupo y sin enmascaramiento. Seguimiento intensivo de 6 meses, después seguimiento trimestral cada 2 años y tras estos un seguimiento anual por teléfono o cuestionario los 13 años siguientes.

62 P, de los cuales 54 son menores de 18 años y 8 están entre 18 y 65 años, con LLA r/r sin opciones curativas de terapia.

RC → 25,8%

RCi → 61,3%

Tasa SG del 78%.

Probabilidad de persistencia de CTL019 a los 6 meses fue del 68%.

Probabilidad de aplasia de células B sin recaída a los 6 meses fue del 73%.

Un total de 79,49% de los P sufrieron EA graves, entre los que encontramos:

Neutropenia febril en el 63,01% de los P.

SLC en el 71,23% de los P.

Encefalopatía en el 23,29% de los P.

Convulsiones en el 5,48% de los P.

Hipoxia en el 13,70% de los P.

Hipotensión en el 32,88% de los P.

Pirexia en el 20,55% de los P

NCT03123939²¹

Este fue un estudio multicéntrico de fase IIIb de un solo grupo que brindó a pacientes pediátricos y adultos jóvenes con LLA de células B r/r la oportunidad de ser tratados con CTL019, sin enmascaramiento.

69 P con una media de edad de 11,3 años.

La TRG fue del 82,6%.

RC o RCi a los 6 meses → 59,4%

DOR → 1,7 – 14,4 meses.

Mediana SLR → 8,9 meses.

Mediana SLE → 8,97 meses.

Mediana SG → 11,7 meses.

Se observaron efectos adversos graves en el 72,46% de los P.

Pirexia grave en el 15,94% de los P (11/69).

SLC grave en el 40,58% de los P (28/69) y no grave en el 43,48% (30/69).

Encefalopatía y convulsiones en el 2,90% de los P (2/69).

Seguimiento de 12
meses tras la
infusión.

Tabla 3. Resumen de la eficacia y seguridad de la terapia con células CAR-T de los ensayos clínicos seleccionados.

Abreviaturas: P: paciente/s; TRG: Tasa de remisión general; SG: supervivencia general; EA: efectos adversos. RC: remisión completa; QT: quimioterapia; ERM: enfermedad residual mínima; SLE: supervivencia libre de eventos; RC: remisión completa; RCi: remisión completa con recuperación incompleta del hemograma; SAM: síndrome de activación de macrófagos; SLT: síndrome de lisis tumoral; AST: aspartato aminotransferasa; ALT: alanina aminotransferasa; DOR: duración de la respuesta; CV: calidad de vida; CRm: remisión completa molecular.

5.1.1. Expansión in vivo

La eficacia a largo plazo en esta terapia se mide con el tiempo de persistencia de las células CAR-T en los pacientes²². La proliferación, migración a los sitios tumorales y la persistencia de las células CAR-T tras la transferencia tienen un rol determinante en la eficacia antitumoral, así como, la cinética celular puede determinar el riesgo de toxicidad grave²³.

Para poder observar el tiempo que las células CAR-T persisten en los pacientes, es decir, la persistencia in vivo, se usa la citometría de flujo y la reacción en cadena de la polimerasa cuantitativa (qPCR)^{8,23}. La detección mediante citometría de flujo depende de la expresión de CAR en la superficie de las células T, por lo que las células T que no expresen CAR en su superficie no podrán ser detectadas por esta técnica, pero sí mediante qPCR²³.

En los estudios NCT01626495 y NCT01029366, las células CAR-T fueron detectables en la sangre mediante citometría de flujo durante 11 meses²⁴. Por otro parte en el estudio ELIANA, se observó que la mediana de duración de la persistencia de Tisagenlecleucel en sangre fue de 168 días. También se ha observado que Tisagenlecleucel es capaz de presentarse en el SNC²⁵.

Debido a que algunos pacientes han continuado en remisión molecular tras no haber identificado en ellos células CAR-T circulantes, no se ha establecido cuál es la duración óptima de la persistencia de estas. Aunque la expansión in vivo de las células CAR-T tras la infusión está relacionada con la eficacia, la profundidad de la respuesta

y la potencia de las células pueden llegar a ser más determinantes para las remisiones duraderas.

