

# Posibilidades actuales de la inmunología en el desarrollo de terapias avanzadas

Coordinador:  
**Manel Juan**



MONOGRAFÍAS 40

# Posibilidades actuales de la inmunología en el desarrollo de terapias avanzadas

Coordinador:  
**Manel Juan**



**DR. ANTONI ESTEVE**  
FUNDACIÓN

©2023, Fundació Dr. Antoni Esteve  
Torre Esteve. Passeig de la Zona Franca, 109. E-08038 Barcelona  
Teléfono: 93 433 53 20  
E-mail: fundacion@esteve.org  
<http://www.esteve.org>

Ilustración de la cubierta: Adobe Stock

ISBN: 978-84-124247-6-8  
Depósito Legal: B 22012-2023  
Impreso en España

Todos los artículos de la presente monografía recogen la opinión de los correspondientes autores, por lo que la Fundació Dr. Antoni Esteve no se hace necesariamente partícipe de su contenido.

Los diferentes capítulos corresponden a las ponencias presentadas en la mesa redonda organizada el 22 de noviembre de 2022 por la Fundació Dr. Antoni Esteve en el Palau Macaya de Barcelona, en colaboración con el Hospital Clínic y la Fundació La Caixa, y moderada por Manel Juan.

La Fundación Dr. Antoni Esteve nació para honrar la figura de este farmacéutico, investigador y emprendedor, centrándose específicamente en un elemento fundamental de su personalidad: el amor y el respeto por la ciencia. Establecida por sus hijos en 1982, la Fundación es una institución sin ánimo de lucro que orienta su actividad hacia la ciencia en general y la farmacoterapia en particular.

El Dr. Antoni Esteve i Subirana nació en Manresa en 1902. Licenciado en Farmacia, fue el quinto boticario de una estirpe de farmacéuticos de esta ciudad. Comenzó preparando especialidades medicinales en la rebotica de su farmacia, pero el crecimiento de esta

actividad, juntamente con su saber científico, su espíritu industrial y la entusiasta colaboración de su esposa, le llevaron a fundar, en 1929, la que sería una importante empresa farmacéutica.

La Fundación promueve la comunicación entre los profesionales mediante la organización de simposios internacionales, mesas redondas y grupos de discusión. A su vez, también contribuye a difundir el trabajo científico de calidad otorgando cada dos años el Premio de Investigación Fundación Dr. Antoni Esteve al mejor artículo sobre farmacología publicado por autores españoles.

Desde la Fundación también se promueve la comunicación científica

a través de diferentes publicaciones. Las *Monografías Dr. Antoni Esteve* resumen los contenidos de las mesas redondas, y los *Cuadernos de la Fundación Dr. Antoni Esteve* abarcan temas muy diversos sobre el mundo de la ciencia. Sus actividades también se reflejan en artículos en revistas científicas. Por último, la colección titulada *Pharmacotherapy Revisited* reproduce aquellos artículos que, según el criterio de científicos de prestigio, han sido clave para el desarrollo de alguna disciplina de la farmacoterapia.

Por otro lado, los cursos de la Fundación Dr. Antoni Esteve pretenden potenciar competencias que no están

suficientemente cubiertas en los programas de grado universitario. Estos cursos se organizan en su mayoría en España, pero también en el extranjero. Una actividad a medio camino entre la docencia y la comunicación científica son los *Meet the expert*, encuentros entre un científico extranjero de especial renombre en su campo de trabajo y un grupo restringido de investigadores españoles.

Finalmente, pero no menos importante, con estas actividades la Fundación colabora con una gran diversidad de profesionales biosanitarios y comparte proyectos con universidades, hospitales, sociedades científicas, otras instituciones de investigación y organismos que dan soporte a la investigación.

# Índice

<b>Prólogo</b> .....	10
Robert Fabregat	
<b>Conceptos de partida en torno a la inmunoterapia y las terapias avanzadas</b> .....	14
Manel Juan	
<b>Del trasplante de progenitores hematopoyéticos a la terapia celular</b> .....	20
Anna Sureda	
<b>Inmunosupresión en terapia celular: péptidos, células dendríticas y células T reguladoras</b> .....	32
Daniel Benítez	
<b>Inmunopotenciación en el contexto del microambiente tumoral y las estrategias de inmunoterapia celular adoptiva</b> .....	44
Teresa Lozano, Celia Martín-Otal, Flor Navarro, Inés Sánchez-Moreno, Noelia Casares y Juan José Lasarte	

<b>Linfocitos T en inmunoterapia: TIL, CAR-T y tTcR</b> .....	62
E. Azucena González	
<b>Visión global y futuro de las inmunoterapias avanzadas en oncología</b> .....	72
Antoni Ribas	
<b>Terapias avanzadas en niños: necesidades y particularidades</b> .....	80
Susana Rives	
<b>Instalaciones para inmunoterapia celular: diseño, función y gestión</b> .....	88
Esteve Trias, Cristina Bernadó y Alan Muñoz	
<b>Fases del ciclo de vida de un medicamento de terapia avanzada y tipos de autorización regulatoria</b> .....	102
Eulàlia Olesti, Sara Varea y Gonzalo Calvo	
<b>Sostenibilidad en terapias avanzadas</b> .....	112
Vanessa López	

# Vídeos de la reunión

---

**Conceptos de partida en torno a la inmunoterapia y las terapias avanzadas**

Manel Juan



---

**Inmunosupresión en terapia celular: péptidos, células dendríticas y células T reguladoras**

Daniel Benítez



---

**Inmunopotenciación en el contexto del microambiente tumoral y las estrategias de inmunoterapia celular adoptiva**

Juan José Lasarte



---

**Linfocitos T en inmunoterapia: TIL, CAR-T y tTcR**

E. Azucena González



---

**Terapias avanzadas del ensayo clínico al uso clínico**

Francesc Bosch



---

**Visión global y futuro de las inmunoterapias avanzadas en oncología**

Antoni Ribas



---

**Terapias avanzadas en niños: necesidades y particularidades**

Susana Rives



---

**Instalaciones para inmunoterapia celular: diseño, función y gestión**

Esteve Trias



---

**Fases del ciclo de vida de un medicamento de terapia avanzada y tipos de autorización regulatoria**

Gonzalo Calvo



---

**Sostenibilidad en terapias avanzadas**

Vanessa López



# Prólogo

Robert Fabregat

Biocat

Las terapias avanzadas engloban aquellos medicamentos de uso humano que se basan en genes, células o tejidos. También incluyen los procesos avanzados de bioingeniería de aplicación médica y las combinaciones de estos productos de terapia celular, génica o de ingeniería de tejidos con matrices, productos biológicos o sintéticos (dispositivos médicos), tejidos e incluso órganos, que les otorgarían la consideración de terapias avanzadas combinadas. Adicionalmente, las denominadas terapias emergentes, que hacen referencia a todos aquellos desarrollos conceptuales y tecnológicos que permiten el desarrollo de las terapias avanzadas, también requieren una especial atención para afrontar estratégicamente los retos de salud, presentes y futuros.

En este sentido, actualmente la BioRegió de Cataluña es uno de los ecosistemas en ciencias de la vida y de la salud más dinámicos, innovadores y activos a escala europea. Integrada por

más de 1400 empresas y 91 entidades de investigación, Cataluña cuenta con una investigación académica excelente, una base de talento altamente cualificado y una importante red de empresas en crecimiento que trabajan en el desarrollo de nuevas tecnologías emergentes innovadoras, consolidándose así este pilar estratégico de la economía catalana. Sin embargo, se han detectado algunas carencias y necesidades de mejora dentro del campo de las terapias avanzadas, en ámbitos como la formación y el talento, la transferencia de tecnología, el escalado y la producción, y la relación entre los diferentes agentes públicos y privados del ecosistema, que deben tratarse muy especialmente si se quiere situar al ecosistema catalán en el nivel innovador de los principales ecosistemas europeos.

Las terapias avanzadas van más allá de los métodos convencionales y se enfocan en el uso de células, tejidos o genes para restaurar, mejorar o sustituir

las funciones dañadas o enfermas del cuerpo. Son áreas de investigación y desarrollo, actualmente muy activas en medicina, que tienen el potencial de proporcionar opciones de tratamiento más eficaces y personalizadas para una variedad muy amplia y creciente de lesiones y patologías complejas, como por ejemplo el cáncer, las enfermedades genéticas o las enfermedades degenerativas, y poder convertirse al mismo tiempo en un sector de elevado interés estratégico y que implique un fuerte impulso económico y productivo en Cataluña. A su vez, estas terapias presentan unos costes muy elevados en su desarrollo, y unos riesgos e incertidumbres de alta complejidad que condicionan su acceso y la sostenibilidad económica para los sistemas de salud. Además, implican muchos otros retos a lo largo de su desarrollo preclínico y clínico, en la complejidad de los requerimientos tecnológicos para su producción, en su posterior escalado y trazabilidad para garantizar un acceso equitativo a toda la ciudadanía, en la adaptación de los

rigurosos procesos de regulación y aprobación a las singularidades de estas nuevas terapias, así como en la necesaria formación específica y de alto nivel que requieren las personas que trabajan con ellas.

