



FACULTAD DE FARMACIA

Grado en Farmacia

La inmunoterapia como estrategia prometedora frente al cáncer de mama triple negativo

Memoria de Trabajo Fin de Grado

Sant Joan d'Alacant

Junio 2025

Autor: Natalia Durá Santos
Modalidad: Revisión bibliográfica
Tutor: Esther Caparrós Cayuela

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, a mi familia, en especial a mi madre y a mi padre, por alentarme a dar lo mejor de mí y no dejar que tirara la toalla, ni en estos cinco años de carrera ni en ningún momento de mi vida. Gracias por confiar en mí, espero haceros sentir orgullosos toda la vida.

A Mar, mi prima hermana, gracias por ser mi apoyo incondicional y estar siempre a mi lado.

También me gustaría agradecer a todos mis profesores, por enseñarme muchas de las cosas que sé a día de hoy y por formarme en esta profesión tan bonita. En especial a Esther, mi tutora de esta memoria, gracias por hacer que la inmunología me pareciera algo fascinante desde el primer momento, y por tu mentoría y tu paciencia infinita a lo largo de todo este proceso.

Por último, a mis amigas Sofía, Mónica, Paula, Raquel, Nicole y Sofía: mi alegría durante estos cinco años de carrera —y espero que en muchos más—. Gracias por hacerlo todo más fácil y divertido, por acompañarme y por hacer de estos años los mejores de mi vida.

ÍNDICE

RESUMEN	4
ABSTRACT	5
ABREVIATURAS	6
1. INTRODUCCIÓN	7
1.1 Bases generales del cancer de mamá.....	7
1.2 Fundamentos inmunológicos de la terapia antitumoral.....	8
2. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS	12
3. METODOLOGÍA	13
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	16
1. Analizar las terapias dirigidas al SI innato en el desarrollo del cáncer..	16
Las células dendríticas en la respuesta antitumoral.....	16
Los macrófagos en la respuesta antitumoral (TAM).....	17
Las células NK en la respuesta antitumoral.....	20
2. Revisar los tres fármacos inmunoterápicos más utilizados para el tratamiento del TNBC, destacando sus mecanismos de acción y eficacia clínica.....	22
PEMBROLIZUMAB.....	22
ATEZOLIZUMAB.....	24
SACITUZUMAB GOVITECÁN.....	26
3. Explorar nuevas dianas y estrategias preclínicas de inmunoterapia para el tratamiento del cáncer de mama.....	29
Dianas terapéuticas prometedoras.....	29
Nuevas estrategias de inmunoterapia.....	32
5. CONCLUSIONES	35
6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	36

RESUMEN

El cáncer de mama triple negativo (TNBC) continúa siendo un problema de salud relevante debido a las numerosas limitaciones a las que se enfrentan las terapias de tratamiento actual, que resultan en muchos casos, insuficientes a la hora de frenar la progresión de la enfermedad.

La modulación del sistema inmune innato a través de estrategias como la vacunación de células dendríticas, o el diseño de terapias celulares dirigidas (CAR-T o CAR-NK), ha mostrado resultados terapéuticos prometedores en neoplasias hematológicas. Aun así, se continúa investigando para su aplicación en tumores sólidos, al ofrecer una mayor especificidad contra el antígeno tumoral y reducir el riesgo de dañar tejido sano.

El uso de anticuerpos monoclonales como pembrolizumab, atezolizumab y sacituzumab govitecan tanto en monoterapia como en combinación con quimioterapia, ha demostrado resultados clínicos prometedores en términos de supervivencia global de la enfermedad. No obstante, la baja infiltración de linfocitos, el escape a la vigilancia inmunitaria y las interacciones con el microambiente tumoral inmunosupresor, limitan su efectividad en una parte considerable de los pacientes, haciendo necesario la investigación de nuevas dianas y el perfeccionamiento de las estrategias actuales.

Este trabajo tiene como objetivo estudiar las terapias dirigidas al sistema inmunológico innato en el desarrollo del cáncer, revisar los fármacos inmunoterápicos más utilizados para el tratamiento del TNBC, así como investigar nuevas dianas y estrategias preclínicas potenciales de inmunoterapia celular.

Palabras clave: inmunoterapia, cáncer de mama triple negativo, sistema inmune innato, CAR-T, células dendríticas, CAR-NK, Pembrolizumab, Atezolizumab, Sacituzumab Govitecan, nuevas dianas terapéuticas, terapias combinadas.

ABSTRACT

Triple-negative breast cancer (TNBC) remains a significant public health issue due to the numerous limitations of current treatment therapies, which in many cases are insufficient to slow down disease progression.

Modulation of the innate immune system, through strategies such as dendritic cell vaccination or the development of targeted cell therapies (CAR-T or CAR-NK), has shown promising therapeutic results in hematological malignancies. However, research continues for their application in solid tumors, as these approaches offer greater specificity against tumor antigens and reduce the risk of damaging healthy tissue.

The use of monoclonal antibodies such as pembrolizumab, atezolizumab, and sacituzumab govitecan, either as monotherapy or in combination with chemotherapy, has shown encouraging clinical outcomes in terms of overall survival. Nevertheless, the low infiltration of lymphocytes, immune system evasion, and interactions with the immunosuppressive tumor microenvironment limit their effectiveness in a considerable number of patients, highlighting the need for the investigation of new therapeutic targets and the refinement of current strategies.

This work aims to study therapies targeting the innate immune system in cancer development, review the most commonly used immunotherapeutic drugs for the treatment of TNBC, and explore new potential cellular immunotherapy targets and preclinical strategies.

Key words: immunotherapy, triple negative breast cancer, innate immune system, CAR-T, dendritic cells, CAR-NK, Pembrolizumab, Atezolizumab, Sacituzumab Govitecan, novel therapeutic targets, combination therapies.

ABREVIATURAS

- ADC: conjugado anticuerpo-fármaco
- ADCC: citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos
- α DC1: células dendríticas polarizadas 1
- APC: células presentadoras de antígenos
- ARG1: arginasa 1
- CAR-T: receptor de antígeno quimérico en células T
- CEA: antígeno carcinoembrionario
- DAMP: patrones moleculares asociados a daños
- DC: células dendríticas
- EFS: supervivencia libre de eventos
- EICH: enfermedad injerto contra huésped
- ErbB3: factor de crecimiento epidérmico humano 3
- FasL: ligando FAS
- HLA: antígeno leucocitario humano
- ICAM-1: molécula de adhesión intercelular 1
- IFN- γ : interferón gamma
- IL-10: interleucina 10
- mAB: anticuerpo monoclonal
- MHC 1: complejo mayor de histocompatibilidad de clase I
- MUC-1: glicoproteína de transmembrana mucina 1
- NK: células natural killer
- OS: supervivencia global
- PARP: enzima poli ADP ribosa polimerasa
- pCR: respuesta patológica completa
- PD-1: receptor de muerte programada
- PD-L1: ligando del receptor de muerte programada PD-L1
- PFS: supervivencia libre de progresión
- SG: Sacituzumab govitecán
- SI: sistema inmunológico
- TAM: macrófagos asociados a tumores
- TME: microambiente tumoral
- TNBC: cáncer de mama triple negativo
- Tregs: células T reguladoras

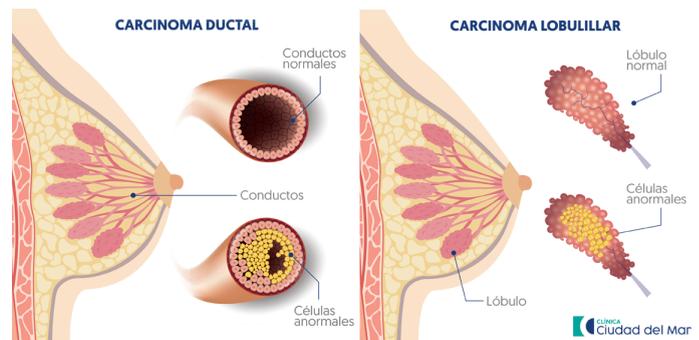
1. INTRODUCCIÓN

1.1 Bases generales del cancer de mamá

El cáncer de mama es el tipo de cáncer con mayor incidencia en mujeres a nivel mundial. Se trata de una neoplasia maligna conocida como carcinoma, ya que nace de las células epiteliales que revisten los tejidos mamarios y está caracterizada por un crecimiento incontrolado y una proliferación desorganizada de las mismas. Estas células cancerosas, se reproducen de manera mucho más rápida de lo habitual, lo que les permite diseminarse a través del torrente sanguíneo o de los vasos linfáticos y alcanzar nuevas áreas del cuerpo generando un estado de metástasis.

Desde el punto de vista anatómico, la mama está formada por unos lóbulos divididos en pequeñas secciones llamados lobulillos, donde se localizan las glándulas productoras de leche durante el periodo de lactancia. Estos lóbulos están conectados a unos conductos encargados de transportar la leche al pezón, conocidos como conductos galactóforos. Las células tumorales se pueden desarrollar tanto en los lóbulos, generando un carcinoma lobulillar, como en los conductos galactóforos, dando lugar a un carcinoma ductal. (1)

Figura 1: Anatomía patológica de un carcinoma ductal y un carcinoma lobulillar tomada de fuente 1.



En cuanto a la etiología, existen varios factores modificables y no modificables que se asocian con la aparición del tumor. Dentro de los modificables o evitables, se puede mencionar la obesidad, el consumo excesivo de alcohol, un estilo de vida sedentario, y la exposición a hormonas exógenas incluidas píldoras anticonceptivas o terapias de reemplazo hormonal. Por otro lado, algunos factores de riesgo no modificables están relacionados con el aumento de la edad y la predisposición genética debido a mutaciones en genes como BRCA1 o BRCA2, PALB2, TP53,

PTEN, STK11 y NF1. Este tumor se clasifica en función de las características moleculares e inmunohistoquímicas, pudiendo ser positivo para algunos de los receptores hormonales de estrógenos (ER), progesterona (PR) y para el receptor 2 del factor de crecimiento epidérmico humano (HER2) o negativo para los tres. Este último tipo, conocido como cáncer de mama triple negativo (TNBC), presenta el abordaje terapéutico más complicado y será el foco de mi trabajo. (1)

Cáncer de mama triple negativo

El TNBC es el tumor de mama más frecuente en mujeres jóvenes y en mujeres portadoras de mutaciones en el gen BRCA1. Se caracteriza por presentar características moleculares heterogéneas definidas por la ausencia de receptores ER, PR y HER2, naturaleza agresiva, y un pronóstico desfavorable. La ausencia de estos receptores hace que no pueda ser tratado con agentes hormonales típicos, como moduladores selectivos de receptores estrogénicos (SERMS), inhibidores de la aromatiza o antagonistas de HER2 a diferencia de otros subtipos de cáncer de mama. No obstante, en los últimos años se han desarrollado varios tratamientos alternativos a las terapias antineoplásicas convencionales, entre los que destaca la inmunoterapia.

La elección de tratamiento de primera línea en TNBC metastásico dependerá de si expresa o no el ligando 1 de muerte programada (PD-L1) y de la presencia de mutaciones en los genes BRCA1 y BRCA 2. Los tumores positivos para este ligando responderán mejor a un tratamiento de inmunoterapia mientras que los tumores con mutación de BRCA se tratarán mejor con quimioterapia y/o inhibidores de la enzima poli ADP ribosa polimerasa (PARP). (2)

1.2 Fundamentos inmunológicos de la terapia antitumoral

Conocer el funcionamiento del sistema inmunitario innato y adaptativo es fundamental para modularlo en beneficio del paciente haciendo uso de agentes biológicos, inhibidores de puntos de control inmunitario o de células modificadas genéticamente que estimulen y potencien una respuesta contra las células tumorales. Las principales diferencias entre ambos sistemas se pueden resumir en la siguiente tabla:

Tabla 1: Comparación entre inmunidad innata e inmunidad adaptativa tomada de fuente 3.