5.1.2. Terapias previas a la infusión de Tisagenlecleucel.

Ensayo	ELIANA¹⁴ Tisagenlecleucel 79 P	NCT01471782²⁶ Blinatomumab 70 P	Jeha et al.²⁷ Monoterapia con clofarabina 61 P	NCT00315705²¹ CCA (Clofarabina + etopósido + ciclofosfamida)
Descripción	Ensayo clínico global, de fase II, cohorte única.	Ensayo clínicos fundamental, global, fase I/II, de un solo grupo.	Ensayo clínico multicéntrico, fase II, de un solo grupo	Ensayo clínico de fase II, de un solo brazo, multicéntrico
Respuesta	Mejor respuesta general de RC o RCi en 3 meses según una revisión.	RC en 3 meses	RG: mejor respuesta de RC o RCp según una revisión.	Respuesta general: mejor respuesta de RC o RCp después de la inducción o reinducción.
SG comparada con Tisagenlecleucel		Mediana observada en meses de Tisagenlecleucel VS Blinatomumab: 35 meses frente a 7,5 meses	Mediana observada en meses de Tisagenlecleucel VS clofarabina: 35 meses frente a 3,3 meses.	Mediana observada en meses de Tisagenlecleucel VS CCA: 35 meses frente a 4,6 meses.
Tasa RC comparada con Tisagenlecleucel.		Tasa RC Tisagenlecleucel VS blinatomumab: 82% frente 39%.	Tasa RC Tisagenlecleucel VS clofarabina: 82% frente 20%	Tasa RC Tisagenlecleucel VS CCA: 82% frente 49%.

Tabla 4. Comparación de Tisagenlecleucel con terapias convencionales para el tratamiento de la LLA.

Abreviaturas: P: pacientes; SG: supervivencia general; RC: remisión completa; RG: respuesta general; RCp: remisión completa parcial; Rci: remisión completa con recuperación incompleta del hemograma; VS: versus.

En la tabla 4 se muestra una comparación de los resultados obtenidos utilizando Tisagenlecleucel y otras terapias convencionales usadas en el tratamiento de la LLA como son, el blinatomumab, la monoterapia con clofarabina y la quimioterapia combinada con clofarabina, etopósido y ciclofosfamida (CCA). Tras observar los resultados, destaca que Tisagenlecleucel tuvo una SG más prolongada y que además presenta un mayor beneficio para los pacientes en comparación con los otros tratamientos. Se estimó que los pacientes que habían recibido Tisagenlecleucel tenían más posibilidades de presentar RC y de tener el doble de probabilidad de sobrevivir el primer año tras el tratamiento ²⁸.

Tisagenlecleucel está aprobado por la FDA para pacientes menores de 25 años con LLA de células B, los cuales se encuentran en una segunda o mayor recaída en la MO o extramedular o que tengan enfermedad refractaria, pero es importante saber que esta terapia es eficaz en pacientes que no están en remisión. Aunque a parte de los requisitos que establece la FDA para optar a esta terapia, se pueden establecer otros pacientes potenciales para recibirla como los que se muestran en la figura 6 ²⁹. Otros escenarios clínicos que pueden favorecer la utilización de la terapia CAR-T en lugar de otras terapias son: enfermedad reciente en el SNC, que el trasplante de células madres alogénicas no sea posible, o que la enfermedad sea rápidamente progresiva. En pacientes frágiles o ancianos tanto con una carga alta de enfermedad como con una carga mínima de enfermedad, es necesario considerar enfoques alternativos ya que estos puede que no soporten los graves efectos adversos de la terapia de células CAR-T ³⁰.

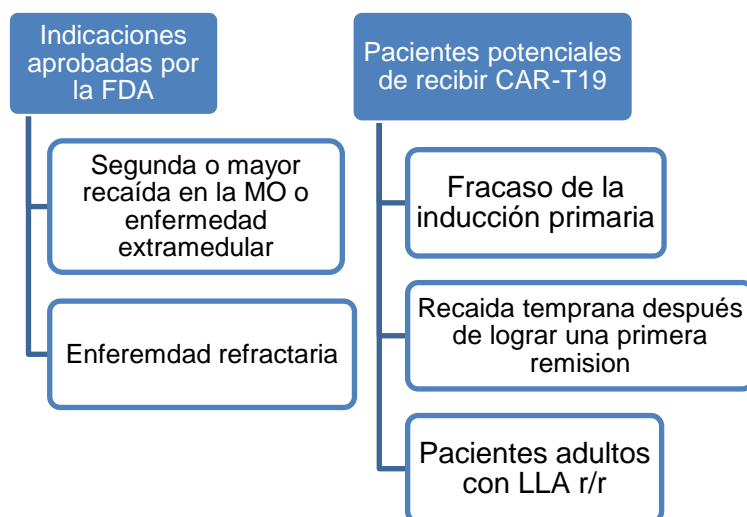


Figura 6. Indicaciones de Tisagenlecleucel

Para asegurar la eficacia de Tisagenlecleucel debemos tener en cuenta dos aspectos, por un lado, los tratamientos previos que haya recibido el paciente, y, por otro lado, la terapia linfodeplectora. Las terapias previas que han recibido los pacientes son a veces decisivas para establecer los tiempos y organizar todo el proceso que conlleva la fabricación de las células CAR-T ²⁹.