Por todo lo anterior, las terapias avanzadas están siendo objeto en Cataluña de un gran interés estratégico. Actualmente contamos con un ecosistema especializado y muy dinámico que incluye un gran número de organizaciones (incluyendo el sistema de I+D, tejido emprendedor, industria, centros de desarrollo y producción, inversores y administración pública) y de nuevas iniciativas estratégicas (*Hub* de Terapias Avanzadas y Emergentes, Centro de Terapias Avanzadas y Emergentes, etc.). Se dispone de un nivel y un bagaje científico en bioingeniería y terapias avanzadas muy elevados, y de un tejido clínico y hospitalario de excelencia que ha mostrado una alta capacidad para situarse entre las principales potencias mundiales en el desarrollo de ensayos

clínicos de nuevas terapias y tratamientos. También se cuenta con un ecosistema de *startups* e inversores en biotecnología muy rico y en crecimiento exponencial que ayuda a impulsar, en el ámbito de la BioRegió, esta tendencia global para avanzar y consolidar las terapias avanzadas logradas mediante procesos de bioingeniería. Finalmente, Cataluña tiene una potente red de empresas farmacéuticas que también están apostando por el desarrollo de terapias avanzadas y procesos (bio)tecnológicos, y unas

administraciones que han apostado de manera clara para favorecer el desarrollo de esta industria.

El impulso de todos estos actores e iniciativas es clave para que Cataluña siga su ritmo de crecimiento exponencial y la BioRegió logre los indicadores de otras biorregiones europeas que ahora mismo se encuentran más maduras, para situarse así como uno de los principales ecosistemas innovadores en terapias avanzadas de referencia en el mundo.



# Conceptos de partida en torno a la inmunoterapia y las terapias avanzadas

**Manel Juan**

Servei d'Immunologia - CDB, Hospital Clínic de Barcelona.

Responsable de la Plataforma d'Immunoteràpia HSJD-HCB. Universitat de Barcelona.

Fundació de Recerca Clínic Barcelona - IDIBAPS, Barcelona

---

## Resumen

Las terapias avanzadas, y en particular la inmunoterapia, son ya una realidad y una revolución presente en el tratamiento del cáncer. Estas terapias, que se basan en el sistema inmunitario propio de cada paciente, ofrecen ventajas significativas en términos de especificidad y durabilidad. A medida que continuemos avanzando con estas propuestas, deberemos adaptar nuestras estrategias terapéuticas para aprovechar al máximo las innovaciones, con el objetivo de brindar a los pacientes opciones de tratamiento más efectivas y seguras. Entre las terapias avanzadas, aquellas que se centran en modular, cambiar o mejorar el sistema inmunitario (inmunoterapia) se concretan en un cada vez mayor número de propuestas útiles y ya contrastadas (incluso con aprobaciones de mercado por parte de las agencias regulatorias). Aunque hay planteamientos basados en modificaciones sobre células del donante, la mayoría se basan en las propias células del paciente.

**Palabras clave:** terapias avanzadas, inmunoterapia celular adoptiva, linfocitos.

---

En la actualidad, los avances en el campo de la medicina y la biotecnología nos están brindando un nuevo horizonte en el tratamiento de las enfermedades, y específicamente en el abordaje del cáncer. Uno de los conceptos fundamentales que guían estos progresos es el de las «terapias avanzadas». Al hablar de estas, nos referimos a un conjunto de herramientas terapéuticas que representan un cambio conceptual significativo en comparación con las terapias tradicionales. Cuando hablamos de terapias avanzadas en un contexto global, nos referimos a un conjunto de herramientas terapéuticas conceptualmente distintas de lo que históricamente se consideraron terapias convencionales (fármacos, terapias físicas e incluso cirugía).

El término «avanzadas» nos evoca a menudo la biología molecular y la genética, pero en el contexto de las terapias avanzadas aludimos principalmente a la terapia celular, la terapia génica y la terapia tisular. Estas terapias avanzadas incluyen combinaciones de dichos enfoques terapéuticos principales y otras

herramientas innovadoras, pero aquí nos centraremos en la inmunoterapia, en particular en su aplicación en el tratamiento del cáncer.

Como su propio nombre indica, la inmunoterapia consiste en el tratamiento a través del sistema inmunitario de cada individuo. Su función es cambiar o mejorar este sistema inmunitario con elementos externos, pero la base radica en el sistema inmunitario propio de cada paciente. En muchas aproximaciones de inmunoterapia, el funcionamiento intrínseco del sistema inmunitario es esencial, y este enfoque sin duda se plantea como un desafío conceptual para quienes han trabajado en los tratamientos convencionales que buscan actuar directamente sobre el problema (en el cáncer, las células tumorales).

Así pues, conviene tener claro que, hasta ahora, la mayoría de las terapias convencionales se centraban en actuar directamente sobre las células tumorales desde el exterior, utilizando cirugía, fármacos y tratamientos físicos. Sin embargo, la inmunoterapia introduce un cambio conceptual fundamental: se basa en activar o restaurar el sistema

inmunitario del paciente, lo que implica una perspectiva interna. Si bien la terapia celular, la terapia génica y la terapia tisular son los tipos reconocidos de terapias avanzadas, cuando se concretan en forma de inmunoterapia plantean la utilización de células y tejidos del sistema inmunitario para promover una respuesta inmunitaria contra el cáncer. Esto representa un cambio de paradigma en el tratamiento del cáncer, ya que busca restaurar la función natural del sistema inmunitario del paciente, que generalmente existe en la mayoría de los casos.

Además, la inmunoterapia tiene la ventaja de que es interna y perdurable en el tiempo. A diferencia de los tratamientos que se administran desde el exterior, la inmunoterapia se basa en la funcionalidad interna del sistema inmunitario del paciente, y este equilibrio puede mantenerse a lo largo de la vida.

La especificidad es otro aspecto destacado, ya que la inmunoterapia permite una dirección precisa de la respuesta inmunitaria, lo que la diferencia de otros tratamientos. Esto lleva a una respuesta altamente

específica y la capacidad de dirigir la respuesta a elementos concretos, lo que es particularmente importante en el tratamiento del cáncer.

La evolución de las terapias avanzadas se asemeja en cierto modo a la evolución de la democracia. Así, de manera parecida a lo que ocurre con la democracia, que ha evolucionado para adaptarse a las necesidades cambiantes de la sociedad, las terapias avanzadas deben ser gestionadas adaptándose a sus características para que sean exitosas. La estructura actual de estas terapias se basa en conocimientos previos, pero debemos estar dispuestos a adaptarnos y evolucionar, ya que la medicina está en constante desarrollo.

Dentro de las terapias avanzadas se han desarrollado varios enfoques, como la terapia celular, la terapia con linfocitos infiltrantes de tumor y la terapia de células T con receptores quiméricos de antígenos (CAR), que se basa en la modificación genética de las células del sistema inmunitario. Estos enfoques están revolucionando el tratamiento del cáncer y ofrecen opciones efectivas para combatir la enfermedad.

La gestión clínica y la regulación de estos tratamientos son esenciales para garantizar su calidad y seguridad. Además, la investigación clínica y básica desempeña un papel fundamental en la expansión de las terapias avanzadas y en su evolución continua.

Planteo aquí un análisis DAFO (Debilidades, Amenazas, Fortalezas y Oportunidades) que resumo en los siguientes puntos principales para cada «cuadrante» de análisis:

- Debilidades (en relación a conceptos asociados a la «inmunología»):
  - Hay «mucho conocido», pero «muchísimo más por conocer».
  - Existen pocos «inmunólogos» y pocos centros dedicados a la inmunoterapia.
  - Amplísima interrelación («en red») y complejidad en las interacciones moleculares del sistema inmunitario.
  - Grandísima variabilidad interpersonal.
  - Características que hacen valorarla como una «terapia alternativa», no una «terapia clásica».