INMUNIDAD INNATA	INMUNIDAD ADAPTATIVA
Respuesta antígeno-independiente	Respuesta antígeno-dependiente
Respuesta inmediata	Respuesta no inmediata: transcurso de tiempo desde exposición hasta respuesta
Antígeno-inespecífica	Antígeno-específica
No genera memoria inmunológica	Genera memoria inmunológica
Componentes: <ul style="list-style-type: none">➤ Barreras físicas y químicas➤ Células fagocíticas: neutrófilos y macrófagos➤ Células NK➤ Células dendríticas➤ Citocinas	Componentes: <ul style="list-style-type: none">➤ Celulares: Linfocitos T➤ Humorales: Anticuerpos

Dentro de cada sistema inmunitario (SI), existen diferentes componentes con un papel clave en la vigilancia, el desarrollo y la respuesta frente al cáncer. La inmunidad innata cuenta con células dendríticas, macrófagos y células NK, mientras que la inmunidad adaptativa, está asociada a la activación de linfocitos T CD4+ y CD8+ y a la producción de anticuerpos específicos contra el antígeno, con el objetivo de llevar a cabo una respuesta antitumoral más específica.

Las células dendríticas son un tipo de células presentadoras de antígenos, encargadas de transportar antígenos a órganos linfoides secundarios, reconocer patrones moleculares asociados a daños (DAMP) liberados en respuesta al estrés, y llevar a cabo la presentación antigénica a linfocitos T vírgenes a través del complejo mayor de histocompatibilidad (MHC I y MHC II). Se localizan en los tejidos, y su movilización y activación está regulada por varias citocinas y quimiocinas liberadas por las células natural killer (NK). Tienen un papel clave de unión clave entre la inmunidad innata y la adaptativa, y sus propiedades para activar y modular la respuesta inmunitaria, las convierte en una herramienta fundamental para la inmunoterapia. (3)

Los macrófagos, originados a partir de los monocitos, se consideran las principales células efectoras del sistema innato debido a su elevada capacidad para adaptarse al ambiente en el que se encuentran. Esta versatilidad puede actuar como un arma de doble filo, ya que pueden diferenciarse a un estado M1 proinflamatorio de activación clásica o a un estado M2 antiinflamatorio de activación alternativa. El fenotipo de macrófago M1 está implicado en la activación y el mantenimiento del proceso inflamatorio, así como también en la eliminación de células tumorales mediante la producción de especies reactivas de oxígeno (ROs) y especies reactivas de nitrógeno (RNIs), mientras que, por otro lado, los macrófagos M2 participan en la reparación de tejidos, la regulación de la inflamación y el mantenimiento de la homeostasis. (4)

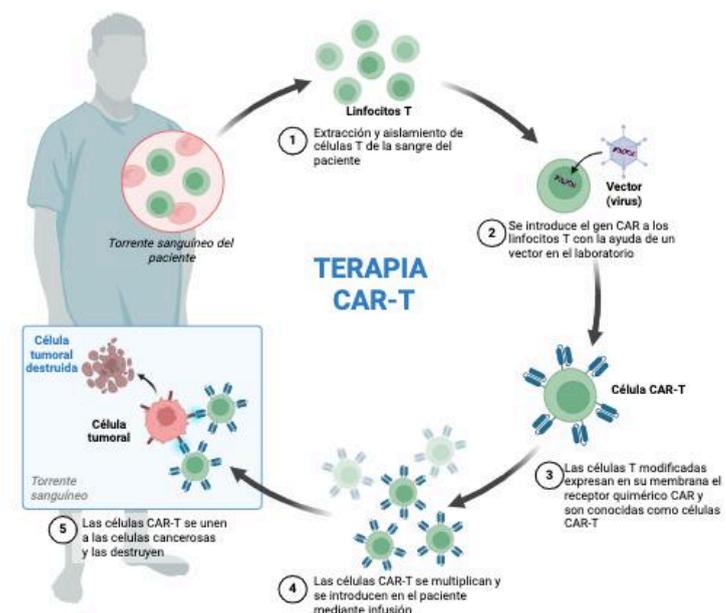
Por último, destaca el papel de las células asesinas naturales o células NK, esenciales en la respuesta antitumoral gracias a su capacidad de reconocer y eliminar células cancerosas que no expresan el MHC I o lo hacen de manera diferente, sin una sensibilización previa. Es el balance entre las señales de activación captadas a través del receptor KAR (Killer Activating Receptor) y las señales de inhibición procesadas por el receptor KIR (Killer Inhibitory Receptor), lo que determinará si estas células atacan o no a la célula diana. Si bien su mecanismo de acción consiste en generar citotoxicidad independiente o dependiente de anticuerpos (ADCC), también son capaces de reconocer ligandos inducidos por estrés celular y secretar citocinas como el interferón gamma (IFN- γ) para activar a otras células inmunitarias.(5)

En cuanto a los mecanismos de la inmunidad adaptativa, destaca la generación de anticuerpos originada por parte de los linfocitos B como parte de la respuesta antígeno-específica. Estas células son las encargadas de la inmunidad humoral y a diferencia de los linfocitos T que maduran en el timo, se originan y maduran en la médula ósea. El proceso de maduración implica la generación de un receptor específico en su membrana a través del cual reconocen al antígeno, se activan y proliferan. Los linfocitos B se pueden diferenciar en células B plasmáticas productoras de anticuerpos, o células de memoria. La otra estrategia fundamental del sistema adaptativo son las células T, clasificadas según la función que desempeñan en la respuesta inmune. Los linfocitos T CD4+ o linfocitos T Helpers

actúan como activadores de linfocitos B y de macrófagos así como estimuladores de un estado pro-inflamatorio; los linfocitos T CD8+ o linfocitos T citotóxicos se encargan de la destrucción de células tumorales mediante citotoxicidad o producción de IFN- γ ; los linfocitos T reguladores, son los responsables de regular la respuesta inmunitaria y mantener la auto-tolerancia. (5)

Sin embargo, a pesar de las numerosas herramientas del SI, la eficacia de la inmunoterapia en el tratamiento del cáncer varía significativamente entre pacientes, ya que va más allá de los mecanismos de inmunidad innata y adaptativa, y depende también del fenómeno de escape tumoral que experimentan las células y de la compleja interacción con el microambiente tumoral (TME). Por esta razón, se continúan buscando nuevas estrategias que permitan modular y potenciar la respuesta inmune en un intento de frenar el crecimiento y la progresión del tumor. Un ejemplo de estos avances es la terapia con receptores quiméricos dirigidos a antígenos tumorales, también conocida como terapia CAR. Esta técnica ha sido implementada tanto en células NK (CAR-NK) como en linfocitos T (CAR-T) mostrando resultados prometedores en neoplasias hematológicas y encontrándose en fases de ensayo en tumores sólidos. La terapia CAR-T consiste en la modificación genética de linfocitos T del paciente para que expresen receptores capaces de reconocer una proteína del tumor y facilitar así el reconocimiento y destrucción de células que presentan el antígeno en su superficie. A continuación, se explica el proceso de obtención de estas células paso a paso. (6)

Figura 2: Terapia de transferencia CAR-T paso a paso, adaptado de fuente 6.



2. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

La hipótesis planteada en este trabajo es la siguiente: La modulación del sistema inmunitario es una herramienta prometedora para utilizar en el tratamiento del TNBN. Además, la inmunoterapia, en monoterapia o asociada con quimioterapia es una estrategia efectiva en pacientes TNBC con opciones limitadas de tratamiento.

Este trabajo se estructura en torno a los siguientes objetivos, formulados para dar respuesta a la hipótesis planteada:

1. Analizar las terapias dirigidas al sistema inmunológico innato en el desarrollo del cáncer.
2. Revisar los tres fármacos inmunoterápicos más utilizados para el tratamiento del TNBC, destacando sus mecanismos de acción y su eficacia clínica.
3. Explorar nuevas dianas y estrategias preclínicas de inmunoterapia para el tratamiento del cáncer de mama.



3. METODOLOGÍA

Para la realización de este TFG, he seguido una metodología estructurada basada en la búsqueda por objetivos, recopilando literatura científica a través de diversas bases de datos tales como PubMed y ClinicalTrials.gov. Para el primer objetivo, he utilizado la búsqueda avanzada de PubMed, empleando las palabras clave “*Immune system breast neoplasms* [Title/Abstract]” en los campos de título y resumen. Sin aplicar ningún filtro, los resultados iniciales han sido 2011 artículos. A continuación he aplicado los siguientes filtros; publicados en el último año (n= 183 resultados), en inglés (n= 182 resultados) y en humanos (n=167 resultados). Para el interés de mi trabajo, he utilizado también otros artículos encontrados en las referencias de los anteriores e incluidos en la bibliografía.

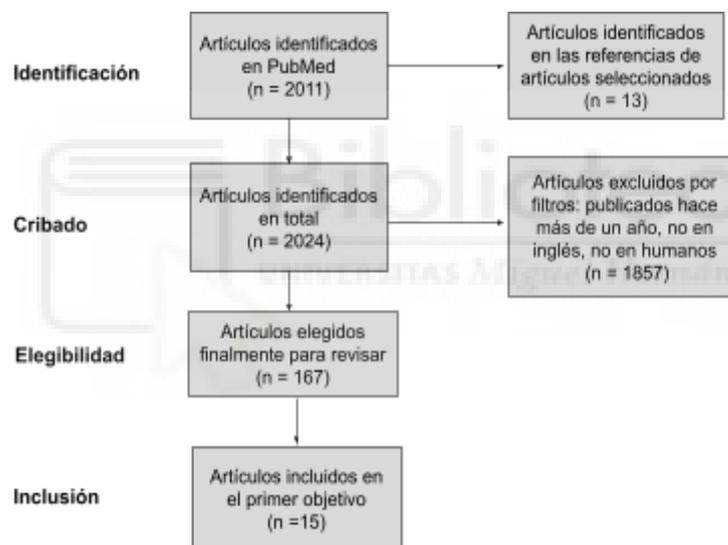


Figura 3. Diagrama PRISMA para la búsqueda sistemática del primer objetivo de mi TFG.

Para la redacción de mi segundo objetivo, he llevado a cabo dos búsquedas distintas en PubMed, la primera me ha permitido encontrar artículos que abordan los dos primeros fármacos y la segunda, está relacionada con el tercer fármaco mencionado. Para los dos primeros fármacos, he utilizado la ecuación de búsqueda (“*Triple Negative Breast Neoplasms*”[MeSH Terms] AND “*pembrolizumab*”[Supplementary Concept]) obteniendo un total de 110 resultados. Aplicando los siguientes filtros, publicados desde el año 2021 hasta 2025 (n= 86 resultados), con resumen y texto completo (n=37 resultados). Además, para

complementar la información, he utilizado otras fuentes como son el Instituto Nacional de Cáncer, y Vademecum, una base de datos específica de medicamentos. También, he utilizado un artículo adicional encontrado en las referencias de los artículos anteriores.

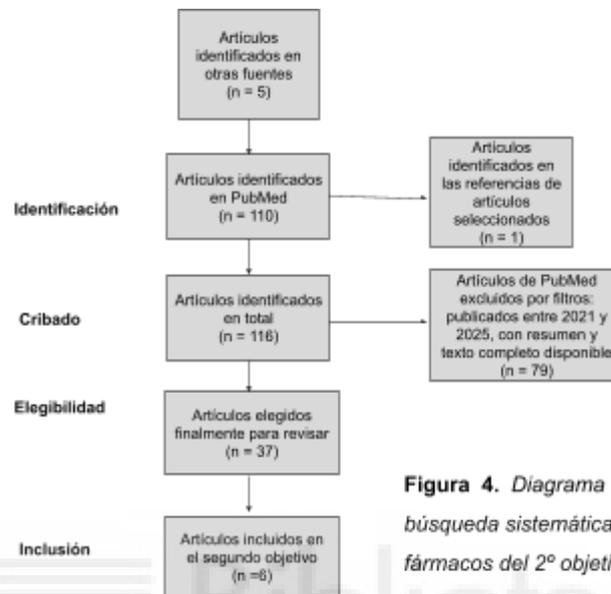


Figura 4. Diagrama PRISMA para la búsqueda sistemática de los 2 primeros fármacos del 2º objetivo de mi TFG.

Para el tercer fármaco, he utilizado la ecuación de búsqueda ("*sacituzumab govitecan*"[Supplementary Concept] AND "*Triple Negative Breast Neoplasms*"[MeSH]), obteniendo un total de 85 resultados. He aplicado los siguientes filtros: publicados desde el año 2021 hasta 2025 (n= 69 resultados) y con resumen y texto completo (n=29 resultados). He utilizado también, un artículo encontrado en las referencias de los anteriores e incluido en la bibliografía.