Como se ha mencionado antes, Blinatumomab se dirige a CD19, al igual que lo hace Tisagenlecleucel, por lo que a algunos autores les preocupa que pacientes que hayan recibido el anticuerpo biespecífico no sean elegibles para la terapia con células CAR-T19, aunque en principio estas preocupaciones son solo teóricas y no hay indicios de que sea una contraindicación, pero es cierto que la terapia previa con blinatumomab se asoció a un mayor riesgo de recaída CD19 ³⁰. También encontramos que el tratamiento con Inotuzumab ozogamicina en principio no debe suponer una preocupación en pacientes que lo hayan recibido como tratamiento previo a Tisagenlecleucel, pero el conjugado anti-CD22 produce una aplasia de células B y se desconoce qué efecto puede tener sobre la expansión y persistencia de las células CAR-T debido a la disminución de células CD19 ²⁹.

5.1.3. Quimioterapia puente y quimioterapia linfodeplectora

Debido al tiempo que transcurre entre la recolección, la fabricación y la infusión de las células CAR-T en el paciente, puede ser necesario que alguno de ellos deba recibir una terapia que les ayude a controlar la progresión de la enfermedad hasta el momento de la infusión ³¹. La quimioterapia puente no tiene el objetivo de inducir la remisión sino de minimizar los riesgos de infección y la toxicidad y a su vez impedir que la enfermedad avance y que los pacientes sufran una recaída ²⁹. La designación de esta terapia debe tener en cuenta las características previas del paciente y organizarse y coordinarse de tal manera que no retrase la infusión de las células CAR-T ^{29,31}.

Si el paciente está siendo tratado con esteroides sistémicos se suspenderán 3 días antes de la infusión; si se trata con quimioterapia sistémica, ésta será suspendida una semana antes de la infusión; si el paciente está siendo tratado con profilaxis de enfermedades del SNC o quimioterapia de rescate, se suspenderán 2 semanas antes de la infusión; si se trata con radioterapia fuera del SNC, será suspendida 4 semanas antes; y si se trata con anticuerpo anticélulas T, se detendrá 8 semanas antes de la infusión ²⁹.

Por otro lado, varios estudios han demostrado que la terapia linfodeplectora ayuda a mejorar la eficacia de las células CAR-T o Tisagenlecleucel ya que mejora la expansión y persistencia de estas células al reducir la carga tumoral de los pacientes. Esta terapia linfodeplectora está basada en un régimen de ciclofosfamida y fludarabina a dosis baja o moderada ^{10,11}, y la combinación de estos dos fármacos se ha visto que da mejores resultados que la administración únicamente de ciclofosfamida ¹⁰. La carga tumoral es reducida y la expansión es mejorada debido al agotamiento de las células T reguladoras, la eliminación de células inmunitarias que compiten por las citoquinas homeostáticas a la vez que se produce un aumento de las citoquinas que proporcionan la expansión y, por último, mejora la activación de las células presentadoras de antígenos ^{22,29}. El efecto creado por la linfodepleción se denominó “sumidero de citocinas”, debido a la mayor disponibilidad de estas para las células T transferidas. Este es ahora un procedimiento implementado en la mayoría de protocolos de terapia con células CAR-T ⁹.

5.1.4. Recaídas.

Las recaídas de los pacientes se pueden clasificar como CD19+ o CD19-. Las recaídas CD19+ se asocian con una pérdida de persistencia de células CAR-T CD19, así como a una menor expansión y una pérdida más rápida del transgén, mientras que las recaídas CD19- se deben a la aparición de una mutación o clon resistente que hace que haya una pérdida del antígeno CD19 ^{8,23,29}.

Para poder solucionar este problema se pueden seguir estrategias que por una parte eviten la pérdida de antígenos y que, por otra parte, aumenten la actividad y persistencia de las células CAR-T ⁹.

Para prevenir la recaída CD19- se ha observado que una vía para hacerlo es usando terapia con células CAR-T que vayan dirigidas a dos objetivos en vez de únicamente a CD19. Es decir, que junto con CD19 haya otros objetivos como es CD20 o CD22 ^{9,30}. Esto puede lograrse generando un único producto CAR-T que pueda señalar a más de un antígeno en vez de tener que coadministrar dos productos diferentes con objetivos distintos ³⁰. Por otro lado, prevenir las recaídas CD19+ es más complejo ya que la persistencia y actividad de las células CAR-T dependen de diversos factores como los subtipos de células T, el agotamiento y la interacción con el tumor, así como la edad, que también puede ser un factor decisivo en la eficacia de esta terapia ⁹.

Monitorizar a los pacientes es beneficioso para estar atentos al riesgo de recaídas de cada uno de ellos y poder así modificar lo que sea necesario para asegurar la mayor eficacia posible ²⁴. El seguimiento de las recaídas debe ser individualizado y se basa fundamentalmente en realizar un hemograma completo con diferencial (un recuento sanguíneo que incluye el recuento de glóbulos blancos, el recuento de glóbulos rojos, la variación de tamaño de glóbulos rojos, el hematocrito, la hemoglobina, el tamaño promedio de glóbulos rojos, etc, que se utiliza para diagnosticar muchas afecciones diferentes, entre ellas la anemia y las infecciones) y una biopsia y aspiración de la médula ósea junto con una evaluación de enfermedad residual mínima cada 3 meses durante los 6 a 12 meses posteriores a la infusión ²⁹. Las recaídas suelen ir asociadas al retorno de las células B normales en sangre, por lo que el recuento de estas en la sangre periférica tras los primeros 6 meses desde la terapia puede permitir detectar el fin temprano de la aplasia de células B ^{24,29}.