- Falta de métodos de monitorización eficaz y predictivos de la inmunoterapia.
- Unos muy altos costes de producción.
- Amenazas («entorno»):
  - La normativa «farmacológica» no se adapta a la realidad de la inmunoterapia.
  - Las restricciones presupuestarias generales en un área con amplias capacidades de expansión.
  - Los «intereses» de la industria farmacéutica no suelen coincidir con las necesidades de introducción de estas terapias.
  - Los «temores» extendidos ante la complejidad y lo que supone como «nuevo paradigma terapéutico».
- Fortalezas (en relación a la «inmunología»):
  - Se basa en elementos ya existentes («naturales») en los propios pacientes.
  - En general estas terapias tienen una «alta bioseguridad» en su aplicación.

- Permite plantear la capacidad y el potencial de «multiintervención» (combinaciones).
- Es una de las más evidentes «medicinas personalizadas» que se pueden desarrollar.
- Oportunidades («entorno»):
  - Hay una evidente necesidad de «reorientar la estrategia terapéutica» ante la crisis económica y sanitaria.
  - Hay una «percepción general positiva» sobre el potencial del sistema inmunitario (en especial después de la vacunación durante la pandemia de COVID-19), lo que se plantea como un elemento definitorio de salud.

En resumen, las terapias avanzadas, y en particular la inmunoterapia, son ya una realidad y una revolución presente en el tratamiento del cáncer. Estas terapias, que se basan en el sistema inmunitario interno de cada paciente, ofrecen ventajas significativas en términos de especificidad y durabilidad. A medida que continuemos avanzando con estas propuestas, deberemos adaptar nuestra estrategia terapéutica para aprovechar al máximo las innovaciones, con el objetivo de brindar a los pacientes opciones de tratamiento más efectivas y seguras.

Sin duda, las ponencias presentadas en esta Monografía ilustran la situación actual y plantean soluciones a los retos de futuro que se irán definiendo al mismo tiempo que se concretan los avances.

# Del trasplante de progenitores hematopoyéticos a la terapia celular

**Anna Sureda**

Servicio de Hematología Clínica, Institut Català d'Oncologia, Barcelona  
Instituto de Investigación Biomédica de Bellvitge (IDIBELL)  
Universitat de Barcelona

---

## Resumen

La evolución desde el trasplante de progenitores hematopoyéticos hasta la terapia celular marca un hito significativo en el campo de la medicina regenerativa. Este trasplante, utilizado principalmente en el tratamiento de enfermedades hematológicas graves, como leucemias y linfomas, consiste en la infusión de células madre hematopoyéticas para reemplazar o reparar el sistema hematopoyético del paciente. En contraste, la terapia celular se ha expandido para abarcar un espectro más amplio de aplicaciones. Va más allá de la hematología y busca aprovechar las propiedades regenerativas de diversas células para tratar enfermedades crónicas, degenerativas y autoinmunitarias. La terapia celular implica el uso de células madre mesenquimales, células T modificadas genéticamente y otras células especializadas para modular respuestas inmunitarias y reparar tejidos dañados. Esta transición refleja avances en la comprensión de la biología celular y las capacidades terapéuticas de las células madre. La terapia celular se muestra prometedora para tratar afecciones como enfermedades cardíacas, lesiones neurológicas y trastornos autoinmunitarios. A medida que la investigación continúa, se espera que la terapia celular brinde opciones de tratamiento más específicas y menos invasivas, allanando el camino hacia una revolución en la atención médica regenerativa.

**Palabras clave:** enfermedades oncohematológicas, trasplante de progenitores hematopoyéticos, células CAR-T, terapia génica.

---

## Introducción

En los últimos años hemos asistido a una revolución en el tratamiento del cáncer<sup>1</sup>. Partiendo del tratamiento antitumoral convencional basado en la quimioterapia y la radioterapia, el conocimiento de cómo interactúan los tumores con las células del sistema inmunitario encargadas de reconocerlos y eliminarlos ha generado nuevas terapias<sup>2</sup>. Así, los descubrimientos que han permitido entender por qué el sistema inmunitario falla en el control del crecimiento tumoral han llevado al desarrollo de herramientas terapéuticas, como anticuerpos bloqueantes o activadores antitumorales específicos, inhibidores de *checkpoint*, y linfocitos T y células NK modificados genéticamente con receptores antigénicos quiméricos. Gracias a estas nuevas terapias se ha logrado un cambio en la supervivencia y, en muchos casos, la curación del cáncer, algo nunca visto con las terapias convencionales.

## Primeros avances

La inmunoterapia, la terapia génica y la terapia celular comenzaron con el trasplante de progenitores

hematopoyéticos (TPH) a finales de los años 1960 y principios de los 1970 con el riguroso trabajo de Donald Thomas, quien recibió el Premio Nobel en 1990 por sus contribuciones experimentales y clínicas a la comprensión de la regeneración del sistema hematopoyético tras la radioterapia y la quimioterapia<sup>3</sup>. Sus experimentos demostraron claramente que, en función de la compatibilidad entre donante y receptor, era posible reconstituir componentes sanguíneos a partir de células madre hematopoyéticas de donantes. Esto dio paso a una era de colaboraciones mundiales que transformaron el procedimiento del TPH en una eficaz estrategia terapéutica disponible para todos los pacientes que lo necesitaran<sup>4</sup>.

Uno de los retos más importantes con los que se enfrentó el TPH fue lograr la compatibilidad de los antígenos del complejo principal de histocompatibilidad entre el donante y el receptor. Los trabajos pioneros de Peter Alfred Gorer, George Davis Snell y Baruch Benacerraf, que trabajaron en modelos animales, y de Jon van Rood, Jean Dausset y Rose Payne, trabajando

en modelos humanos, permitieron su descubrimiento<sup>5</sup>. La contribución más importante de todos ellos fue que, para que el TPH tuviera éxito, era necesaria la compatibilidad de antígenos leucocitarios humanos (HLA, *human leukocyte antigen*) entre el donante y el paciente; de lo contrario, el rechazo del injerto podía incluso provocar la muerte del paciente. Así pues, en un principio estos trasplantes solo se realizaban entre hermanos gemelos idénticos. Otra contribución importante que llevó a comprender el «yo» y el «no yo», o lo que es lo mismo, la tolerancia y el rechazo, provino de los extraordinarios estudios de Peter Medawar<sup>6</sup>.

#### **El primer registro de donantes**

En 1974 se produjo otra contribución pionera que cambió el mundo del TPH. Este cambio vino de la mano de Shirley Nolan, que no era médica ni científica, sino la madre de Anthony Nolan (1971-1979), un niño que nació con síndrome de Wiskott-Aldrich, una rara enfermedad hereditaria que afecta a la función sanguínea y la respuesta inmunitaria. Cuando los médicos

responsables de su hijo le dijeron que la única estrategia curativa en esta situación era el trasplante alogénico de donante no emparentado (Anthony no tenía hermanos compatibles), emprendió una campaña para convencer a la comunidad inglesa de que se inscribieran como donantes. Acudió a bares, iglesias, colegios... Y fueron tales su poder de convicción y su energía que en 1974 se creó el primer registro de donantes no emparentados, que ahora lleva el nombre de Anthony, quien desgraciadamente falleció en 1979 sin encontrar donante. Gracias a Shirley, el registro Anthony Nolan creció en Inglaterra y se crearon otros registros en todo el mundo. En la actualidad, hay más de 40 millones de donantes no emparentados inscritos en el registro mundial de la World Marrow Donor Association (WMDA), creado por Jan van Rood, Donald Thomas y John Goldman. Gracias a la labor de Shirley, más de un millón y medio de pacientes han tenido la oportunidad de vivir al recibir un trasplante procedente de uno de estos 40 millones de donantes.

#### **Hacia la elucidación del complejo principal de histocompatibilidad**

Otro de los retos más importantes que había que superar para que los trasplantes fueran más eficaces y seguros era comprender el enorme polimorfismo del complejo principal de histocompatibilidad y sus moléculas HLA, que son las proteínas más polimórficas que existen en la población. En este sentido, cabe mencionar a James Watson, Francis Crick, Maurice Wilkins y Rosalind Franklin por su descubrimiento de la estructura molecular del ADN<sup>7</sup>. En segundo lugar, a Cesar Milstein, científico argentino que desarrolló el método del hibridoma para producir anticuerpos monoclonales mientras trabajaba en la Universidad de Cambridge<sup>8</sup>. En tercer lugar, a Kary Mullis, que desarrolló la prueba de la reacción en cadena de la polimerasa. Y por último, a Frederick Sanger, quien recibió el Premio Nobel en dos ocasiones: en 1958, por su trabajo sobre secuencias de proteínas, y en 1980 por el desarrollo de la secuenciación del ADN<sup>9,10</sup>. Además, la colaboración de un gran grupo de

científicos condujo al desarrollo de técnicas que van desde la serología antigénica con citotoxicidad hasta los secuenciadores de tercera generación. Gracias a todos estos avances globales<sup>11-16</sup> hoy es posible tipificar cientos, si no miles, de donantes a nivel alélico con alta resolución, lo que permite realizar trasplantes a pacientes con donantes totalmente compatibles para estos genes y obtener mejores resultados y supervivencia que cuando se hace con diferencias, aunque solo sea de un aminoácido, entre el donante y el receptor.