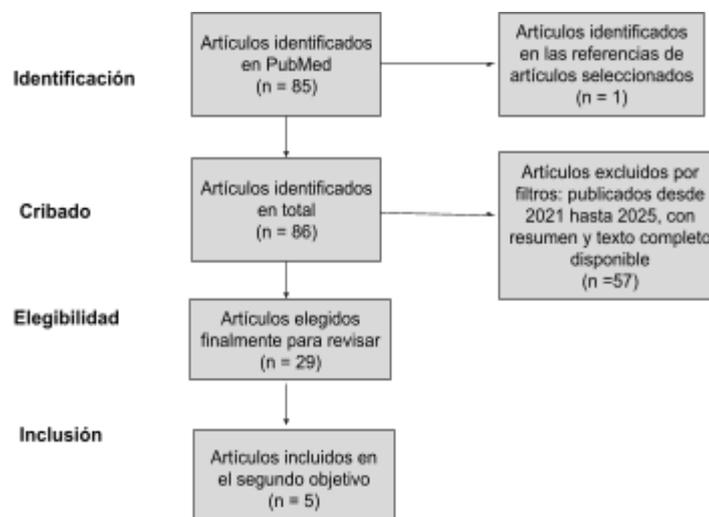


Figura 5. Diagrama PRISMA para la búsqueda sistemática del tercer fármaco del 2º objetivo de mi TFG.

Para el tercer objetivo he generado la siguiente ecuación de búsqueda (*"Breast Neoplasms"[Mesh]*) AND *"Drug Evaluation, Preclinical"[Mesh]*) AND *"Immunotherapy"[Mesh]*) y he obtenido un total de n= 184 resultados. A continuación he aplicado los siguientes filtros: publicados los últimos 5 años (n= 67 resultados), con resumen y texto completo gratuito (n= 46 resultados) y en otros animales no humanos (n=43 resultados). He utilizado además seis artículos encontrados en las referencias de los anteriores e incluidos en la bibliografía.

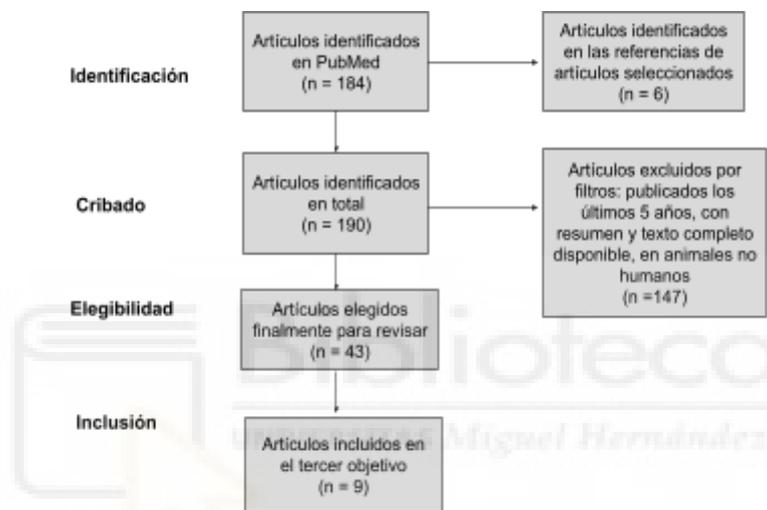


Figura 6. Diagrama PRISMA para la búsqueda sistemática del tercer objetivo de mi TFG.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

1. Analizar las terapias dirigidas al SI innato en el desarrollo del cáncer

La mayoría de las estrategias de inmunoterapia se han centrado en la inmunidad adaptativa; no obstante, el sistema inmunitario innato representa la primera línea de defensa del organismo. Con este primer objetivo de mi TFG, se pretende analizar el papel de los principales componentes implicados en la respuesta antitumoral del SI innato y su modulación mediante terapias dirigidas.(7)

Las células dendríticas en la respuesta antitumoral

Para que se pueda desencadenar la respuesta inmune, el primer requisito es la presencia y acumulación de células dendríticas (DC) en el TME. Una vez que la célula dendrítica madura, aumenta la expresión de moléculas coestimuladoras como CD40, CD80 y CD86, permitiendo llevar a cabo la presentación antigénica a linfocitos T vírgenes tanto en el propio TME como en los ganglios linfáticos cercanos al tumor. Sin embargo, el TME está lleno de moléculas inmunosupresoras, como citocinas antiinflamatorias TGF- β e IL-10, que pueden generar alteraciones y favorecer el desarrollo de células dendríticas tolerogénicas. Estas células no logran madurar correctamente para desencadenar una respuesta inmunitaria efectiva, y en lugar de presentar los antígenos para activar a los linfocitos T, expresan moléculas inhibitorias, como PD-L1 y CTLA-4. (8) Como resultado, estas células dendríticas no solo evitan activar linfocitos T citotóxicos, sino que también estimulan la diferenciación a linfocitos T reguladores induciendo a la inmunosupresión, y facilitando la evasión y el crecimiento del tumor. (9)

➤ Vacunación DC dirigidas a antígenos tumorales

La estrategia terapéutica que se está investigando dirigida a estas células, es la vacunación. Esta estrategia trata de potenciar la capacidad de presentación antigénica mediante la introducción de DC previamente activadas y cargadas con antígenos tumorales del propio paciente, acelerando el proceso de proliferación y activación de linfocitos T. (10) Actualmente, se encuentra en fase de reclutamiento un ensayo clínico de fase II multicéntrico (NCT04348747), que trata de demostrar que la vacunación con DC polarizadas y activadas (α DC1) cargadas con antígenos

tumorales HER2/HER3 en combinación con la administración de pembrolizumab, potencia la respuesta inmune y es efectiva en el tratamiento de TNBC o HER2+ con metástasis cerebral. Los criterios de inclusión del ensayo son pacientes mayores de 18 años con TNBC o HER2+, con un estado funcional ECOG ≤ 1 y con una función adecuada de la médula ósea y órganos. Cada 3 semanas, estos pacientes recibirán una vacuna con α DC1 y una dosis de pembrolizumab durante tres ciclos. Al finalizar los ciclos, los pacientes recibirán dosis de refuerzo cada tres meses, hasta que se produzca progresión de la enfermedad, efectos adversos no tolerables o la retirada voluntaria del estudio. El criterio de valoración del ensayo es la mejora en la respuesta general por parte del sistema nervioso central (SNC) y como criterios secundarios se valorará la respuesta tumoral fuera del SNC o riesgo relativo (RR), la mediana de supervivencia libre de progresión (PFS), la supervivencia global (OS) y los efectos adversos.

Además, el estudio cuenta con un diseño adaptativo estableciéndose que finalizará si no se observa ninguna respuesta en el SNC tras tratar a doce pacientes. Sin embargo, si al menos un paciente muestra una respuesta, nueve pacientes adicionales se añadirán hasta alcanzar un total de veintiuno. Por último, se considerará que la terapia de vacunación de DC en combinación con el pembrolizumab tiene un potencial prometedor para ser evaluado en fases posteriores, si se documentan tres o más respuestas completas al cáncer. (11)

Los macrófagos en la respuesta antitumoral (TAM)

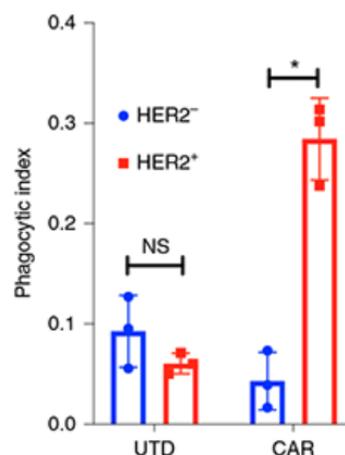
Los macrófagos que se encuentran presentes en el TME y que participan activamente en la iniciación, progresión, angiogénesis y metástasis del tumor, son conocidos como macrófagos asociados a tumores (TAM). Debido a sus características funcionales, este tipo de células presentan un fenotipo muy parecido a los macrófagos antiinflamatorios M2.⁽¹²⁾ Varios estudios demuestran cómo la presencia y acumulación de estas células puede facilitar la progresión del cáncer al liberar factores de crecimiento, citocinas y transformar el TME en un entorno favorable para el crecimiento del tumor. Del mismo modo, son capaces de alterar la función de células citotóxicas al expresar proteínas con acciones inmunosupresoras, como por ejemplo la arginasa 1 (ARG1), la enzima IDO y ligandos de muerte programada como PD-L1. ⁽¹³⁾⁽¹⁴⁾ La elevada presencia de TAM en el TME, parece interferir con la efectividad de los tratamientos convencionales, como la radioterapia,

quimioterapia y las terapias dirigidas, contribuyendo a generar resistencia y reduciendo las posibilidades de eficacia clínica. Es por ello por lo que se han investigado varias terapias centradas en intentar eliminarlos o modificar su comportamiento. (15)

➤ Inmunoterapia dirigida a los TAM

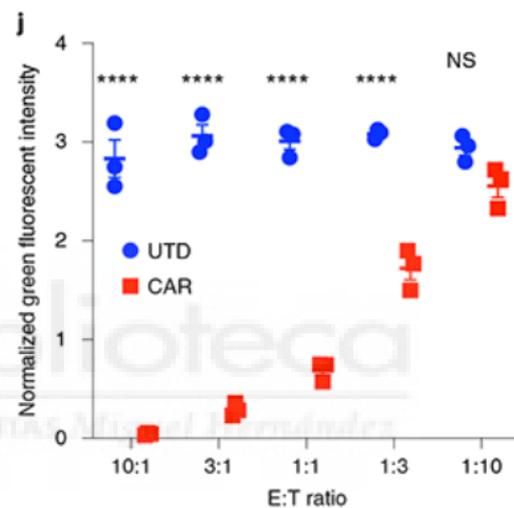
La inhibición del reclutamiento de los TAM, así como su reprogramación, están resultando ser estrategias eficaces de inmunoterapia en pacientes con cáncer. Para que un TAM alcance el TME, necesita ser impulsado por quimiocinas y por la activación de la vía del factor estimulante de colonias 1 y su receptor (CSF1-CSF1R). Es por ello por lo que, numerosos ensayos han intentado bloquear esta vía mediante anticuerpos monoclonales anti-CSF1 como cabiralizumab u otras moléculas inhibitoras como CSF1R BLZ945, tratando de limitar su presencia y actividad. (16) Sin embargo, uno de los principales inconvenientes que surge al inhibir el reclutamiento de estas células, es la pérdida de las propiedades antitumorales que poseen los macrófagos del fenotipo M1. (15) Con el fin de conservar estas propiedades, se plantean otras terapias dirigidas a estas células, como la reprogramación o la terapia con células CAR-M. Esta última, sigue el mismo procedimiento que el diseño de la terapia CAR-T pero aplicada a macrófagos y monocitos. Para evaluar la eficacia terapéutica de los CAR-M, se llevaron a cabo estudios preclínicos en modelos murinos que sobreexpresan el antígeno HER2 simulando el microambiente tumoral de un tumor sólido. En estos modelos, se introdujeron macrófagos humanos modificados genéticamente mediante un vector adenoviral (Ad5f35) para inducir la expresión de un receptor de antígeno quimérico CAR específico frente a HER2. En modelos animales, estos macrófagos CAR anti-HER2 mostraron una actividad fagocítica específica, selectiva y dependiente de la dosis celular.

Figura 7: Comparación de la actividad fagocítica entre macrófagos UTD y CAR anti-HER2 + en células HER2+ y HER2-, tomado de fuente 16.



Tal y como se observa en la gráfica, se midió el índice de fagocitosis de macrófagos humanos no modificados (UTD) frente a macrófagos modificados con un receptor CAR anti-HER2, en células HER2+ y HER2-. Como resultado se obtuvo que, la fagocitosis por parte de macrófagos CAR fue significativamente mayor en células que expresaban el receptor frente a células que no lo expresaban. Mientras que, los macrófagos UTD no mostraron diferencias considerables en la eliminación entre células HER2 + y HER2-. Estos resultados evidenciaron que en ausencia del CAR, no existía una especificidad hacia el antígeno y que por tanto, la modificación del macrófago con este receptor permite identificar y destruir con mayor selectividad y especificidad células tumorales.