5.2. Seguridad

Una parte esencial a tener en cuenta de las terapias innovadoras son los efectos adversos o la toxicidad que conllevan. En la tabla 2 se han descrito los efectos adversos de la terapia génica de células CAR-T dirigida a CD19, entre los que se encuentran también los relacionados con Tisagenlecleucel.

En este apartado se describirán en profundidad los más comunes, entre los que encontramos en síndrome de liberación de citocinas (SLC), las toxicidades neurológicas y la aplasia de células B.

El síndrome de liberación de citocinas (SLC) es un proceso inflamatorio causado por la liberación de citocinas pro-inflamatorias durante la activación y expansión de las células CAR-T ³¹. Ocurre a las horas o días tras la infusión de células CAR-T y se caracteriza por la elevación de citocinas que causan síntomas como fiebre, mialgias, malestar, síndrome de fuga capilar asociado con hipoxia, hipotensión, disfunción renal y coagulopatía ²². Citocinas como la IL-6 y el IFN-gamma son las más elevadas, aunque podemos encontrar otras como el factor de necrosis tumoral alfa (TNF α), la IL-10, IL-12p70, IL-1 beta, IL-2, IL-4 e IL-8 ^{22,25}. Otros parámetros que también podemos encontrar elevados son la proteína C reactiva (PCR) y la ferritina.

Efecto adverso	Síntomas
SLC	Fiebre alta, escalofríos, mialgia, artralgias, náuseas, vómitos, diarrea, diaforesis, erupción, anorexia, fatiga, dolor de cabeza, hipotensión, disnea, taquipnea, hipoxia y taquicardia. Pueden observarse también alteraciones orgánicas como insuficiencia cardiaca, insuficiencia renal y daño hepático.
Toxicidad neurológica	La encefalopatía, el síndrome confusional y los delirios pueden ser graves o potencialmente mortales. También se puede observar confusiones, afasia y dificultades en el habla.
Infecciones y neutropenia febril	Fiebre, escalofríos, sudoración, dolor abdominal, aftas en la boca y diarrea.
Citopenias controladas	Palidez, sangrado de nariz, hematomas y sangrado en las heces y la orina
Neoplasias secundarias	Como carcinoma de células escamosas y melanoma maligno.
Hipogammaglobulinemia	Infecciones respiratorias repetitivas e infecciones GI.
Síndrome de lisis tumoral	Náuseas, vómitos, tetania, letargo, convulsiones.

Tabla 2. Efectos adversos de la terapia génica de células CAR-T dirigidas a CD19³².

El SLC se clasifica según los criterios de Penn en 5 grados que son: grado 1: reacciones leves que requieren soporte (antipiréticos y antieméticos); grado 2: reacciones moderadas con necesidad de tratamiento intravenoso; grado 3: reacciones graves que requieren intervenciones más agresivas como suplementación de flujo alto de oxígeno y altas dosis de vasopresores; grado 4: reacciones que amenazan la vida que pueden requerir ventilación mecánica; grado 5: muerte^{12,31}.

La elevación tanto de IL-6 como de PCR y ferritina pueden ser biomarcadores que alerten sobre el riesgo de toxicidad que puede tener cada paciente y, además, pueden ser usados como unos marcadores de control de la toxicidad, especialmente la PCR y la ferritina, ya que sus elevaciones en suero son más fáciles de medir en comparación con las elevaciones de interleucinas. La PCR podría considerarse un indicador de laboratorio para la gravedad del SLC y, en combinación con parámetros clínicos simples, permite identificar a pacientes que requieran tratamiento farmacológico y un seguimiento intensivo³³. Los estudios han demostrado que los pacientes que sufrieron SLC grave tuvieron una marcada elevación de PCR y ferritina, a la vez que una alta proporción de IL-6, en comparación con los pacientes que sufrieron SLC no grave²⁴. Los pacientes que presentan concentraciones de PCR de

150 o más mg/l y concentraciones de ferritina de 10.000 o más ng/ml fueron más probables de padecer SLC grave. La hiperferritinemia puede actuar como un gran distintivo para diferenciar la fiebre por SLC de la fiebre por infecciones, en las cuales no se observa una elevación de la ferritina ²³.

Se ha demostrado también que la carga tumoral y la gravedad del SLC están relacionadas. Una carga de enfermedad elevada, mayor o igual a un 5% de blastos en la médula ósea (MO), es un condicionante para padecer un SLC grave y requerir una mayor atención médica en comparación con aquellos que desarrollan un SLC no grave, los cuales tiene una carga de enfermedad inicial baja (<5% blastos en MO) ^{5,8,23}. Los pacientes con SLC grave también presentaban una elevación en los niveles de células CD8+ para CTL019 y células CD3+ para CTL019 ^{22,24}. Debido a estas correlaciones algunos autores han preferido una estrategia para adaptar la dosis infundida de células CAR-T anti CD19 en pacientes con mayor carga de enfermedad, un esquema de dosificación personalizado que mejore el índice terapéutico y que cause el menor daño posible al paciente ¹¹.