#### **La sangre del recién nacido, una fuente rica en progenitores hematopoyéticos**

Con el paso de los años, el TPH se ha convertido en una opción terapéutica curativa para un elevado porcentaje de pacientes no solo con enfermedades oncohematológicas, sino también con patología benigna. Inicialmente, fue la médula ósea la fuente utilizada para la obtención de los progenitores hematopoyéticos. Luego se demostró que también existían progenitores hematopoyéticos circulantes en la

sangre periférica y que su utilización conllevaba una serie de ventajas tanto para el donante como para el receptor. Sin embargo, a finales de la década de 1980 se produjo otro gran avance en el ámbito de los TPH con el uso de progenitores hematopoyéticos procedentes de sangre de cordón umbilical. Hal Broxmeyer fue el primero en publicar que la sangre retenida en el cordón umbilical y la placenta tras el nacimiento es rica en células progenitoras hematopoyéticas<sup>17</sup>. De hecho, durante el desarrollo fetal, el número de progenitores hematopoyéticos circulantes en la sangre es 40 veces mayor por microlitro que en el adulto, debido a la baja saturación de oxígeno en la sangre durante el desarrollo fetal, ya que las células madre se movilizan con la hipoxemia. Por lo tanto, aunque el volumen de sangre placentaria recogida después del nacimiento de un niño es solo de unos 100 ml, esta es muy rica en progenitores hematopoyéticos CD34+ que pueden utilizarse como fuente para restaurar el sistema hematopoyético de un paciente que necesite un trasplante y para el que no se encuentren donantes familiares

histocompatibles o no emparentados en ninguno de los registros existentes. Además, se ha observado que el uso de progenitores hematopoyéticos de sangre de cordón umbilical como base del injerto es más tolerable a pesar de las diferencias de histocompatibilidad entre el donante y el receptor. El primer trasplante de células de sangre de cordón umbilical fue realizado por Eliane Gluckman en París, el 6 de octubre de 1988, en un paciente de 5 años diagnosticado de anemia de Fanconi<sup>18</sup>. El trasplante fue un éxito y el paciente está vivo y en remisión completa de su enfermedad de base.

Hasta hoy se han realizado más de 45.000 trasplantes de sangre de cordón umbilical y hay más de tres millones de unidades almacenadas en todo el mundo en bancos públicos y privados<sup>19</sup>.

#### **Células inmunitarias contra el cáncer**

Otro de los avances más importantes en la lucha contra el cáncer ha sido la comprensión del microambiente tumoral y la relación entre el sistema inmunitario y el tumor. Las aportaciones fundamentales de Rolf Martin Zinkernagel y Peter Doherty ayudaron

a comprender cómo los linfocitos T reconocen el péptido restringido en el contexto de la presentación HLA<sup>20</sup>. En principio, los linfocitos T reconocen de manera específica los antígenos tumorales que presentan las moléculas HLA correspondientes. Esto desencadena su actividad lítica, eliminando la célula tumoral o la célula presentadora del antígeno tumoral. Sin embargo, en realidad esta interacción es más compleja. Las diferentes subpoblaciones de linfocitos T van más allá de la distinción convencional entre CD4+ o CD8+. Ahora sabemos que existen diferentes subtipos de linfocitos T que pueden polarizarse en células efectoras tras ser expuestos a diferentes mediadores. Así, existen subseries T1, T2, T9 y T17, y cada subserie puede ser susceptible a diferentes estímulos y secretar diferentes citocinas.

La activación o supresión de los linfocitos T está controlada no solo por la interacción del receptor y la molécula HLA, sino también por la interacción de proteínas inhibitoras y estimuladoras. Los inhibidores de *checkpoint* son fundamentales en la interacción del

tumor y los linfocitos T. Las células malignas expresan inhibidores de ligandos de puntos de control que bloquean la actividad citolítica de los linfocitos T, como las vías CTLA-4 y PD-1. La interacción de PD-L1 con PD-L1 se debe a la interacción de proteínas inhibitoras y estimuladoras. La interacción de PD-L1 con PD-1 produce la desfosforilación de proteínas relacionadas con la cascada de activación del receptor, inhibiendo dicha activación. Recientemente se ha observado que el bloqueo de los receptores o ligandos de estas vías puede reactivar la funcionalidad de las células T y facilitar el tratamiento, tanto en el caso de los tumores sólidos como en el de las enfermedades hematológicas malignas. El bloqueo de PD-1 puede reactivar la funcionalidad de las células T, lo que conduce a la proliferación y la producción de citocinas que mejoran la respuesta antitumoral. El tratamiento con anticuerpos monoclonales anti-PD-1, como el nivolumab o el pembrolizumab, ha dado lugar a una supervivencia global muy elevada en pacientes con linfoma de Hodgkin refractario, así como con otras

neoplasias malignas. También hay otras vías importantes que pueden bloquearse o reactivarse, como las moléculas LAG-3, TIGIT, VISTA, TIM2 y CD47 en los macrófagos.

### Células CAR

CAR son las siglas de *Chimeric Antigen Receptor*. Las terapias celulares están cambiando la evolución a largo plazo de pacientes con patologías oncohematológicas (leucemia aguda linfoblástica de células B, linfomas B agresivos de células grandes, mieloma múltiple) que han demostrado refractariedad a diferentes estrategias terapéuticas convencionales. Las razones por las que la respuesta inmunitaria es incapaz de eliminar una célula tumoral o una infección son múltiples, pero una de ellas es la ausencia de dianas o péptidos tumorales específicos en el contexto del receptor linfocitario y del péptido presentado por las moléculas HLA. Por ello, varios investigadores concibieron la idea de modificar las células T en el laboratorio mediante la adición de un reordenamiento genético recombinante utilizando un vector

vírico que les permitiera expresar una proteína quimérica constituida por un componente extracelular formado por la cadena ligera del anticuerpo para alguna proteína específica, o expresada preferentemente en las células malignas, y un componente intracelular basado en la porción interna del receptor de linfocitos T. Así, cuando la célula que expresa el anticuerpo específico (por ejemplo, dirigido contra la proteína CD19 que se expresa en las células leucémicas de linaje B) se une, la porción intracelular se activa y el linfocito es capaz de destruir la célula maligna<sup>21</sup>.

El primero en concebir esta molécula quimérica fue un investigador del Instituto Weizmann llamado Zelig Eshhar, en 1989. Desde entonces, la creación de CAR se ha modificado para incluir moléculas coestimuladoras y se habla de CAR-T de primera, segunda, tercera e incluso más generaciones. La producción de las células CAR-T pasa por la extracción de linfocitos T del propio paciente, modificarlas genéticamente mediante un vector vírico cargado con los genes quiméricos CAR, expandirlas y volver a administrarlas al paciente. En 2012, el

grupo de Carl June administró células CAR-T a Emily Whitehead, diagnosticada de leucemia aguda linfoblástica B. Actualmente se encuentra en remisión completa. Ese mismo año, Novartis y la Universidad de Pensilvania firmaron un acuerdo de cooperación global para el desarrollo comercial de la terapia celular basada en células CAR-T. El ensayo clínico de fase II denominado ELIANA incluyó 63 pacientes en 25 centros de los Estados Unidos, Canadá, Japón y Australia. Los resultados fueron excelentes, con una respuesta al tratamiento del 83% y una tasa de remisiones completas del 63%. Basándose en estos ensayos clínicos y en otros posteriores, la Food and Drug Administration de los Estados Unidos ha aprobado seis productos de células CAR-T para la leucemia aguda linfoblástica B en niños y adultos, para diferentes tipos de linfomas B y para el mieloma múltiple, y actualmente se están llevando a cabo más de 1000 ensayos clínicos en diferentes fases, por lo que el interés comercial por la terapia celular es mayor que nunca.