Figura 8: Eliminación tumoral dependiente de la proporción efector:tumor medida mediante la intensidad fluorescente verde, tomada de fuente 16.



Además, se evaluó la capacidad de eliminar células tumorales por parte de macrófagos UTD frente a macrófagos CAR anti-HER2 en función de la proporción efector:tumor, es decir, en función del número de macrófagos frente al número de células tumorales. Cuando el número de macrófagos CAR era superior respecto al número de células tumorales, E:T 10:1, 3:1 y 1:1, la intensidad fluorescente verde que indicaba la cantidad de células tumorales viables, disminuyó casi a cero reflejando una gran eliminación tumoral. Por otro lado, los macrófagos UTD no mostraron cambios relevantes en la intensidad verde a lo largo de las distintas proporciones, lo que indicó una actividad fagocítica limitada. Estos resultados demostraron que los macrófagos CAR eliminan células tumorales HER2+ de manera dependiente de la dosis celular, es decir, a mayor número de macrófagos CAR, más fagocitosis y mayor eliminación del tumor. (16)

Las células NK en la respuesta antitumoral

La presencia de las células NK en el ambiente del tumor está relacionada con un pronóstico relativamente favorable en la mayoría de los casos. Sin embargo, en el caso de neoplasias sólidas, es muy difícil aprovechar el potencial antitumoral de estas células ya que, al contrario que en tumores hematológicos, presentan una limitada capacidad de infiltración. Una vez se activan las NK, ponen en marcha distintos mecanismos citotóxicos como la liberación directa de perforinas y granzimas, la citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos o la expresión de ligandos, FasL o TRAIL, cuya unión al receptor expresado en la célula tumoral, induce a su apoptosis. Además, liberan IFN- γ que promueve la activación clásica de macrófagos ayudando a frenar el crecimiento del tumor.⁽¹⁵⁾⁽¹⁷⁾

➤ Terapia de células CAR-NK

La principal estrategia de inmunoterapia dirigida a células NK es la terapia celular CAR-NK, desarrollada a raíz del éxito de las CAR-T en tumores hematológicos, surge como alternativa o complemento de esta estrategia dirigida a tumores sólidos. No solo permite mantener su capacidad natural de identificación y eliminación de células tumorales, sino también permite optimizar su efectividad mediante la activación dirigida, incluso en tumores que desarrollan mecanismos de evasión inmunológica. ⁽¹⁸⁾ Las células CAR-NK ofrecen ventajas respecto a las CAR-T, ya que presentan menor riesgo de producir el síndrome de liberación de citocinas, y una mayor capacidad de activar diversos mecanismos citotóxicos. Además, pueden ser generadas a gran escala a partir de donantes sanos y almacenarse y distribuirse para su uso inmediato. Este procedimiento se conoce como estrategia "off-the-shelf", y permite reducir los costos y tiempos de producción, al no ser necesario personalizar la terapia para cada paciente a diferencia de las CAR-T, que deben de obtenerse del propio individuo. Además, cabe destacar que las células NK alogénicas, procedentes de un donante genéticamente diferente al receptor, presentan un riesgo bajo de producir la enfermedad injerto contra el huésped (EICH) y no requieren compatibilidad con el antígeno leucocitario humano (HLA), lo que facilita su utilización en la clínica. ⁽¹⁵⁾⁽¹⁹⁾

El primer ensayo clínico que evaluó la seguridad y efectividad de la terapia CAR-NK en tumores sólidos (NCT02839954) utilizó como diana a la glicoproteína mucina-1

(MUC-1), presente en diversos tipos de cáncer, entre ellos el cáncer de mama y de ovario. El proceso de obtención y extracción de estas células es diverso, pudiéndose obtener de distintas fuentes como sangre periférica, cordón umbilical u otras líneas celulares del paciente. Una vez aisladas, se activan por medio de citoquinas y se someten a un proceso de transducción génica con vectores virales para que expresen el receptor CAR. Estas células NK cargadas con el receptor, se infunden y expanden en el paciente, y se unen al antígeno MUC-1 presente en la célula tumoral, de manera mucho más específica (Figura 9). La unión desencadena una potente respuesta antitumoral y la activación de varios mecanismos citotóxicos, como la liberación de perforinas y granzimas, la inducción de la apoptosis y la citotoxicidad mediada por anticuerpos.

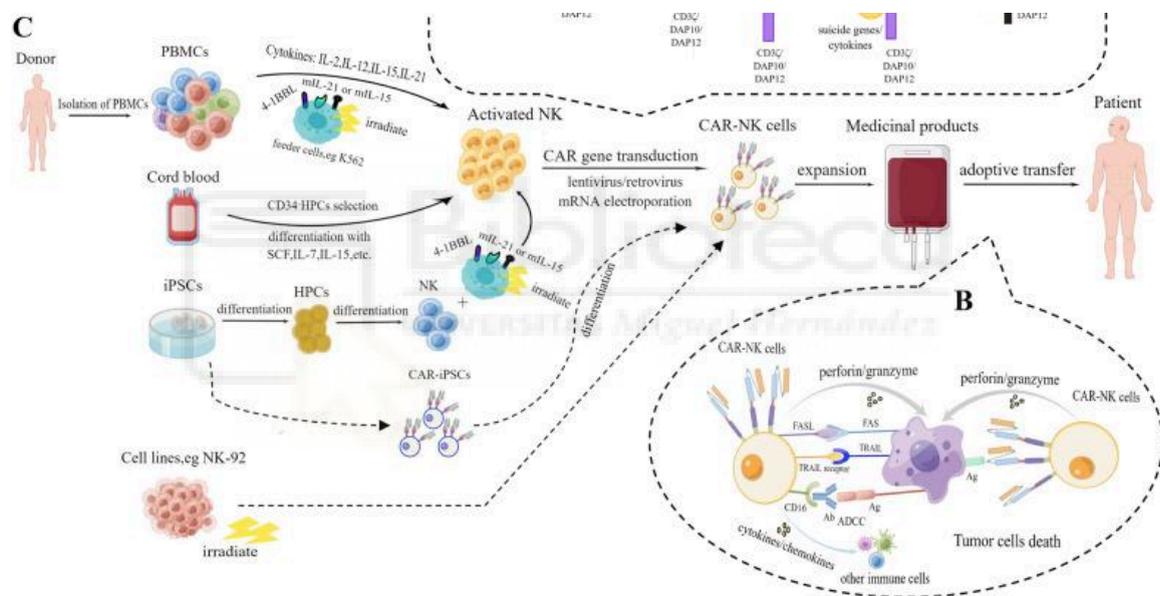


Figura 9: Proceso de obtención y mecanismo de acción de las células CAR-NK tomada de fuente 20.

Hasta la fecha, no se han publicado resultados oficiales sobre su eficacia, pero según la información preliminar disponible, siete de los ocho pacientes que se trataron lograron mantener la enfermedad estable, sin experimentar efectos adversos graves. El ensayo resalta la necesidad de perfeccionar esta terapia celular usando tecnología genética adaptada específicamente a la estructura de las NK, estudiando mecanismos de activación y expansión de células NK más rápidos y tratando de aumentar su presencia en el TME. (20)

Como se ha expuesto en este primer objetivo, existen distintas estrategias para modular la inmunidad innata y potenciar la respuesta antitumoral. La vacunación de DC dirigidas a antígenos tumorales está siendo estudiada en ensayos clínicos y aunque el estudio mencionado se encuentra todavía en fase de reclutamiento, se espera obtener resultados concluyentes sobre su eficacia y seguridad. En cuanto a la terapia CAR-M, a diferencia de otras terapias celulares que han resultado ineficaces, ha demostrado su efectividad en modelos animales de tumores sólidos, consolidándose como una potente técnica de inmunoterapia celular. Por último, la terapia con células CAR-NK, que a pesar de haber mostrado resultados favorables en tumores hematológicos donde la infiltración de las células NK es mayor, aún no cuenta con ensayos clínicos publicados que evalúen su efectividad en tumores sólidos, lo que refleja la necesidad de seguir investigando.

2. Revisar los tres fármacos inmunoterápicos más utilizados para el tratamiento del TNBC, destacando sus mecanismos de acción y eficacia clínica.

En este segundo objetivo, se revisarán los tres fármacos de inmunoterapia más utilizados para el tratamiento del TNBC mencionando su mecanismo de acción así como los ensayos clínicos que demuestran su eficacia en la práctica clínica. Aprobados entre 2019 y 2021, los dos primeros fármacos forman parte del grupo de inhibidores de puntos de control inmunitario mientras que el tercero se incluye dentro del grupo de conjugados anticuerpo-fármaco (ADC).

PEMBROLIZUMAB

Uno de los fármacos más potentes para el tratamiento del TNBC es el pembrolizumab, conocido comercialmente como Keytruda. Se trata de un anticuerpo monoclonal humanizado que actúa como un inhibidor de puntos de control inmunitario al unirse y bloquear al receptor de muerte programada PD-1. Este receptor, funciona como un regulador negativo de la actividad de linfocitos T y desempeña un papel clave en el control de las respuestas inmunitarias. El mecanismo de acción del fármaco se basa en impedir la interacción del receptor con sus ligandos, PD-L2 y PD-L1, este último sobreexpresado en la superficie de algunas células tumorales y de algunas células presentadoras de antígenos (APC).

La unión del receptor a sus ligandos impide el reconocimiento y la destrucción de las células tumorales por parte de los linfocitos T, permitiéndoles esquivar la respuesta inmunitaria. (21)(22)

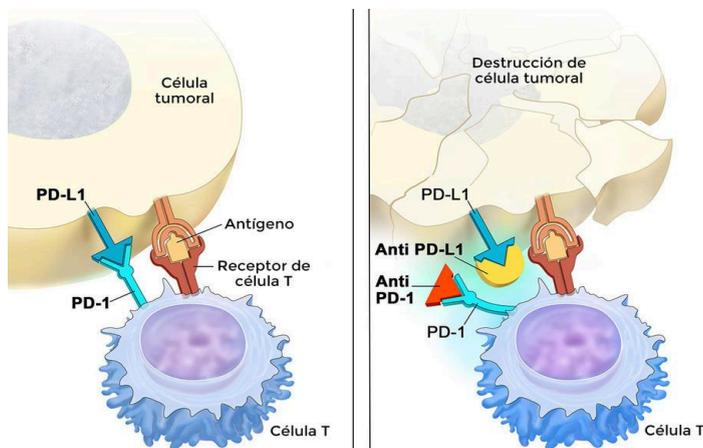


Figura 10. Mecanismo de acción de Pembrolizumab tomado de fuente 23.

Su eficacia clínica quedó evidenciada gracias al ensayo clínico de fase III KEYNOTE-522, en el que se evaluó el tratamiento de pembrolizumab combinado con quimioterapia como terapia neoadyuvante y pembrolizumab en monoterapia como terapia adyuvante en pacientes con TNBC avanzado. En el contexto neoadyuvante, el tratamiento se administró antes de la cirugía para reducir el tamaño del tumor y facilitar su extirpación, mientras que en el contexto adyuvante, se aplicó después de la cirugía para eliminar las posibles células cancerosas que pudieran quedar y reducir así el riesgo de recurrencia. La población diana de este estudio fueron pacientes con TNBC en estadios II o III no tratado previamente y fueron asignados aleatoriamente en una proporción 2:1 en dos grupos:

- Grupo pembrolizumab-quimioterapia (784 pacientes): recibieron cuatro ciclos de pembrolizumab junto con quimioterapia basada en paclitaxel y carboplatino.
- Grupo placebo-quimioterapia (390 pacientes): recibieron el placebo siguiendo el mismo esquema de quimioterapia.

Tras completar los ciclos y realizarse la extirpación por medio de cirugía, los pacientes continuaron con tratamiento adyuvante con pembrolizumab o placebo cada tres semanas. Los criterios de valoración del ensayo se midieron en función de la respuesta patológica completa (pCR), es decir, en función de la ausencia total de

células cancerosas en el tumor tras el tratamiento, y en función de la supervivencia libre de eventos (EFS) sin progresión de la enfermedad, recaídas o muerte.