El SLC tiene un tratamiento farmacológico que permite su manejo. Este tratamiento está basado en terapia de apoyo, tocilizumab (anticuerpo monoclonal anti-receptor de IL-6), tocilizumab junto con corticoesteroides o corticoesteroides solos ⁵. Se ha observado que la expansión máxima y la persistencia de Tisagenlecleucel fueron menores en pacientes tratados con corticoesteroides, mientras que estas dos características no se vieron afectadas en pacientes tratados con tocilizumab, debido a esto se prefiere el uso de tocilizumab como tratamiento de primera línea ^{8,33}.

Las complicaciones o eventos neurológicos también son efectos adversos muy comunes en esta terapia, los cuales pueden llegar a causar hasta incluso la muerte. Generalmente los efectos neurotóxicos comienzan cuando el SLC se ha resuelto o a la finalización de éste ^{24,31}, por lo que al realizar análisis se ha visto que las concentraciones de IL-6 e IFN-gamma eran muy elevadas. Una detección de estas elevaciones, en concreto la de IL-6, poco después de la infusión de Kymriah puede usarse para identificar a pacientes que presenten un elevado riesgo de desarrollar eventos neurotóxicos ²³. Ciertos estudios han observado que esta neurotoxicidad está relacionada con un aumento de citocinas pro-inflamatorias y de células CAR-T en el líquido cefalorraquídeo ^{22,31}.

Es recomendable monitorizar a los pacientes tras la infusión, sobre todo los primeros 10 días, para sí poder detectar signos y síntomas característicos del SLC,

de la toxicidad neurológica y de otros posibles eventos adversos. Esta monitorización debe realizarse a criterio médico y a veces es mejor que los pacientes se queden hospitalizados durante estos primeros 10 días, y, si esto no fuera posible, deben saber que tiene que permanecer cerca de centros que estén especializados y preparados para poder tratar los efectos adversos que se presenten ¹².



6. DISCUSIÓN

La leucemia linfoblástica aguda es el tipo de leucemia más frecuente en los niños, aunque la edad no es un factor determinante ya que se diagnostica también en muchos pacientes adultos. Hasta hace relativamente poco, la terapia farmacológica se había limitado a quimioterapia y anticuerpos monoclonales, que conseguían controlar la enfermedad durante un tiempo limitado, pero tarde o temprano los pacientes no consiguen mantener la remisión que habían logrado. Como se ha visto anteriormente, la terapia con células CAR-T es una terapia innovadora y prometedora para pacientes con LLA en recaída o refractaria que ya hayan sido tratados con 2 o más terapias.

Los avances han permitido llegar a esta terapia en la que se modifican genéticamente los linfocitos T para que estos ataquen a las células cancerígenas. Los linfocitos T expresan en su superficie un receptor de antígeno quimérico (CAR) específico para un determinado antígeno, en este caso CD19, que se expresa en las células tumorales ³¹. Estas células CAR-T dirigidas a CD19 necesitan también de dominios coestimuladores. Por un lado, encontramos a CD3z, que proporciona la señal de activación de las células T, y, por otro lado, el dominio coestimulador 4-1BB cuya inclusión se ha demostrado que ha dado mayores beneficios que el dominio coestimulador CD28, logrando una mayor expansión in vivo de las células CAR-T en los pacientes ⁷.

Tisagenlecleucel fue la primera terapia de células CAR-T dirigidas a CD19 aprobada para el tratamiento de niños y adultos jóvenes menores de 25 años con LLA r/r con más de dos líneas de tratamiento previas ⁹. Las características de los pacientes pueden afectar a la farmacocinética y la respuesta, pero un estudio demostró que la expansión in vivo de las células CAR-T no está relacionada con factores específicos ⁸. Sí se ha comprobado que la carga de enfermedad tumoral está relacionada tanto con la expansión in vivo como con la probabilidad de sufrir efectos adversos derivados de la terapia y con el riesgo de los mismos ^{5,11}.

En cuanto a la eficacia, se ha demostrado que la supervivencia a largo plazo y la remisión completa de los pacientes ha sido de mayor duración cuando han sido tratados con terapia CAR-T dirigida a CD19 o Tisagenlecleucel en comparación con la supervivencia a largo plazo y la remisión completa de pacientes que habían recibido tratamientos convencionales como son Clofarabina, blinatumumab, Intozumab onzogamicina o terapia combinada de clofarabina con etopósido y ciclofosfamida

^{22,29,31}. Sin embargo, en la eficacia no solo influye el tipo de terapia que se le administre a los pacientes, sino que hay otros aspectos como son la administración o no de terapia linfodeplectora antes de la infusión de Tisagenlecleucel, el número de terapias previas recibidas por el paciente y, como se ha mencionado antes, la carga tumoral del paciente.