Entre las desventajas o complicaciones asociadas a la terapia celular CAR

autóloga hay que destacar el tiempo que debe transcurrir entre la recogida de los linfocitos y su reinfusión después del proceso de manufactura, que puede llevar consigo un deterioro del paciente y la progresión de su enfermedad, la toxicidad característica asociada a la infusión del producto (síndrome de liberación de citocinas y neurotoxicidad) y el elevado coste del tratamiento. Por último, hay que destacar el uso limitado de dianas que solo se expresan en líneas malignas y no en células normales. Por ejemplo, el tratamiento con CAR-T-19 (células CAR específicas para linfocitos CD19) elimina las células linfoides malignas, pero también provoca aplasia de linfocitos B, por lo que los pacientes deben recibir inmunoglobulinas. Aun así, los beneficios de la terapia con células CAR son extraordinarios, por lo que se han buscado otras dianas, como CD20, CD30, BCMA (esta última se expresa en células de mieloma múltiple) y otras que se encuentran en fase 1 o 2, como HER2, que se expresa en el cáncer de mama.

Para evitar la limitación de utilizar solo células autólogas, varios grupos han

explorado el uso de NK-CAR, derivados de la UCB (NK-CAR), como el equipo de Katy Rezvani en el MD Anderson Cancer Centre, con resultados muy prometedores. Otros grupos que utilizan métodos de modificación genética, como CRISPR, han modificado los linfocitos T para eliminar las moléculas HLA o el receptor de linfocitos T<sup>22,23</sup>.

### ¿Qué nos depara el futuro?

Las células madre pluripotentes inducidas son generadas a partir de células somáticas por un proceso que implica la manipulación genética de las células somáticas mediante la inducción de la expresión de determinados factores de transcripción, como SOX2, OCT4, KLF4 y MYC; representan otra forma de generar células CAR-T y CAR-NK. Muchos investigadores y empresas farmacéuticas están trabajando en ello, para lo cual han desarrollado vectores virales y no virales. En las últimas décadas se han establecido métodos más eficaces para la inserción de genes en el genoma de la célula, como los vectores lentivirales, adenovirales y retrovirales.

Todos ellos tienen su origen en trabajos realizados a finales de los años 1960 y principios de los 1970<sup>24</sup>.

Las posibilidades de ampliar el uso de las terapias CAR a otras enfermedades son enormes. Así, por ejemplo, recientemente se ha descrito su uso en el tratamiento de varios trastornos inmunitarios y autoinmunitarios, como el lupus eritematoso sistémico.

### Conclusiones

En resumen, la terapia celular constituye una estrategia terapéutica extremadamente eficaz en el tratamiento de las enfermedades hematológicas. Sin embargo, el concepto de terapia celular se ha expandido y modificado en los últimos años, desde la utilización de linfocitos alogénicos capaces de desarrollar el concepto de injerto *versus* leucemia hasta la utilización de linfocitos T autólogos modificados genéticamente para convertirse en armas mortales con capacidad de destruir las células malignas del propio paciente. Un camino científicamente apasionante que, sin duda alguna, revertirá en una mayor capacidad de curación de nuestros pacientes.

### Bibliografía

1. Piña Sánchez P, Chávez González A, Ruiz Tachiquín ME. Cancer biology, epidemiology, and treatment in the 21st century: current status and future challenges from a biomedical perspective. *Cancer Control*. 2021;28:1-21.
2. Lesch S, Gill S. The promise and perils of immunotherapy. *Blood Adv*. 2021;5:3709-25.
3. Thomas ED. A history of haematopoietic cell transplantation. *Br J Haematol*. 1999;105:230-9.
4. Gratwohl A, Pasquini MC, Aljurf M, Atsuta Y, Baldomero H, Foeken L, et al. One million haemopoietic stem-cell transplants: a retrospective observational study. *Lancet Haematol*. 2015;2:91-100.
5. Snell GD. Studies on histocompatibility. *Scand J Immunol*. 1992;36:513-26.
6. Medawar PB. Immunological tolerance. *Scand J Immunol*. 1991;33:337-44.
7. Watson JD, Crick FH. Molecular structure of nucleic acids. A structure for deoxyribose nucleic acid. *Nature*. 1953;171:737-73.
8. Milstein C. From the structure of antibodies to the diversification of the immune response. *Scand J Immunol*. 1993;37:385-98.
9. Sanger F. The arrangement of aminoacids in proteins. *Adv Protein Chem*. 1952;7:1-67.
10. Sanger F. The early days of DNA sequences. *Nat Med*. 2001;7:267-8.
11. Madrigal JA, Scott I, Arguello R, Szydlo R, Little AM, Goldman JM. Factors influencing the outcome of bone marrow transplants using unrelated donors. *Immunol Rev*. 1997;157:153-66.
12. Shaw BE, Potter MN, Mayor NP, Pay AL, Smith C, Goldman JM, et al. The degree of matching at HLA-DPB1 predicts for acute graft-versus host disease and disease relapse following haematopoietic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant*. 2003;31:1001-8.
13. Shaw BE, Marsh SG, Mayor NP, Russell NH, Madrigal JA. HLA-DPB1 matching status has significant implications for recipients of unrelated donor stem cell transplants. *Blood*. 2006;107:1220-6.
14. Mayor N, Hayhurst JD, Turner TR, Szydlo RM, Shaw BE, Bultitude WP, et al. Recipients receiving better HLA matched HCT grafts, uncovered by a novel HLA typing method, have superior survival: a retrospective study. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2019;25:443-50.
15. Petersdorf EW, Carrington M, O'Huigin C, Bengtsson M, De Santis D, Dubois V, et al. Role of HLA-B exon 1 in graft-versus Host disease after unrelated haematopoietic cell transplantation: a retrospective cohort study. *Lancet Haematol*. 2020;7:e50-e60.



16. Argüello JR, Little AM, Pay AL, Gallardo D, Rojas I, Marsh SG, et al. Mutation detection and typing of polymorphic loci through double-strand conformation analysis. *Nat Genet.* 1998;18:192-4.
17. Broxmeyer HE, Douglas GW, Hangoc G, Cooper S, Bard J, English D, et al. Human umbilical cord blood as a potential source of transplantable hematopoietic stem/progenitor cells. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1989;86:3828-92.
18. Gluckman E, Broxmeyer HE, Auerbach AD, Friedman HS, Douglas GW, Devergie A, et al. Hematopoietic reconstitution in a patient with Fanconi's anemia by means of umbilical cord blood from an HLA-identical sibling. *N Engl J Med.* 1989;321:1174-8.
19. Mayani H, Wagner JE, Broxmeyer HE. Cord blood research, banking, and transplantation: achievements, challenges and perspectives. *Bone Marrow Transplant.* 2020;55:48-61.
20. Zinkernagel RM, Doherty PC. The discovery of MHC restriction. *Immunol Today.* 1997;18:14-7.
21. Dotti G, Savoldo B, Brenner M. Fifteen years of gene therapy based on chimeric antigen receptors: "are we nearly there yet". *Hum Gene Ther.* 2009;20:1229-39.
22. Wagner DL, Koehl U, Chmielewski M, Scheid C, Striepecke R. Review: sustainable clinical development of CAR-T cells - switching from viral transduction towards CRISPR-Cas gene editing. *Front Immunol.* 2022;13:865424.
23. Jiang F, Doudna JA. CRISPR-Cas9 structures and mechanisms. *Ann Rev Biophys.* 2017;46:505-29.
24. Baltimore D. Sixty years of discovery. *Ann Rev Immunol.* 2019;37:1-17.

# Inmunosupresión en terapia celular: péptidos, células dendríticas y células T reguladoras

**Daniel Benítez-Ribas**

Departamento de Inmunología, Sección de Inmunoterapia, Hospital Clínic de Barcelona, IDIBAPS, Barcelona

## Resumen

Las consecuencias clínicas de las respuestas generadas por determinados componentes del sistema inmunitario desempeñan un papel clave en el origen y la expansión de enfermedades autoinmunitarias y de enfermedades inflamatorias crónicas. Estas se caracterizan principalmente por una pérdida de tolerancia a antígenos propios del organismo que no son patogénicos y que conlleva una activación inadecuada del sistema inmunitario. Tal activación inapropiada ocasiona con frecuencia daño a uno o varios órganos, afectando su función. No están plenamente establecidas las causas que originan y mantienen estas respuestas inmunitarias anómalas. La aproximación terapéutica para estas enfermedades se basa, en general, en la administración sistémica de medicamentos inmunomoduladores con efectos inespecíficos generales y de medicamentos biológicos. Una modulación más dirigida y específica, en el tejido afectado, del tipo de respuesta inmunitaria patogénica, mediante citocinas, anticuerpos monoclonales o terapia celular, lo que se denomina «terapias avanzadas», representa una aproximación terapéutica muy atractiva y con gran potencial. Las células dendríticas son las células presentadoras de antígenos más potentes descritas y tienen la propiedad de regular la generación de la respuesta, ya sea inflamatoria o tolerogénica, dependiendo del contexto en que se produce la interacción del antígeno y la célula presentadora, entre otros factores. Debido a la plasticidad funcional de los precursores celulares, la capacidad de generar respuestas inmunitarias altamente específicas y la posibilidad de obtener células dendríticas *in vitro*, en condiciones adecuadas para su aplicación clínica, estas células están siendo utilizadas para el tratamiento de tumores o infecciones con resultados esperanzadores. La obtención de células dendríticas con actividad tolerogénica, los resultados de su uso en modelos experimentales y los datos

obtenidos en ensayos clínicos en fases iniciales sugieren que las células dendríticas tolerogénicas podrían representar una alternativa para el tratamiento de enfermedades autoinmunitarias o inflamatorias crónicas de base inmunitaria..