En el estudio, se obtuvo que el grupo de pacientes tratados con pembrolizumab y quimioterapia obtuvieron una pCR del 64,8% frente al 51,2% del grupo control, que solo recibieron placebo y quimioterapia (Figura 11). Además, durante el seguimiento de los pacientes, se observó que 58 de 784 pacientes del grupo fármaco, un 7,4% y 46 de 390 del grupo placebo, un 11,8% experimentaron; una progresión de la enfermedad, la aparición de un segundo tumor o fallecieron, confirmando que la EFS fue mayor en el grupo tratado con pembrolizumab. Los efectos secundarios más comunes fueron fiebre neutropénica y anemia y los pacientes tratados con el fármaco presentaron una mayor aparición de eventos que llevaron a la interrupción del tratamiento. (24)

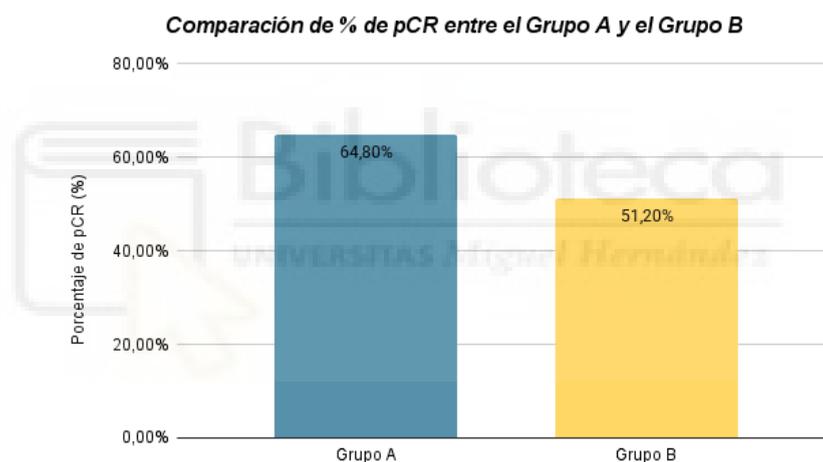


Figura 11. Comparación de la tasa de respuesta patológica completa entre los grupos de tratamiento, creación propia.

ATEZOLIZUMAB

El primer inhibidor de punto de control inmunitario aceptado como terapia para el TNBC fue el atezolizumab, conocido comercialmente como Tecentriq. Su mecanismo de acción es similar al pembrolizumab, ya que ambos pertenecen a la misma clase farmacológica, pero actúan sobre diferentes dianas del SI.

El atezolizumab es un anticuerpo monoclonal humanizado de tipo inmunoglobulina G1 (IgG1), modificado en su región Fc y diseñado para unirse específicamente al ligando de muerte programada, PD-L1. Su unión con el ligando, impide que este

pueda interactuar con el receptor PD-1, lo que ayuda a evitar que se produzca la supresión de la respuesta inmune antitumoral mediada por esta vía. El bloqueo de la unión ligando-receptor permite que tanto los linfocitos T como otras células inmunitarias se vuelvan a activar potenciando la respuesta antitumoral. A diferencia de otros anticuerpos monoclonales, el atezolizumab no induce citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos (ADCC) por lo que evita la aparición de efectos secundarios no deseados. Además, a diferencia del pembrolizumab, sí que mantiene la interacción entre el receptor y el ligando PD-L2, lo que hace que algunas señales de punto de control inmunitario persistan evitando una activación excesiva del SI.

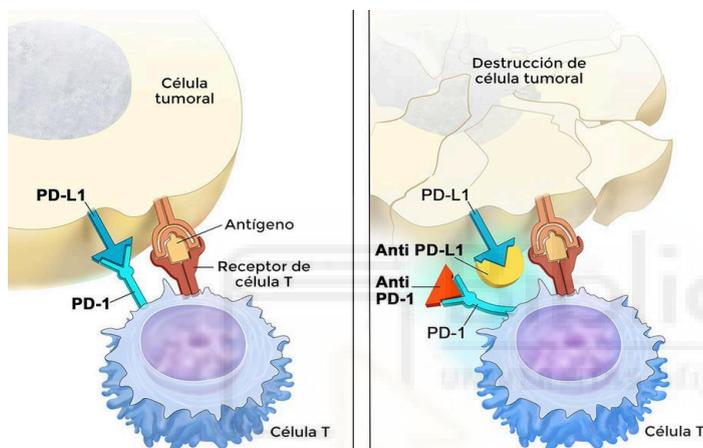


Figura 12. Mecanismo de acción de Atezolizumab tomado de fuente 23.

En 2019 la FDA aprueba de manera acelerada la combinación de atezolizumab con nab-paclitaxel como opción de tratamiento en pacientes con TNBC avanzado o metastásico, que no puedan someterse a cirugía y que sean positivos para el receptor PD-L1. Su administración conjunta ha mostrado buenos resultados y parece que el beneficio es mayor cuando se administra como primera línea de tratamiento en lugar de como opciones posteriores. (25)

En el ensayo clínico de fase III IMpassion130, se evaluó el tratamiento de atezolizumab combinado con nab-paclitaxel utilizando como población diana pacientes con TNBC metastásico no tratado previamente. El estudio se mantuvo hasta la progresión de la enfermedad o la aparición de efectos tóxicos no tolerables. Los pacientes fueron asignados aleatoriamente en dos grupos en una proporción 1:1 y dentro de cada grupo, los pacientes podían ser positivos o negativos para el ligando PD-L1. Por ello, los resultados se analizaron de dos maneras, en la

población general y en el subgrupo de pacientes que expresaban el receptor. Algunos de los criterios que se utilizaron para comparar entre los grupos fueron, el uso previo de taxanos en terapias neoadyuvantes o adyuvantes, la presencia de metástasis hepáticas al inicio del estudio y la expresión positiva o negativa del ligando.

- Grupo atezolizumab más nab-paclitaxel (451 pacientes): recibieron atezolizumab en combinación con nab-paclitaxel como parte del tratamiento.
- Grupo placebo más nab-paclitaxel (451 pacientes): recibieron placebo junto con nab-paclitaxel.

Los resultados del estudio se midieron en términos de supervivencia libre de progresión (PFS) y la supervivencia global (OS), tanto en la población general como en el subgrupo de pacientes PD-L1 positivo. En la población general, la PFS media fue de 7,2 meses en el grupo tratado con atezolizumab, frente a 5,5 meses en el grupo placebo. La supervivencia global también fue mayor en el grupo que recibió atezolizumab. En el subgrupo de pacientes PD-L1 positivo, la PFS media fue de 7,5 meses con atezolizumab, en comparación con 5 meses con placebo. Además, la supervivencia global en este grupo fue significativamente superior en los pacientes tratados con atezolizumab respecto a los que recibieron placebo. Los efectos adversos más comunes fueron alopecia, náuseas, neutropenia, hipotiroidismo y neuropatía periférica. Los eventos graves aparecieron en ambos grupos, siendo las tasas de interrupción del tratamiento más altas en el grupo de atezolizumab. (26)

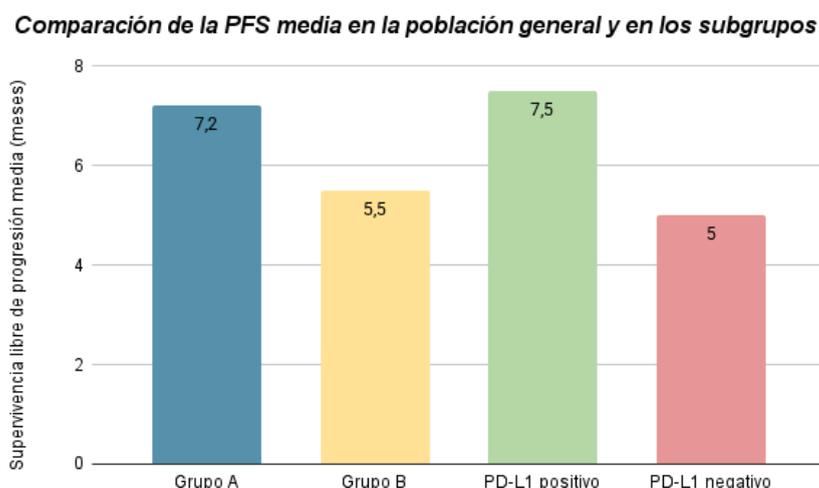


Figura 13: Supervivencia libre de progresión media en la población general y subanálisis en pacientes PD-L1 positivos y PD-L1 negativos, creación propia.

SACITUZUMAB GOVITECÁN

El sacituzumab govitecán (SG), se trata de un conjugado anticuerpo-fármaco dirigido contra Trop-2, una glicoproteína transmembrana que se encuentra sobreexpresada en la superficie de diversas células tumorales, incluidas en las células de pacientes con TNBC. Este fármaco está formado por un anticuerpo monoclonal que se une específicamente a Trop-2 (anti-Trop-2) ligado por medio de un enlazador, con una molécula citotóxica llamada SN-38. Esta molécula es conocida por ser el metabolito activo del irinotecán, un agente antineoplásico perteneciente al grupo de inhibidores de la topoisomerasa I.(27) Una vez que el anticuerpo se une a la célula diana, es internalizado liberando SN-38, que inhibe a la topoisomerasa I impidiendo la reparación de las roturas de cadena simple del ADN y provocando un daño irreparable, que finaliza con la apoptosis celular.

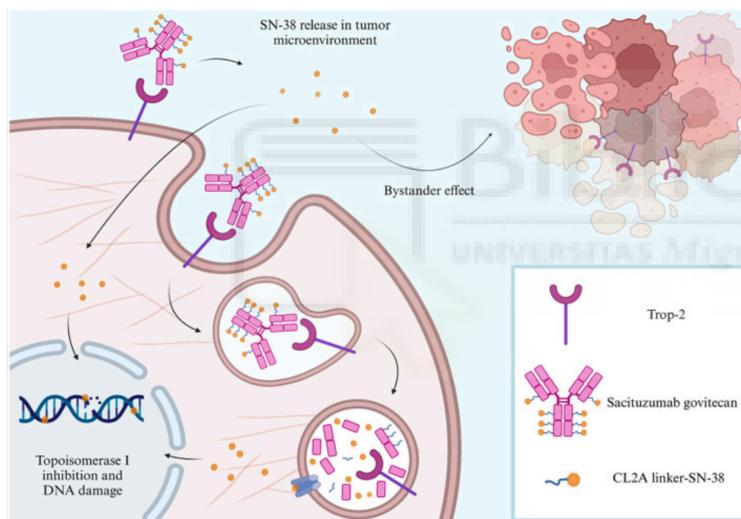


Figura 14. Mecanismo de acción de Sacituzumab govitecán tomado de fuente 29.

Además, aunque está diseñado para unirse específicamente a Trop-2, el SG ha demostrado retrasar la progresión del cáncer y mejorar la tasa de supervivencia en casos en los que la expresión de la glicoproteína es baja. Esto se debe al conocido bystander effect o efecto espectador, por medio del cual, la unión del fármaco con la célula diana estimula la liberación de SN-38 tanto en el interior de la célula como en el TME, induciendo a la apoptosis de las células próximas al tumor. Este hecho, hace que pueda considerarse un fármaco de gran utilidad y una alternativa terapéutica prometedora en pacientes con opciones limitadas. (28)(29)

En el ensayo clínico de fase III ASCENT, se evaluó el SG frente a quimioterapia de agente único (eribulina, vinorelbina, capecitabina o gemcitabina). La población diana fueron pacientes con TNBC metastásico que habían recaído o eran reticentes al tratamiento previo. El estudio continuó hasta la progresión de la enfermedad o la aparición de efectos adversos graves. Los participantes fueron asignados aleatoriamente en proporción 1:1 en dos grupos:

- Grupo sacituzumab govitecan (235 pacientes): recibieron el conjugado anticuerpo-fármaco.
- Grupo quimioterapia (233 pacientes): recibieron únicamente quimioterapia.