Se ha demostrado que la administración de quimioterapia puente y de quimioterapia linfodeplectora, basada en ciclofosfamida y fludarabina, antes de la infusión de las células CAR-T pueden suponer un beneficio y ayudar a la expansión debido al agotamiento de células T reguladoras que produce, así como por el aumento de citocinas que proporcionan la expansión ²⁹.

Aunque la persistencia de las células CAR-T en los pacientes es larga, algunos de ellos también experimentan recaídas tras un tiempo. Estas recaídas pueden ser CD19+, debido a la pérdida de las células CAR-T, o CD19-, debido a la aparición de una mutación o un clon resistente. Se sigue trabajando en cómo prevenir estas recaídas con células CAR-T que se dirijan a más de un antígeno o intentando aumentar la persistencia de las células CAR-T en el paciente ^{8,9}.

Los principales efectos adversos que se han observado han sido el síndrome de liberación de citoquinas y los efectos neurotóxicos, ambos graves en la mayoría de pacientes ²⁵. El síndrome de liberación de citoquinas es un proceso inflamatorio que se desarrolla tras la infusión de las células CAR-T y que se caracteriza por la elevación de citocinas proinflamatorias como la IL-6. El SLC a menudo no ha originado numerosas muertes y ha podido ser tratado y controlado con tocilizumab y corticoesteroides. Sin embargo, el tratamiento con corticoesteroides ha sido controvertido, ya que se ha visto el uso de estos puede reducir considerablemente la eficacia de la terapia. Por otro lado, los efectos neurotóxicos más relevantes han sido la encefalopatía y las convulsiones, las cuales también han podido ser tratadas con la terapia farmacológica correspondiente ^{22,24}. Aunque estos efectos graves preocupen, las terapias convencionales también presentan efectos adversos similares en gravedad y peligro por lo que estos efectos conocidos, pero no deseados, no deberían ser los condicionantes de uso de esta terapia.

Sin embargo, una buena eficacia que proporcione resultados alentadores y unos efectos adversos que puedan controlarse y que no sean muy peligrosos no son las únicas variables que hacen que una terapia pueda ser efectiva. Hay que tener en

cuenta otros aspectos como son la logística, los aspectos económicos, la distribución, la infusión, etc. Esta terapia requiere una forma de organización diferente ya que involucra a un equipo multidisciplinar que tiene que estar en contacto en todo momento para asegurar que el proceso se desarrolla con la mayor calidad posible. La unidad de aféresis y los bancos de sangre tiene un papel crítico en la producción, en la obtención de células T que posteriormente serán modificadas, la criopreservación y el envío al fabricante ¹³. Aunque Tisagenlecleucel esté disponible en 150 centros en todo mundo, su fabricación solo se lleva a cabo en algunos centros de Estados Unidos y de la Unión Europea que están especializados en las Buenas Prácticas de Fabricación requeridas debido a la producción tan compleja que necesita ⁹.

Sin embargo, ante todas estas adversidades, la calidad de vida de los pacientes que han sido tratados con esta terapia ha crecido de forma muy significativa y los resultados de los estudios son prometedores una vez que han finalizado los episodios de efectos adversos. Por todo ello merece la pena afrontar los retos que supone el proceso de fabricación, distribución, administración, la selección de los pacientes, la imprescindible y precisa comunicación entre el equipo multidisciplinar que interviene en todo el proceso... así como los nuevos enfoques que se desarrollarán para aumentar la eficacia y disminuir los efectos adversos de la terapia ^{10,31}.

7. CONCLUSIONES

- La terapia con células CAR-T para el tratamiento de LLA de células B en niños y adultos jóvenes en r/r con más de dos líneas previas de tratamiento es una terapia innovadora con resultados muy favorecedores.
- La carga tumoral previa a la infusión de células CAR-T19 está relacionada tanto con la eficacia de la terapia como con la intensidad y probabilidad de sufrir efectos adversos graves.
- Es necesario realizar un seguimiento previo del paciente, antes de la infusión, para poder saber si cumple los criterios o no para ser candidato de esta terapia y si lo es, poder establecer una pauta de quimioterapia puente y terapia linfodeplectora. Siendo también es importante hacer un seguimiento del paciente después de la infusión.
- Tiene efectos adversos graves, pero actualmente tienen unos criterios de identificación muy bien definidos y existe un tratamiento farmacológico para controlarlos.
- El síndrome de liberación de citoquinas y los efectos neurológicos tóxicos han sido los efectos adversos más predominantes en los pacientes que han recibido Tisagenlecleucel o terapia con células CAR-T.
- A priori parece un tratamiento muy complejo, cuya principal dificultad es la tecnología necesaria para la fabricación, pero resulta, menos complejo que un trasplante de células madres hematopoyéticas. Solo se necesita una buena coordinación del equipo sanitario para que los procesos de leucoaféresis, criopreservación, fabricación, etc. se realicen de forma coherente
- Los estudios han demostrado que tiene una mayor eficacia, representada por una mayor supervivencia general y supervivencia libre de eventos, que las terapias convencionales que ya existían para la LLA.