**Palabras clave:** inmunoterapia, terapia celular, células dendríticas, linfocitos T reguladores, enfermedades autoinmunitarias, tolerancia, enfermedades inflamatorias crónicas.

## Células T reguladoras

Las células T reguladoras (Treg) son linfocitos T especializados en el mantenimiento de la tolerancia inmunitaria y están implicadas en el control de otros linfocitos T autorreactivos que no hayan sido eliminados durante la maduración tímica. Las Treg se caracterizan por la expresión de un factor de transcripción selectivo (Foxp3) y una expresión variable en la membrana de la molécula CD45RA en los linfocitos T CD4+. Las Treg están implicadas también en el mantenimiento de la homeostasis inmunitaria y de la tolerancia contra antígenos o tejidos propios no patogénicos. Para el funcionamiento eficiente de las Treg, aparte del factor de transcripción Foxp3, se requiere la expresión de otras moléculas relacionadas con la función supresora, como son los receptores CD25 (IL-2R $\alpha$ )

y CTLA-4). Actualmente, la expresión de CD4 y CD25, y la ausencia de CD127 (IL-7Ra), se consideran marcadores adecuados para la purificación de estas células.

En los humanos se han identificado dos tipos de células Treg en función de su origen: 1) células originadas durante la diferenciación tímica (nTreg) y 2) células de origen extratímico inducidas en la periferia (iTreg). Estas últimas pueden ser generadas bajo la influencia de citocinas específicas, como el factor de crecimiento transformante beta (TGF- $\beta$ ) y la interleucina (IL) 10.

## Mecanismos de inmunosupresión mediada por Treg

La inmunosupresión generada por las células Treg se basa en diferentes mecanismos inmunosupresores que incluyen la expresión de la molécula CTLA-4 en la membrana celular,

el consumo de IL-2 disponible en el medio, mediante la expresión del receptor de alta afinidad CD25 y la producción de citocinas y metabolitos con actividad inmunosupresora (IL-10, IL-35 y TGF-β) (Tabla 1). La interacción de las células presentadoras de antígeno con las Treg a través del receptor de linfocitos T provoca su actividad supresora.

**Aplicación clínica de los linfocitos T reguladores**

La aplicación clínica de células Treg se ha focalizado en reducir los procesos autoinmunitarios y como una aproximación terapéutica alternativa a los fármacos antiinflamatorios. La primera aplicación de Treg se

documentó en el año 2009 en la enfermedad del injerto contra el huésped en el trasplante de progenitores hematopoyéticos, y desde entonces se ha mostrado como una aproximación terapéutica segura en los diferentes ensayos realizados en humanos. Las células Treg, para llevar a cabo ensayos clínicos, se pueden purificar a partir de sangre periférica u obtener a partir de células de cordón o del timo (en ensayos clínicos concretos), que contine una elevada proporción de Treg. Una vez que las células han sido purificadas, es necesario un proceso de expansión celular para disponer de la concentración celular óptima. Esta expansión requiere la activación policlonal de las Treg

**Tabla 1.** Mecanismos de inmunosupresión por células T reguladoras.

- Secreción de citocinas antiinflamatorias: IL-10, IL35, TGF-β.
- Actividad metabólica: expresión de CD39/CD73, producción de adenosina.
- Expresión de receptores con actividad inhibidora: CTLA-4, LAG3.
- Expresión del receptor IL-2 (CD25).
- Secreción de granzimas y de perforina.

mediante anti-CD3/CD28 y la presencia de IL-2 en el medio de cultivo. Otras opciones de expansión de las células Treg incluyen rapamicina, ácido retinoico y TGF-β.

En la actualidad se están evaluando la seguridad y los efectos clínicos de la aplicación de Treg en enfermedades autoinmunitarias o de base inmunitaria, tales como la enfermedad de Crohn, la diabetes tipo 1, el lupus cutáneo activo, el pénfigo vulgar, la artritis reumatoide, la hepatitis autoinmunitaria, el rechazo en el trasplante, etc.

Para la producción de este tipo de terapia es obligatorio que el producto celular cumpla con una serie de requerimientos y características establecidos por las agencias reguladoras (Food and Drug Administration, Agencia Europea de Medicamentos) para productos de terapias avanzadas. Se incluyen entre estas características la identidad, la pureza, la potencia y la esterilidad (bacteriana, vírica y fúngica) del producto.

**Células dendríticas: introducción**

Las células dendríticas (CD) son un grupo heterogéneo de células mononucleadas con actividad funcional de presentadoras de antígenos que están involucradas en la regulación de los fenómenos de inmunidad y de tolerancia. Defectos en la regulación en la inducción de tolerancia resultan en situaciones patológicas tales como el rechazo en trasplantes, la aparición de enfermedades autoinmunitarias o mediadas por la inmunidad, o el desarrollo de alergias. Una vez que las CD han reconocido y fagocitado los potenciales antígenos, sufren una serie de transformaciones fenotípicas y funcionales en un proceso de maduración. La maduración induce la migración de las CD desde los tejidos periféricos, tales como la mucosa, la dermis o los órganos, hacia los ganglios linfáticos que drenan el tejido, y la presentación de antígenos fagocitados y procesados a los linfocitos T específicos, la interacción con linfocitos B y otros tipos de CD residentes en los ganglios. Así mismo, durante su proceso de maduración las CD expresan en su membrana

moléculas implicadas en la interacción y la activación/inhibición de los linfocitos T (moléculas presentadoras de antígeno y moléculas coestimuladoras), así como la secreción de citocinas proinflamatorias del tipo IL-12 y factor de necrosis tumoral alfa. Por lo tanto, las CD desempeñan un papel crucial en el inicio y el tipo de respuesta inmunitaria desencadenada.

Debido a las propiedades fisiológicas de las CD, que las hacen únicas, y a la posibilidad de su generación *in vitro*

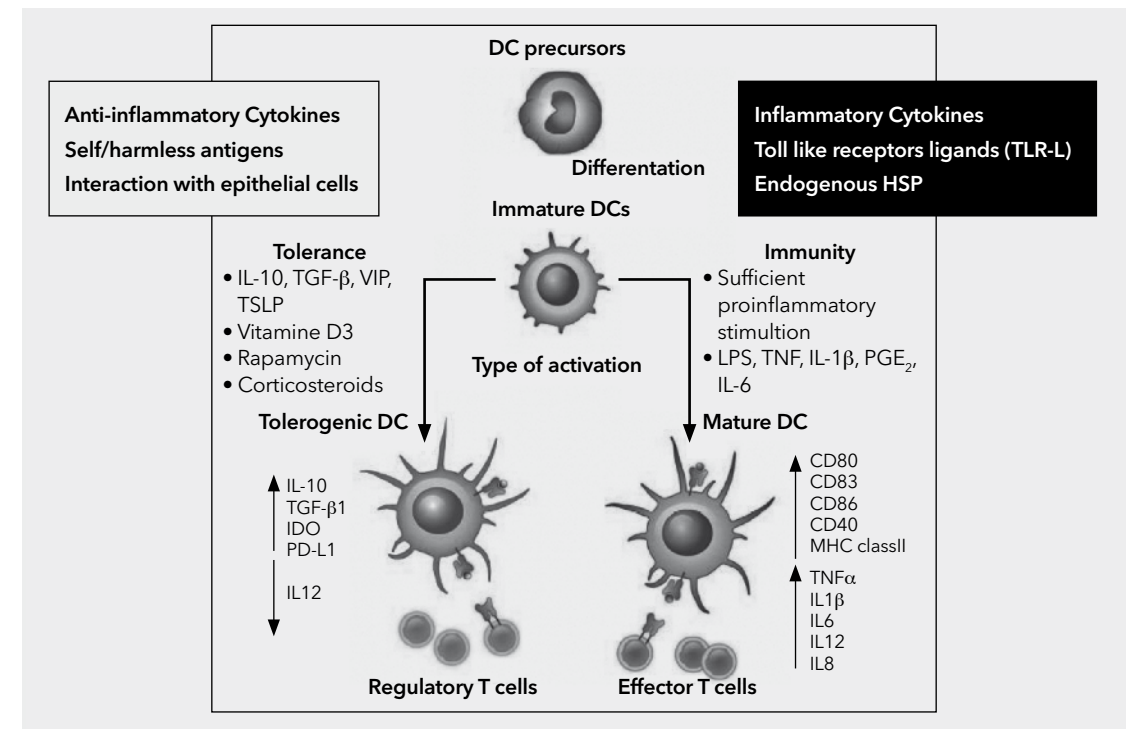
**Tabla 2.** Uso (o potencial) clínico de las células dendríticas y las células T reguladoras en los humanos.