Los criterios de valoración del ensayo fueron la PFS y la OS. Tras analizar los resultados, se demostró que los pacientes tratados con SG alcanzaron una mediana de PFS de 5,6 meses, mucho mayor en comparación con los 1,7 meses observados en el grupo de quimioterapia. Además, la supervivencia global también resultó ser mucho más alta para el grupo tratado con SG frente al grupo de quimioterapia. En cuanto al perfil de seguridad del fármaco, los efectos adversos más frecuentes fueron neutropenia, diarrea, náuseas y anemia. Los problemas graves fueron más comunes en el grupo fármaco, pero las interrupciones del tratamiento y las muertes fueron poco frecuentes y no se atribuyeron al fármaco. (30) (31)

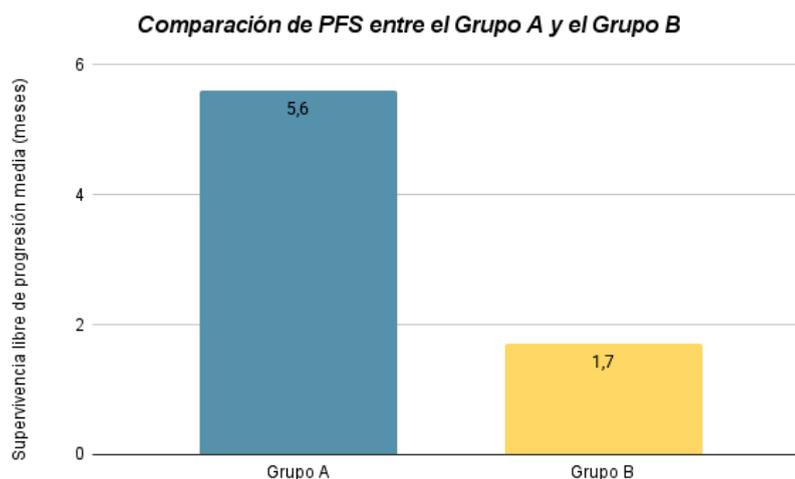


Figura 15: Comparación de las medias de supervivencia libre de progresión entre los grupos de tratamiento, creación propia.

A continuación, se presenta una tabla a modo de resumen mencionando para cada fármaco los aspectos más relevantes.

Tabla 2. Resumen comparativo de los 3 fármacos inmunoterápicos revisados en este objetivo. Creación propia basada en las referencias bibliográficas 21-31.

FÁRMACO	MECANISMO DE ACCIÓN	POBLACIÓN DIANA	RAM	EFICACIA CLÍNICA
Pembrolizumab	Inhibe la interacción de PD-1 con sus ligandos PD-L1 y PD-L2.	Pacientes con TNBC en estadios II o III no tratados previamente.	Neutropenia febril y anemia.	En combinación con quimioterapia, mejora significativamente la pCR incluso en pacientes con baja expresión de PD-L1.
Atezolizumab	Bloquea la unión del ligando PD-L1 con PD-1 manteniendo su interacción con el ligando PD-L2.	Pacientes con TNBC metastásico no tratado previamente.	Alopecia, náuseas, neutropenia, hipotiroidismo y neuropatía periférica.	En combinación con quimioterapia, aumenta la PFS y la supervivencia global, especialmente en pacientes PD-L1 positivos.
Sacituzumab Govitecan	Unión a la proteína Trop-2 y liberación del agente citotóxico SN-38 tanto dentro como fuera de la célula diana (bystander effect).	Pacientes con TNBC metastásico en recaída o refractarios al tratamiento previo.	Neutropenia, diarrea, náuseas y anemia.	Frente a la quimioterapia, prolonga la PFS y la OS incluso con bajos niveles de expresión de Trop-2.

Los ensayos clínicos KEYNOTE-522 y IMpassion 130 demuestran que la combinación de inmunoterapia con quimioterapia ofrece ventajas importantes en el tratamiento del TNBC avanzado. KEYNOTE-522 destaca que la combinación de pembrolizumab con quimioterapia mejora la respuesta patológica completa incluso en pacientes con baja expresión del ligando PD-L1, lo que hace que pueda considerarse como alternativa viable en pacientes que tengan una expresión negativa de dicho receptor. Sin embargo, el valor del perfil molecular del cáncer sí que parece ser importante en el tratamiento con atezolizumab y nab-paclitaxel, ya que presenta una mayor eficacia clínica en pacientes PD-L1 positivos. Por otro lado, el ensayo ASCENT demuestra que la efectividad del sacituzumab govitecan no depende de la sobreexpresión de Trop-2, ya que se han obtenido buenos resultados en casos en los que el nivel de expresión de la proteína es bajo.

En conjunto, estos estudios sugieren que el uso de fármacos de inmunoterapia es una estrategia prometedora tanto en monoterapia como en combinación con quimioterapia, siendo en algunos casos más beneficiosa que el tratamiento único con quimioterapia. Por ello, debería considerarse como opción terapéutica relevante en pacientes con TNBC metastásico o avanzado, especialmente en aquellos con pocas alternativas debido a resistencias previas a la quimioterapia o a una elevada toxicidad a tratamientos convencionales.

3. Explorar nuevas dianas y estrategias preclínicas de inmunoterapia para el tratamiento del cáncer de mama.

Con este tercer objetivo de mi trabajo, se estudian los avances más recientes dirigidos al tratamiento del cáncer de mama dentro del campo de la inmunoterapia, incluyendo nuevas dianas terapéuticas prometedoras y estrategias novedosas para mejorar los resultados clínicos actuales de los pacientes.

Dianas terapéuticas prometedoras

Terapia CAR-NK anti- ErbB3

El receptor del factor de crecimiento epidérmico humano 3 (ErbB3) se trata de una proteína localizada en la membrana plasmática que, junto con otros receptores de

su misma familia, ha demostrado estar sobreexpresado y participar en la iniciación y progresión de tumores mamarios. A pesar de existir terapias dirigidas a receptores ErbB 2, algunas han resultado ser inútiles para determinados pacientes e incluso, han llegado a inducir la aparición de resistencias cuando se administran de manera continuada. Es por ello por lo que, se han desarrollado terapias dirigidas exclusivamente a ErbB 3 haciendo uso de células CAR-NK. Estas células son modificadas para liberar IL-15, una citocina que estimula la proliferación de células antitumorales en el TME.

Para evaluar la eficacia de esta estrategia, se generaron dos tipos de células CAR-NK: unas dirigidas a ErbB3 (CAR-NK anti-ErbB3) y otras dirigidas a CD19 (CAR-NK aCD19), que aunque no son características del cáncer de mama, se utilizaron a modo de control para comprobar que los efectos observados eran específicos del reconocimiento de ErbB3. Ambas células se administraron en ratones portadores de tumores de mama. Tras una única administración, las células CAR-NK anti-ErbB3 redujeron significativamente el volumen de tumor en comparación con los ratones tratados con PBS, (solución salina tamponada con fosfato, utilizada como control negativo) o con células CAR-NK aCD19, demostrando una potente actividad antitumoral específica.

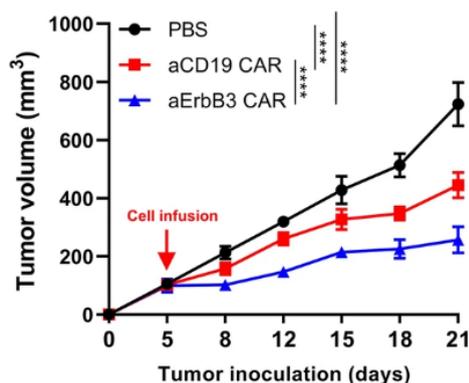


Figura 16. Evolución del volumen del tumor tras una única administración de células CAR-NK anti-ErbB3, CAR-NK aCD19 o PBS tomado de fuente 32.

Estos resultados se reflejan en la gráfica (Figura 16), donde se observa claramente una mayor disminución del volumen tumoral en el grupo tratado con CAR-NK anti-ErbB3. Además, el porcentaje de estas células en el TME fue mucho mayor que el de las células CAR-NK aCD19, sugiriendo una respuesta antitumoral mucho más potente (Figura 17).

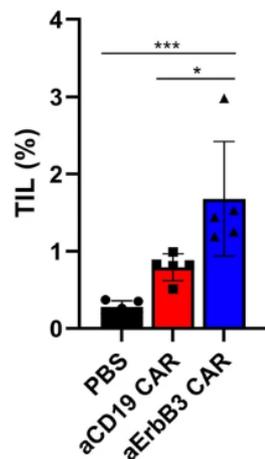


Figura 17: Porcentaje de células CAR infiltradas en el TME tras el tratamiento tomada de fuente 32.

Los resultados obtenidos confirman que la estrategia CAR-NK anti-ErbB3 podría considerarse como alternativa terapéutica eficaz en pacientes con cáncer de mama ErbB3-positivo con opciones de tratamiento limitadas. (32)

Terapia CAR-T anti- DLL4

Las proteínas tipo delta 4, aunque no son exclusivas de células tumorales, participan en la generación de resistencias a la quimioterapia neoadyuvante formada por trastuzumab, pertuzumab y paclitaxel (THP) en pacientes con cáncer de mama HER 2+. Las células tumorales que expresan esta proteína, muestran una mayor pluripotencialidad, es decir, una mayor capacidad para diferenciarse en distintos tipos de células y adaptarse al TME. Estas proteínas ayudan a la generación de resistencias a través de varios mecanismos como la activación de la vía de señalización Notch en neutrófilos, generando trampas extracelulares (NETs) y la exclusión de linfocitos T del entorno tumoral, lo que disminuye la eficacia de la respuesta inmune antitumoral y favorece la progresión del cáncer.

En un intento de potenciar la eficacia de la terapia THP, se diseñaron células CAR-T anti-DLL4 a partir de muestras de pacientes con cáncer de mama HER2+. Los resultados preclínicos mostraron que el tratamiento con estas células revirtió significativamente la resistencia a la quimioterapia THP en modelos de ratón portadores de tumor HER2+ y DLL4+ (Figura 18).

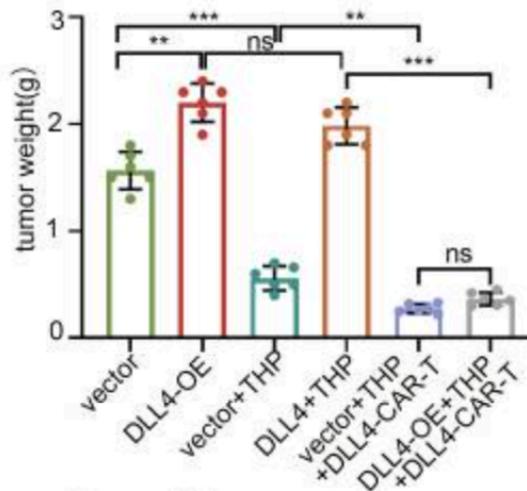


Figura 18: Comparación del peso tumoral tras el tratamiento con terapia THP con y sin CAR-T antiDLL4 tomada de fuente 33.