8. BIBLIOGRAFÍA.

1. Leucemia: MedlinePlus enciclopedia médica [Internet]. [cited 2024 Apr 11]. Available from: <https://medlineplus.gov/spanish/ency/article/001299.htm>
2. Tratamiento de la leucemia linfoblástica aguda en adultos (PDQ®) - NCI [Internet]. [cited 2024 Apr 11]. Available from: <https://www.cancer.gov/espanol/tipos/leucemia/pro/tratamiento-all-adulto-pdq>
3. 5. Generalidades sobre el tratamiento de la Leucemia Linfoblástica Aguda | AEAL [Internet]. [cited 2024 Apr 11]. Available from: <https://www.aeal.es/leucemia-linfoblastica-aguda-espana/5-generalidades-sobre-el-tratamiento-de-la-leucemia-linfoblastica-aguda/>
4. Quimioterapia para la leucemia linfocítica aguda [Internet]. [cited 2024 Apr 11]. Available from: <https://www.cancer.org/es/cancer/tipos/leucemia-linfocitica-aguda/tratamiento/quimioterapia.html>
5. Park JH, Rivière I, Gonen M, Wang X, Sénéchal B, Curran KJ, et al. Long-Term Follow-up of CD19 CAR Therapy in Acute Lymphoblastic Leukemia. *New England Journal of Medicine*. 2018 Feb;378(5):449–59.
6. Genotipia [Internet]. [cited 2024 Apr 11]. Available from: https://genotipia.com/genetica_medica_news/leucemia-linfoblastica-aguda/
7. Milone MC, Fish JD, Carpenito C, Carroll RG, Binder GK, Teachey D, et al. Chimeric receptors containing CD137 signal transduction domains mediate enhanced survival of T cells and increased antileukemic efficacy in vivo. *Molecular Therapy*. 2009;17(8):1453–64.
8. Mueller KT, Waldron E, Grupp SA, Levine JE, Laetsch TW, Pulsipher MA, et al. Clinical Pharmacology of Tisagenlecleucel in B-cell Acute Lymphoblastic Leukemia. *Clinical Cancer Research*. 2018 Dec 15;24(24):6175–84.
9. Braendstrup P, Levine BL, Ruella M. The long road to the first FDA-approved gene therapy: chimeric antigen receptor T cells targeting CD19. Vol. 22, *Cytotherapy*. Elsevier B.V.; 2020. p. 57–69.
10. Vairy S, Garcia JL, Teira P, Bittencourt H. CTL019 (Tisagenlecleucel): CAR-T therapy for relapsed and refractory B-cell acute lymphoblastic leukemia. Vol. 12, *Drug Design, Development and Therapy*. Dove Medical Press Ltd.; 2018. p. 3885–98.
11. Frey N V, Shaw PA, Hexner EO, Pequignot ; Edward, Gill ; Saar, Luger SM, et al. Optimizing Chimeric Antigen Receptor T-Cell Therapy for Adults With Acute

- Lymphoblastic Leukemia. *J Clin Oncol* [Internet]. 2019;38:415–22. Available from: <https://doi>.
12. CHMP. ANEXO I FICHA TÉCNICA O RESUMEN DE LAS CARACTERÍSTICAS DEL PRODUCTO.
 13. Briones-Meijide J. Chimeric antigen-receptor (CAR) T cells: The revolution of the cell and personalized therapy for cancer. Vol. 43, *Farmacia Hospitalaria*. Elsevier B.V.; 2019. p. 173–4.
 14. Laetsch TW, Maude SL, Rives S, Hiramatsu H, Bittencourt H, Bader P, et al. Three-Year Update of Tisagenlecleucel in Pediatric and Young Adult Patients With Relapsed/Refractory Acute Lymphoblastic Leukemia in the ELIANA Trial. *J Clin Oncol* [Internet]. 2022;41:1664–9. Available from: <https://doi>.
 15. Detalles del estudio | Estudio de eficacia y seguridad de CTL019 en pacientes pediátricos con LLA | *ClinicalTrials.gov* [Internet]. [cited 2024 Apr 21]. Available from:
<https://clinicaltrials.gov/study/NCT02435849?term=NCT02435849&rank=1>
 16. Study Details | Study of Efficacy and Safety of CTL019 in Pediatric ALL Patients | *ClinicalTrials.gov* [Internet]. [cited 2024 Apr 21]. Available from:
<https://clinicaltrials.gov/study/NCT02228096?term=NCT02228096&rank=1>
 17. Detalles del estudio | CART19 para tratar la leucemia o el linfoma de células B resistentes o refractarios a la quimioterapia | *ClinicalTrials.gov* [Internet]. [cited 2024 Apr 21]. Available from:
<https://clinicaltrials.gov/study/NCT01029366?term=NCT01029366&rank=1>
 18. Study Details | Study of Redirected Autologous T Cells Engineered to Contain Anti-CD19 Attached to TCR and 4-1BB Signaling Domains in Patients With Chemotherapy Resistant or Refractory Acute Lymphoblastic Leukemia | *ClinicalTrials.gov* [Internet]. [cited 2024 Apr 21]. Available from:
<https://clinicaltrials.gov/study/NCT02030847?term=NCT02030847%20&rank=1>
 19. Study Details | Laboratory Treated T Cells in Treating Patients With Relapsed or Refractory Chronic Lymphocytic Leukemia, Non-Hodgkin Lymphoma, or Acute Lymphoblastic Leukemia | *ClinicalTrials.gov* [Internet]. [cited 2024 Apr 21]. Available from:
<https://clinicaltrials.gov/study/NCT01865617?term=NCT01865617&rank=1>
 20. Study Details | Precursor B Cell Acute Lymphoblastic Leukemia (B-ALL) Treated With Autologous T Cells Genetically Targeted to the B Cell Specific