- Alergia.
- Rechazos en trasplantes.
- Autoinmunidad:
  - Diabetes tipo 1.
  - Artritis reumatoide.
- Enfermedades de base inmunitaria:
  - Enfermedad inflamatoria intestinal.
  - Psoriasis.
  - Lupus.
  - Esclerosis múltiple.

mediante el uso de reactivos manufacturados en grado clínico, han sido utilizadas en ensayos clínicos en humanos con el objetivo de generar respuestas inmunogénicas contra tumores o infecciones (Tabla 2). A pesar de las posibilidades que ofrecen las terapias celulares con CD en los pacientes con cáncer, en la actualidad la capacidad tolerogénica de las CD en ensayos clínicos en pacientes se ha explorado muy poco y los ensayos clínicos no son frecuentes.

En la mayor parte de los ensayos clínicos con CD se han utilizado los monocitos (CD14+) como células precursoras de las CD, por la relativa facilidad de su obtención a partir de sangre periférica respecto a otro tipo de CD y el elevado número de células obtenidas en comparación con la purificación directa de CD circulantes (Fig. 1). Algunos ensayos han utilizado CD circulantes para el tratamiento de tumores, lo que supone una mayor complejidad de manipulación al tener que partir de un volumen muy elevado de sangre periférica, o bien se han utilizado CD generadas a partir de precursores CD34+. La selección de las

**Figura 1.** Plasticidad funcional de las células dendríticas.



diferentes poblaciones de CD en terapias celulares podría ser de gran relevancia dependiendo del tipo de respuesta inmunitaria que se desee obtener, y que se basa en las diferencias funcionales existentes entre las subpoblaciones.

**Células dendríticas tolerogénicas**

El silenciamiento de las repuestas inmunitarias contra antígenos propios o no patogénicos viene mediado principalmente por las CD. Existen cada vez más evidencias que apuntan hacia una plasticidad funcional de las CD

dependiendo del contexto en que tiene lugar la respuesta más que de la presencia específica de una población de CD con una función tolerogénica predeterminada y única. La aplicación terapéutica de CD requiere la generación *in vitro* de estas células con un fenotipo tolerogénico estable, en un proceso que sea reproducible y que permita la obtención de células con alta pureza y viabilidad. Una alternativa para la generación de CD tolerogénicas es el proceso que consiste en tratar las CD con agentes tolerogénicos durante su cultivo en el laboratorio y posteriormente la maduración mediante estímulos.

Para la obtención *in vitro* de CD tolerogénicas se han descrito diversos agentes inmunosupresores (Tabla 3), como corticosteroides (principalmente dexametasona), vitamina D3, rapamicina, micofenolato, neuropéptidos y rhIL-10. Todos estos agentes se han implicado en la generación de CD resistentes a la maduración inmunogénica. Los protocolos de obtención de CD tolerogénicas se basan, en general, en la purificación de monocitos de sangre periférica y su posterior cultivo en

**Tabla 3.** Compuestos utilizados en la generación de células dendríticas tolerogénicas.

- Agentes inmunosupresores o antiinflamatorios:
  - Corticosteroides (dexametasona).
  - Vitamina D3.
  - Ácido micofenólico.
  - Rapamicina.
- Compuestos químicos:
  - Monofosfato de adenosina cíclico
  - Prostaglandinas.
  - Histamina.
  - Neuropéptidos.
- Citocinas antiinflamatorias:
  - rhIL-10.
  - TGF-β.

presencia de citocinas de diferenciación y crecimiento, IL-4 y factor estimulador de colonias de granulocitos y macrófagos (GM-CSF, *Granulocyte Macrophage Colony-Stimulating Factor*), con la presencia de uno o de la combinación de varios agentes inmunosupresores.

La identificación del fenotipo de las células, expresión moderada de moléculas asociadas a la maduración (moléculas coestimuladoras, CD80, CD83 y CD86), también nos proporciona información sobre el perfil tolerogénico de las células. Un estudio exhaustivo de las propiedades tolerogénicas de las CD obtenidas constituirá una garantía de calidad para la utilización de estas células en pacientes.

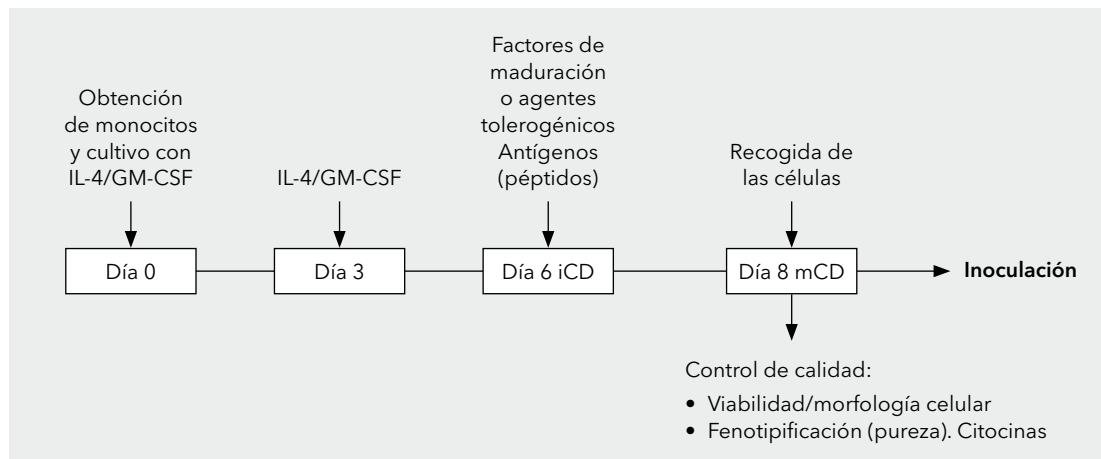
#### Aplicación terapéutica de las células dendríticas tolerogénicas

Las propiedades tolerogénicas de las CD fueron inicialmente documentadas en humanos, utilizando voluntarios sanos, en un estudio que proporcionó la prueba de concepto de que es posible la inducción de tolerancia específica antigénica sistémica de los linfocitos T. Sin embargo, un punto crítico en el diseño de terapias basadas en CD inmaduras es la estabilidad de estas células en un ambiente proinflamatorio como el que existe en las enfermedades inflamatorias. Por consiguiente, las CD inmaduras no serían lo bastante seguras para su uso terapéutico en las enfermedades que cursan con

inflamación crónica, principalmente debido a la capacidad de estas células de responder a los estímulos inflamatorios. La respuesta inmunitaria inapropiada a autoantígenos, en pacientes genéticamente predispuestos, puede derivar en enfermedades autoinmunitarias o mediadas por la inmunidad. Se acepta que uno de los aspectos fundamentales que dan lugar a fenómenos de autoinmunidad es la producción aumentada de una o varias citocinas específicas, en cuyo proceso intervienen las CD. Las CD plasmacitoides y el interferón tipo I se han propuesto como patogénicos en otras enfermedades como el lupus, la psoriasis, la dermatomiositis y el síndrome de Sjögren. Además de inducir autoinmunidad, las CD son dianas y están implicadas también en la respuesta terapéutica a distintos fármacos:

- Los corticosteroides inhiben la función y el número de CD inmunogénicas.
- La azatioprina y la mercaptopurina modulan la respuesta inmunitaria derivándola hacia una respuesta tolerogénica.

**Figura 2.** Esquema general de la obtención de células dendríticas a partir de monocitos. IL-4: interleucina 4; GM-CSF: Granulocyte Macrophage Colony-Stimulating Factor; iCD: células dendríticas inmaduras; mCD: células dendríticas maduras.



- Las terapias que activan la formación de células Treg pueden suprimir también la activación de CD inmunogénicas.

La aplicación clínica de CD tolerogénicas se ha centrado principalmente en enfermedades como la diabetes tipo 1, la enfermedad de Crohn, la artritis reumatoide y la

esclerosis múltiple, y en la prevención del rechazo agudo en el trasplante renal de donantes vivos.