Cómo aparece reflejado en la gráfica, el peso del tumor es mucho menor cuando se le administra la terapia THP junto con CAR-T anti-DLL4 en comparación a la administración única de la quimioterapia. Además, con la aplicación de la terapia combinada, se produjeron cambios en el TME, aumentando la infiltración de linfocitos T y disminuyendo la formación de trampas extracelulares de neutrófilos. El estudio evidenció el papel clave de la proteína DLL4 en la resistencia a la quimioterapia THP y consolidó a la molécula como una diana potencial y eficaz para la sensibilización de la terapia en pacientes con tumores HER2+.(33)

Nuevas estrategias de inmunoterapia

Blindaje de células CAR-T

Algunas de las principales limitaciones en el tratamiento de tumores sólidos siguen siendo la limitada infiltración de linfocitos en el ambiente tumoral, el escape a la vigilancia del sistema inmunológico, la heterogeneidad celular y las interacciones con el TME inmunosupresor. Por ello, aunque la inmunoterapia con células CAR-T y CAR-NK han resultado muy eficaces en tumores hematológicos, sigue siendo necesario perfeccionar estas estrategias para hacerlas más potentes y efectivas en tumores sólidos. (34)

Una de las estrategias más novedosas es la terapia CAR-T de cuarta generación, CAR-T blindadas o Truck-T. Estas células, no sólo reconocen un antígeno tumoral específico gracias a su receptor CAR, sino que también están diseñadas con cargas útiles adicionales como citocinas, ARN o proteínas, con el objetivo de liberarlas

cuando este receptor se una al antígeno y así potenciar la actividad antitumoral. La liberación de citocinas como IL-12 o IL-18 se ha utilizado en modelos animales para mejorar la infiltración en tumores sólidos y revertir la inmunosupresión del TME. Además, estas cargas pueden programarse para soltarse en momentos o lugares específicos, como por ejemplo la liberación inducida por la unión al antígeno, liberación dependiente de circuitos genéticos sintéticos, la liberación basada en señales del TME o el control de la liberación mediante fármacos. Este mecanismo ayuda a que las células actúen de manera mucho más precisa, reduciendo así efectos indeseados asociados a la activación no controlada del sistema inmunológico. No obstante, todavía no se han publicado resultados oficiales de ensayos clínicos que demuestren el beneficio real de esta estrategia, ya que la mayoría se encuentran en fases tempranas de desarrollo. (35)

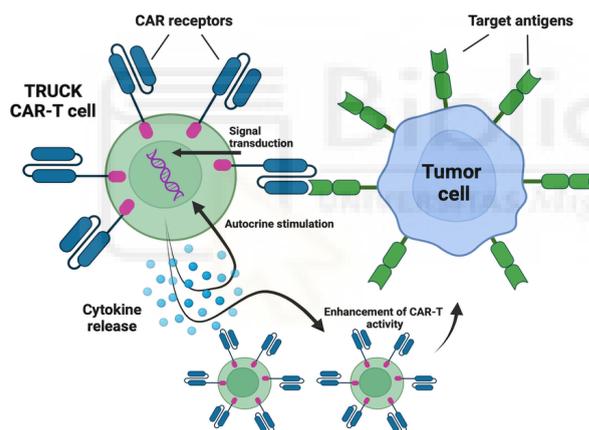


Figura 19. Mecanismo de acción de células CAR-T blindadas con citocinas tomado de fuente 36.

Fotoimmunoterapia de infrarrojo cercano (NIR-PIT)

La fotoimmunoterapia de infrarrojo, conocida por sus siglas en inglés como NIR-PIT, se ha consolidado como una técnica novedosa para el tratamiento del TNBC. Esta estrategia se basa en la creación de un conjugado fotoabsorbente de anticuerpo (APC), compuesto por un anticuerpo monoclonal dirigido contra una molécula sobreexpresada en las células tumorales y una molécula fotoactivable de sílice-ftalocianina IR700. Tras la unión del conjugado a su célula diana (TM), la exposición a luz infrarroja cercana (NIR) activa el IR700, provocando su disociación y un cambio en sus propiedades de hidrófilo a hidrófobo.

Esta alteración, desestabiliza la membrana celular favoreciendo la entrada masiva de agua y generando estrés en la célula, que se hincha hasta inducir su apoptosis. A continuación se muestra la reacción fotoquímica paso a paso. (37)

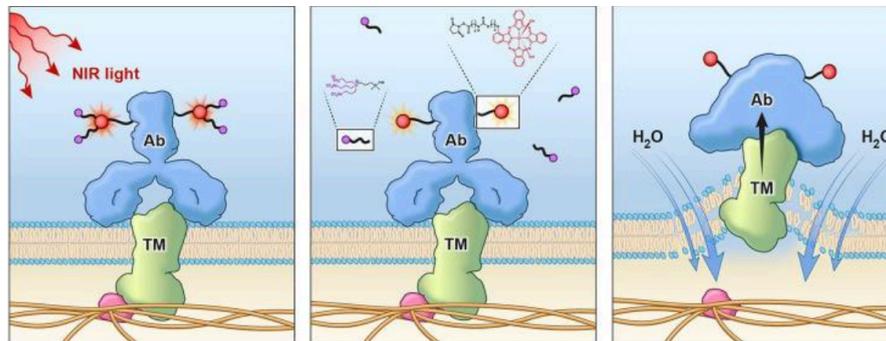


Figura 20: Mecanismo de acción de la fotoinmunoterapia de infrarrojo cercano (NIR-PIT) tomada de fuente 37.

Esta técnica ha demostrado ser efectiva tanto in vitro como in vivo en modelos preclínicos de ratón. La diana del APC fue una proteína transmembrana de adhesión celular, ICAM-1, involucrada en la respuesta inmune y sobreexpresada en varios tipos de cáncer, incluidos el de mama. La aplicación de esta estrategia redujo significativamente el crecimiento del tumor, provocó una alta tasa de muerte tumoral sin afectar a los tejidos próximos al tumor, y mostró una elevada selectividad en células que expresaban ICAM-1 frente a las que no la expresaban. Dado el éxito obtenido en el estudio preclínico, el siguiente paso que se contempla es probar su efectividad en ensayos humanos.(38)

Combinación de la radioterapia guiada por imágenes (IGRT) con la terapia CAR-T

Con el objetivo de mejorar la infiltración de linfocitos T en tumores sólidos, se ha explorado la combinación de la terapia CAR-T con la radioterapia guiada por imágenes (IGRT), un tratamiento basado en la administración localizada de altas dosis de radiación para disminuir la carga tumoral en área concreta del cuerpo. Esta técnica además, estimula al SI al inducir daños en el ADN de las células cancerosas favoreciendo la aparición de DAMPs y nuevas mutaciones, algunas de las cuales se relacionan con la expresión de nuevos antígenos. El reconocimiento de estos antígenos por parte de las CAR-T ayuda a poder identificar estas células antes.

La combinación de ambas terapias permite, por lo tanto, tratar tanto las micrometástasis no detectables con técnicas de imagen, gracias a la acción de las células CAR-T, como los tumores sólidos que presentan baja infiltración de células inmunitarias. (39)

Para demostrar los beneficios de la asociación, se realizó un ensayo en modelos de ratón con TNBC metastásico, diseñando células CAR-T dirigidas contra el antígeno carcinoembrionario (CEA). Los ratones del estudio, se dividieron en tres grupos que fueron tratados de manera distinta: uno recibió una única dosis de radioterapia, otro fue tratado exclusivamente con células CAR-T anti-CEA y el tercer grupo recibió ambas terapias de manera conjunta. Los resultados mostraron que los ratones tratados con la combinación de ambas técnicas experimentaron una mayor reducción del crecimiento del tumor en comparación con los otros grupos. Además, mediante un estudio inmunohistoquímico, se consiguió analizar la cantidad de células CAR-T anti-CEA infiltrantes, demostrando que el porcentaje era mayor cuando se administraban ambas terapias de manera conjunta. Con estos resultados, se evidenció que la IGRT favorecía la infiltración, persistencia y eficacia de la terapia CAR-T.

No obstante, la mayoría de estudios se han llevado a cabo en modelos animales y los ensayos en humanos se encuentran en fases tempranas de desarrollo por lo que, por el momento, no existen resultados clínicos concluyentes que demuestren los beneficios de la combinación de ambas terapias. (40)

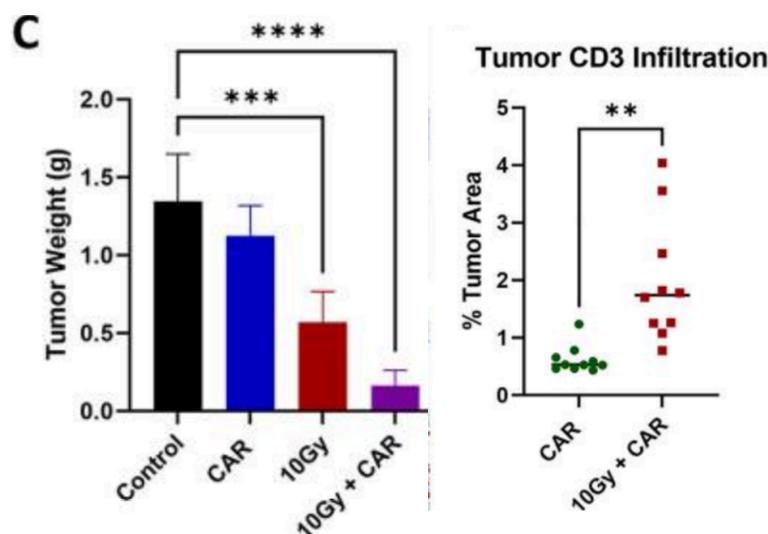


Figura 21: Estudio inmunohistoquímico comparativo de la infiltración de células CAR-T anti-CEA en los tumores, tomada de fuente 40.

5. CONCLUSIONES

1. La modulación del sistema inmunológico innato se ha consolidado como una estrategia prometedora de inmunoterapia en el tratamiento del cáncer de mama.
2. Las terapias dirigidas como la vacunación de DC, el uso de células CAR-M en ensayos preclínicos y la terapia con células CAR-NK en ensayos clínicos, representan una posible alternativa de inmunoterapia celular.
3. El pembrolizumab en combinación con quimioterapia como tratamiento neoadyuvante ha resultado ser más efectivo frente a la quimioterapia única en pacientes con TNBC que muestran una baja expresión de PD-L1.
4. La combinación de atezolizumab con nab-paclitaxel ha demostrado ser más eficaz que la administración única de nab-paclitaxel en adultos con TNBC metastásico PD-L1 positivos.
5. El tratamiento con sacituzumab govitecán presenta una efectividad superior frente a la quimioterapia de agente único en pacientes con TNBC metastásico refractarios al tratamiento previo.
6. La combinación de quimioterapia e inmunoterapia ha demostrado una mayor eficacia que la quimioterapia en monoterapia, al obtener mejores resultados clínicos en términos de respuesta patológica completa, supervivencia libre de progresión y supervivencia global en pacientes con TNBC avanzado.
7. Las moléculas ErbB3 y DLL4 se consolidan como dianas prometedoras al demostrar resultados preclínicos favorables cuando se usan en terapias dirigidas CAR-NK y CAR-T, respectivamente.
8. Las nuevas estrategias de inmunoterapia, como el blindaje de CAR-T, la fotoimmunoterapia de infrarrojo cercano y la combinación de radioterapia con células CAR-T han demostrado en modelos preclínicos, ser capaces de superar las limitaciones de tratamiento asociadas a tumores sólidos.

6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Katsura C, Ogunmwonyi I, Kankam HKN, Saha S. Breast cancer: presentation, investigation and management. *Br J Hosp Med (Lond)* [Internet]. 2022;83(2):1–7. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.12968/hmed.2021.0459>
2. Aysola K, Desai A, Welch C, Xu J, Qin Y, Reddy V, Matthews R, Owens C, Okoli J, Beech DJ, Piyathilake CJ, Reddy SP, Rao VN. Triple Negative Breast Cancer - An Overview. *Hereditary Genet.* 2013;2013(Suppl 2):001. doi: 10.4172/2161-1041.S2-001. PMID: 25285241; PMCID: PMC4181680.
3. Abbas AK, Lichtman AH, Pillai S. *Inmunología Celular Y Molecular*. 10a ed. Elsevier; 2022
4. Zhu S, Yi M, Wu Y, Dong B, Wu K. Roles of tumor-associated macrophages in tumor progression: implications on therapeutic strategies. *Exp Hematol Oncol* [Internet]. 2021;10(1):60. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1186/s40164-021-00252-z>
5. Li T, Niu M, Zhang W, Qin S, Zhou J, Yi M. CAR-NK cells for cancer immunotherapy: recent advances and future directions. *Front Immunol* [Internet]. 2024;15:1361194. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.3389/fimmu.2024.1361194>
6. Dongil CN, Fuentes F, Lluch MTG, Torre ADL, Navarro N, Gámez JV. CAR-T: luces y sombras. *Rev OFIL·ILAPHAR* [Internet]. 2020 [citado el 26 de abril de 2025];30(4):329–33. Disponible en: https://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1699-714X2020000400011&lng=es
7. Yi M, Li T, Niu M, Mei Q, Zhao B, Chu Q, et al. Exploiting innate immunity for cancer immunotherapy. *Mol Cancer* [Internet]. 2023;22(1):187. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1186/s12943-023-01885-w>
8. Del Prete A, Salvi V, Soriani A, Laffranchi M, Sozio F, Bosisio D, et al. Dendritic cell subsets in cancer immunity and tumor antigen sensing. *Cell Mol Immunol* [Internet]. 2023;20(5):432–47. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1038/s41423-023-00990-6>
9. Labani-Motlagh A, Ashja-Mahdavi M, Loskog A. The tumor microenvironment: A milieu hindering and obstructing antitumor immune responses. *Front*