- Antigen CD19 | ClinicalTrials.gov [Internet]. [cited 2024 Apr 21]. Available from: <https://clinicaltrials.gov/study/NCT01044069?term=NCT01044069&rank=1>
21. Study Details | Phase I/IIA Study of CART19 Cells for Patients With Chemotherapy Resistant or Refractory CD19+ Leukemia and Lymphoma | ClinicalTrials.gov [Internet]. [cited 2024 Apr 21]. Available from: <https://clinicaltrials.gov/study/NCT01626495?term=NCT01626495&rank=1>
 22. Park JH, Geyer MB, Brentjens RJ. CD19-targeted CAR T-cell therapeutics for hematologic malignancies: Interpreting clinical outcomes to date. Vol. 127, *Blood*. American Society of Hematology; 2016. p. 3312–20.
 23. Turtle CJ, Hanafi LA, Berger C, Gooley TA, Cherian S, Hudecek M, et al. CD19 CAR-T cells of defined CD4+:CD8+ composition in adult B cell ALL patients. *Journal of Clinical Investigation*. 2016 Jun 1;126(6):2123–38.
 24. Maude SL, Frey N, Shaw PA, Aplenc R, Barrett DM, Bunin NJ, et al. Chimeric Antigen Receptor T Cells for Sustained Remissions in Leukemia. *New England Journal of Medicine*. 2014 Oct 16;371(16):1507–17.
 25. 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. *New England Journal of Medicine*. 2018 Feb;378(5):439–48.
 26. Study Details | Clinical Study With Blinatumomab in Pediatric and Adolescent Patients With Relapsed/Refractory B-precursor Acute Lymphoblastic Leukemia | ClinicalTrials.gov [Internet]. [cited 2024 Apr 21]. Available from: <https://clinicaltrials.gov/study/NCT01471782?term=NCT01471782&rank=1>
 27. Jeha S, Gaynon PS, Razzouk BI, Franklin J, Kadota R, Shen V, et al. Phase II study of clofarabine in pediatric patients with refractory or relapsed acute lymphoblastic leukemia. *Journal of Clinical Oncology*. 2006 Apr 20;24(12):1917–23.
 28. Ma Q, Zhang J, O'Brien E, Martin AL, Agostinho AC. Tisagenlecleucel versus historical standard therapies for pediatric relapsed/refractory acute lymphoblastic leukemia. *J Comp Eff Res*. 2020 Aug 1;9(12):849–60.
 29. Kansagra AJ, Frey N V., Bar M, Laetsch TW, Carpenter PA, Savani BN, et al. Clinical utilization of Chimeric Antigen Receptor T-cells (CAR-T) in B-cell acute lymphoblastic leukemia (ALL)—an expert opinion from the European Society for Blood and Marrow Transplantation (EBMT) and the American Society for

- Blood and Marrow Transplantation (ASBMT). Bone Marrow Transplant. 2019 Nov 1;54(11):1868–80.
30. Frey NV. Relapsed ALL: CAR T vs transplant vs novel therapies. Hematology Am Soc Hematol Educ Program [Internet]. 2021;2021(1):1–6. Available from: <http://dx.doi.org/10.1182/hematology.2021000225>
 31. Sánchez-Escamilla M, Yáñez San Segundo L, Urbano-Ispizua Á, Perales MÁ. CAR T cells: The future is already present. Med Clin (Barc). 2019 Apr 5;152(7):281–6.
 32. Síndrome de liberación de citocinas (SLC) después de la inmunoterapia - Juntos by St. Jude [Internet]. [cited 2024 Apr 16]. Available from: <https://together.stjude.org/es-us/diagn%C3%B3stico-tratamiento/efectos-secundarios/s%C3%ADndrome-de-liberaci%C3%B3n-de-citocinas.html>
 33. Davila ML, Riviere 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 [Internet]. Available from: <https://www.science.org>