- Immunol [Internet]. 2020;11. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.3389/fimmu.2020.00940>
10. Yu J, Sun H, Cao W, Song Y, Jiang Z. Research progress on dendritic cell vaccines in cancer immunotherapy. *Exp Hematol Oncol* [Internet]. 2022;11(1):3. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1186/s40164-022-00257-2>
 11. Gandhi S, Forsyth PAJ, Opyrchal M, Ahmed KA, Attwood K, Levine EG, et al. Phase IIa study of α DC1 vaccines targeting HER2/HER3 combined with pembrolizumab in patients with asymptomatic brain metastasis from triple negative breast cancer or HER2+ breast cancer. *J Clin Oncol* [Internet]. 2023;41(16_suppl):TPS1112–TPS1112. Disponible en: http://dx.doi.org/10.1200/jco.2023.41.16_suppl.tps1112
 12. Mantovani A, Marchesi F, Malesci A, Laghi L, Allavena P. Tumour-associated macrophages as treatment targets in oncology. *Nat Rev Clin Oncol* [Internet]. 2017;14(7):399–416. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1038/nrclinonc.2016.217>
 13. Xiao P, Long X, Zhang L, Ye Y, Guo J, Liu P, et al. Neurotensin/IL-8 pathway orchestrates local inflammatory response and tumor invasion by inducing M2 polarization of Tumor-Associated macrophages and epithelial-mesenchymal transition of hepatocellular carcinoma cells. *Oncoimmunology* [Internet]. 2018;7(7):e1440166. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1080/2162402X.2018.1440166>
 14. Xiang X, Wang J, Lu D, Xu X. Targeting tumor-associated macrophages to synergize tumor immunotherapy. *Signal Transduct Target Ther* [Internet]. 2021;6(1):75. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1038/s41392-021-00484-9>
 15. Ries CH, Cannarile MA, Hoves S, Benz J, Wartha K, Runza V, et al. Targeting tumor-associated macrophages with anti-CSF-1R antibody reveals a strategy for cancer therapy. *Cancer Cell* [Internet]. 2014;25(6):846–59. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ccr.2014.05.016>
 16. Klichinsky M, Ruella M, Shestova O, Lu XM, Best A, Zeeman M, Schmierer M, Gabrusiewicz K, Anderson NR, Petty NE, Cummins KD, Shen F, Shan X, Veliz K, Blouch K, Yashiro-Ohtani Y, Kenderian SS, Kim MY, O'Connor RS, Wallace SR, Kozlowski MS, Marchione DM, Shestov M, Garcia BA, June CH, Gill S. Human chimeric antigen receptor macrophages for cancer immunotherapy. *Nat Biotechnol*. 2020 Aug;38(8):947-953. doi:

- 10.1038/s41587-020-0462-y. Epub 2020 Mar 23. PMID: 32361713; PMCID: PMC7883632.
17. Bald T, Krummel MF, Smyth MJ, Barry KC. The NK cell-cancer cycle: advances and new challenges in NK cell-based immunotherapies. *Nat Immunol* [Internet]. 2020;21(8):835–47. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1038/s41590-020-0728-z>
18. Xie G, Dong H, Liang Y, Ham JD, Rizwan R, Chen J. CAR-NK cells: A promising cellular immunotherapy for cancer. *EBioMedicine* [Internet]. 2020;59(102975):102975. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ebiom.2020.102975>
19. Maalej KM, Merhi M, Inchakalody VP, Mestiri S, Alam M, Maccalli C, et al. CAR-cell therapy in the era of solid tumor treatment: current challenges and emerging therapeutic advances. *Mol Cancer* [Internet]. 2023;22(1):20. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1186/s12943-023-01723-z>
20. Wang X, Yang X, Yuan X, Wang W, Wang Y. Chimeric antigen receptor-engineered NK cells: new weapons of cancer immunotherapy with great potential. *Exp Hematol Oncol*. 2022 Nov 2;11(1):85. doi: 10.1186/s40164-022-00341-7. PMID: 36324149; PMCID: PMC9628181.
21. Spain VV. ★ Pembrolizumab 🏆 [Internet]. *Vademecum.es*. Vidal Vademecum; 2022 [citado el 28 de diciembre de 2024]. Disponible en: <https://www.vademecum.es/principios-activos-pembrolizumab-l01ff02>
22. Diccionario de cáncer del NCI [Internet]. *Cancer.gov*. 2011 [citado el 28 de diciembre de 2024]. Disponible en: <https://www.cancer.gov/espanol/publicaciones/diccionarios/diccionario-cancer/def/pembrolizumab>
23. FDA aprueba el pembrolizumab para pacientes con cáncer de pulmón de células no pequeñas [Internet]. *Cancer.gov*. 2015 [citado el 10 de enero de 2025]. Disponible en: <https://www.cancer.gov/espanol/noticias/temas-y-relatos-blog/2015/pembrolizumab-pulmon>
24. Dent R, Cortés J, Puzstai L, McArthur H, Kümmel S, Bergh J, Denkert C, Park YH, Hui R, Harbeck N, Takahashi M, Untch M, Fasching PA, Cardoso F, Haiderali A, Jia L, Nguyen AM, Pan W, O'Shaughnessy J, Schmid P. Neoadjuvant pembrolizumab plus chemotherapy/adjuvant pembrolizumab for

- early-stage triple-negative breast cancer: quality-of-life results from the randomized KEYNOTE-522 study. *J Natl Cancer Inst.* 2024 Oct 1;116(10):1654-1663. doi: 10.1093/jnci/djae129. PMID: 38913881; PMCID: PMC11461162.
25. Spain VV. ★ Atezolizumab 🇺🇸 [Internet]. Vademecum.es. 2022 [citado el 28 de diciembre de 2024]. Disponible en: <https://www.vademecum.es/principios-activos-atezolizumab-l01ff05-us>
26. Schmid P, Adams S, Rugo HS, Schneeweiss A, Barrios CH, Iwata H, et al. Atezolizumab and nab-paclitaxel in advanced triple-negative breast cancer. *N Engl J Med* [Internet]. 2018;379(22):2108–21. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1056/NEJMoa1809615>
27. Spain VV. ★ Sacituzumab govitecán 🇺🇸 [Internet]. Vademecum.es. Vidal Vademecum; 2023 [citado el 28 de diciembre de 2024]. Disponible en: <https://www.vademecum.es/principios-activos-sacituzumab+govitecan-l01fx17-us>
28. Rugo HS, Bardia A, Tolaney SM, Arteaga C, Cortes J, Sohn J, et al. TROPiCS-02: A Phase III study investigating sacituzumab govitecan in the treatment of HR+/HER2- metastatic breast cancer. *Future Oncol* [Internet]. 2020;16(12):705–15. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.2217/fon-2020-0163>
29. Rossi V, Turati A, Rosato A, Carpanese D. Sacituzumab govitecan in triple-negative breast cancer: from bench to bedside, and back. *Front Immunol.* 2024 Aug 15;15:1447280. doi: 10.3389/fimmu.2024.1447280. PMID: 39211043; PMCID: PMC11357913.
30. Tolaney SM, DeMichele A, Takano T, Rugo HS, Perou C, Lynce F, Parsons HA, Santa-Maria CA, Rocque GB, Yao W, Sun SW, Mocci S, Partridge AH, Carey LA. OptimICE-RD: sacituzumab govitecan + pembrolizumab vs pembrolizumab (± capecitabine) for residual triple-negative breast cancer. *Future Oncol.* 2024;20(31):2343-2355. doi: 10.1080/14796694.2024.2357534. Epub 2024 Jun 26. PMID: 38922307; PMCID: PMC11520537.
31. Bardia A, Hurvitz SA, Tolaney SM, Loirat D, Punie K, Oliveira M, et al. Sacituzumab govitecan in metastatic triple-negative breast cancer. *N Engl J*

Med [Internet]. 2021;384(16):1529–41. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1056/NEJMoa2028485>

32. Lee J, Song J, Yoo W, Choi H, Jung D, Choi E, Jo SG, Gong EY, Jeoung YH, Park YS, Son WC, Lee H, Lee H, Kim JJ, Kim T, Lee S, Park JJ, Kim TD, Kim SH. Therapeutic potential of anti-ErbB3 chimeric antigen receptor natural killer cells against breast cancer. *Cancer Immunol Immunother*. 2025 Jan 3;74(2):73. doi: 10.1007/s00262-024-03923-y. PMID: 39751931; PMCID: PMC11698710.
33. Yan J, Xie Y, Liu Z, Yang Y, Zhou T. DLL4-targeted CAR-T therapy sensitizes neoadjuvant chemotherapy via eliminating cancer stem cells and reshaping immune microenvironment in HER2+ breast cancer. *J Immunother Cancer*. 2024 Nov 14;12(11):e009636. doi: 10.1136/jitc-2024-009636. PMID: 39542653; PMCID: PMC11575309.
34. Daei Sorkhabi A, Mohamed Khosroshahi L, Sarkesh A, Mardi A, Aghebati-Maleki A, Aghebati-Maleki L, Baradaran B. The current landscape of CAR T-cell therapy for solid tumors: Mechanisms, research progress, challenges, and counterstrategies. *Front Immunol*. 2023 Mar 20;14:1113882. doi: 10.3389/fimmu.2023.1113882. PMID: 37020537; PMCID: PMC10067596.
35. Tang L, Pan S, Wei X, Xu X, Wei Q. Arming CAR-T cells with cytokines and more: Innovations in the fourth-generation CAR-T development. *Mol Ther*. 2023 Nov 1;31(11):3146-3162. doi: 10.1016/j.ymthe.2023.09.021. Epub 2023 Oct 5. PMID: 37803832; PMCID: PMC10638038.
36. Researchgate.net. [citado el 26 de abril de 2025]. Disponible en: https://www.researchgate.net/figure/TRUCKs-cytokine-expressing-CAR-T-cells-TRUCKs-are-next-generation-CAR-T-cells_fig3_364910285
37. Sato K, Ando K, Okuyama S, Moriguchi S, Ogura T, Totoki S, Hanaoka H, Nagaya T, Kokawa R, Takakura H, Nishimura M, Hasegawa Y, Choyke PL, Ogawa M, Kobayashi H. Photoinduced Ligand Release from a Silicon Phthalocyanine Dye Conjugated with Monoclonal Antibodies: A Mechanism of Cancer Cell Cytotoxicity after Near-Infrared Photoimmunotherapy. *ACS Cent Sci*. 2018 Nov 28;4(11):1559-1569. doi: 10.1021/acscentsci.8b00565. Epub 2018 Nov 6. PMID: 30555909; PMCID: PMC6276043.

38. Fukushima H, Kato T, Furusawa A, Okada R, Wakiyama H, Furumoto H, Okuyama S, Kondo E, Choyke PL, Kobayashi H. Intercellular adhesion molecule-1-targeted near-infrared photoimmunotherapy of triple-negative breast cancer. *Cancer Sci.* 2022 Sep;113(9):3180-3192. doi: 10.1111/cas.15466. Epub 2022 Jul 11. PMID: 35723065; PMCID: PMC9459244.
39. Hovhannisyán L, Riether C, Aebersold DM, Medová M, Zimmer Y. CAR T cell-based immunotherapy and radiation therapy: potential, promises and risks. *Mol Cancer.* 2023 May 12;22(1):82. doi: 10.1186/s12943-023-01775-1. PMID: 37173782; PMCID: PMC10176707.
40. Aniogo E, Kujawski M, Awuah D, Cha SE, Espinosa R, Hui S, Ghimire H, Yazaki PJ, Brown CE, Wang X, Shively JE. Targeting CEA in metastatic triple negative breast cancer with image-guided radiation followed by Fab-mediated chimeric antigen receptor (CAR) T-cell therapy. *Front Immunol.* 2024 Dec 20;15:1499471. doi: 10.3389/fimmu.2024.1499471. PMID: 39759518; PMCID: PMC11695362.