En el Hospital Clínic de Barcelona se ha evaluado la seguridad de la aplicación de CD tolerogénicas en la enfermedad de Crohn y en la esclerosis múltiple. En ambos casos, la aplicación de las células, sistémica en pacientes

con esclerosis múltiple y local intralesional en pacientes con enfermedad de Crohn, ha sido segura y bien tolerada por los pacientes, sin evidenciar efectos adversos.

La eficacia clínica de las CD tolerogénicas está siendo evaluada en un ensayo clínico en el que pacientes con esclerosis múltiple son aleatorizados para recibir el tratamiento celular o placebo más el tratamiento estándar de elección. Los resultados que se obtengan de este estudio que está en marcha permitirán clarificar y estudiar su papel en el control del proceso inflamatorio, así como establecer la relevancia clínica de su aplicación.

### Discusión

Las células Treg y las CD son las células del sistema inmunitario implicadas en la generación y el mantenimiento de la tolerancia. Debido a sus propiedades funcionales para generar o modificar el curso de la respuesta inmunitaria han

sido aplicadas terapéuticamente. En la enfermedad inflamatoria intestinal y la esclerosis múltiple, las herramientas terapéuticas, incluyendo los agentes biológicos más recientes, han sido ineficaces o incapaces de mejorar el pronóstico a largo plazo en una gran proporción de pacientes. La necesidad de nuevas terapias para el tratamiento de las enfermedades inflamatorias crónicas de base inmunitaria abre el camino para el desarrollo de innovadoras aproximaciones terapéuticas. Aunque hasta la actualidad se han llevado a cabo pocos estudios clínicos encaminados a evaluar la eficacia de estas células en pacientes, los resultados obtenidos *in vitro* y en modelos animales, y los ensayos clínicos de fase Ib que han demostrado la seguridad para los pacientes de esta aproximación, nos impulsan a explorar esta vía terapéutica novedosa en pacientes con esclerosis múltiple para demostrar su eficacia clínica.

## Bibliografía

1. Trzonkowski P, Bieniaszewska M, Juścińska J, Dobyszek A, Krzystyniak A, Marek N, et al. First-in-man clinical results of the treatment of patients with graft versus host disease with human ex vivo expanded CD4+CD25+CD127- T regulatory cells. *Clin Immunol.* 2009;133:22-6.
2. Goswami TK, Singh M, Dhawan M, Mitra S, Emran TB, Rabaan AA, et al. Regulatory T cells (Tregs) and their therapeutic potential against autoimmune disorders – advances and challenges. *Hum Vaccin Immunother.* 2022;18:2035117.
3. Kvedaraite E, Ginhoux F. Human dendritic cells in cancer. *Sci Immunol.* 2022;7:eabm9409.
4. Passeri L, Marta F, Bassi V, Gregori S. Tolerogenic dendritic cell-based approaches in autoimmunity. *Int J Mol Sci.* 2021;22:8415.
5. Zubizarreta I, Flórez-Grau G, Vila G, Cabezón R, España C, Andorra M, et al. Immune tolerance in multiple sclerosis and neuromyelitis optica with peptide-loaded tolerogenic dendritic cells in a phase 1b trial. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2019;116:8463-8470.
6. Schuler G. Dendritic cells in cancer immunotherapy. *Eur J Immunol.* 2010;40:2123-30.
7. Iliev ID, Mileti E, Matteoli G, Chieppa M, Rescigno M. Intestinal epithelial cells promote colitis-protective regulatory T-cell differentiation through dendritic cell conditioning. *Mucosal Immunol.* 2009;2:340-50.
8. Steinman RM, Hawiger D, Nussenzweig MC. Tolerogenic dendritic cells. *Annu Rev Immunol.* 2003;21:685-711.
9. Nikolic T, Suwandi JS, Wesselius J, Laban S, Joosten AM, Sonneveld P, et al. Tolerogenic dendritic cells pulsed with islet antigen induce long-term reduction in T-cell autoreactivity in type 1 diabetes patients. *Front Immunol.* 2022;13:1054968.
10. Moreau A, Kervella D, Bouchet-Delbos L, Braudeau C, Saïagh S, Guérif P, et al.; DIVAT consortium. A phase I/IIa study of autologous tolerogenic dendritic cells immunotherapy in kidney transplant recipients. *Kidney Int.* 2023;103:627-37.

# Inmunopotenciación en el contexto del microambiente tumoral y las estrategias de inmunoterapia celular adoptiva

Teresa Lozano, Celia Martín-Otal, Flor Navarro, Inés Sánchez-Moreno, Noelia Casares y Juan José Lasarte

Programa de Inmunología e Inmunoterapia, Centro de Investigación Médica Aplicada, CIMA, CCUN, Universidad de Navarra, IdiSNA, Pamplona

## Resumen

Los recientes avances en inmunoterapia han revolucionado el tratamiento del cáncer. Además de los resultados que están consiguiendo las terapias basadas en el uso de anticuerpos que bloquean los puntos de control en la activación del sistema inmunitario (anticuerpos anti-*checkpoint*), las terapias de transferencia celular adoptiva, como las basadas en linfocitos infiltrantes de tumores o células modificadas genéticamente (linfocitos TCR transgénicos o células CAR-T), están mostrando resultados ilusionantes en el tratamiento de varios tipos de cáncer. Sin embargo, las células cancerosas desarrollan mecanismos para escapar al control del sistema inmunitario, con el resultado de que muchos pacientes no responden a estas terapias o lo hacen solo de forma transitoria. Esta pobre eficacia es más evidente en el caso de los tumores sólidos. El fracaso de las terapias celulares para lograr el control del tumor a largo plazo es multifactorial. Por un lado, solo un porcentaje limitado de los linfocitos transferidos es capaz de circular por el torrente sanguíneo, interactuando y atravesando el endotelio tumoral para infiltrarse en el tumor. La competencia metabólica, el consumo excesivo de glucosa, la elevada secreción de ácido láctico y la acidificación del pH extracelular, la escasez de aminoácidos esenciales, las condiciones hipóxicas o la acumulación de

ácidos grasos en el microambiente tumoral dificultan en gran medida la acción antitumoral de las células inmunitarias en las estrategias de terapia de transferencia celular adoptiva. Por ello, existe una nueva tendencia en la investigación de la inmunoterapia que busca desentrañar la biología fundamental que sustenta la respuesta a la terapia e identifica nuevos enfoques para amplificar mejor la eficacia de las inmunoterapias. En esta revisión abordamos aspectos importantes que pueden afectar significativamente la eficacia de las terapias de transferencia celular adoptiva, indicando también las alternativas terapéuticas que estamos implementando en nuestro grupo para superar estos inconvenientes.

**Palabras clave:** microambiente tumoral, matriz extracelular, terapia CART, pH intratumoral, EGFR, células T reguladoras, Foxp3.

## Introducción

Los avances en el conocimiento del sistema inmunitario y su aplicación al desarrollo de estrategias de inmunoterapia han revolucionado el tratamiento del cáncer.

El descubrimiento de los múltiples niveles de frenos, conocidos como puntos de control inmunitarios del sistema inmunitario para regular negativamente la activación y la función de las células T y de otras células inmunitarias, ha abierto la puerta al desarrollo de nuevas terapias contra el cáncer. El uso de terapias celulares adoptivas, como las basadas en linfocitos infiltrantes de tumores o células modificadas genéticamente

(linfocitos TCR [*T cell receptor*] transgénicos o células CAR-T [*chimeric antigen receptor T-cell*]), ha mostrado resultados impresionantes en el tratamiento de diversos cánceres. Sin embargo, las células cancerosas pueden explotar mecanismos para escapar de la inmunovigilancia, y muchos pacientes no responden a estas terapias o lo hacen solo de forma transitoria.

El fracaso de la inmunoterapia para lograr un control tumoral a largo plazo es multifactorial<sup>1</sup>. Por un lado, solo un porcentaje limitado de los linfocitos transferidos es capaz de pasar por el torrente sanguíneo, interactuando y atravesando el endotelio tumoral para



infiltrarse en el tumor. Aunque la inflamación y sus mediadores son los principales directores de este proceso de reclutamiento, sus efectos protumorales sobre las células y sus efectos sobre numerosas células del sistema inmunitario o sobre el endotelio tumoral y su estroma, dificultan mucho el tránsito de los linfocitos hacia el interior del tumor para interactuar con las células cancerosas.

La formación aberrante de matriz extracelular y de vascularización, junto con la alteración de la inflamación y la producción de una serie de factores quimiotácticos, promueven una amplia heterogeneidad en los tipos celulares que infiltran el tumor para ejercer sus funciones, que en muchos casos antagonizan la acción antitumoral del sistema inmunitario. La competencia metabólica, el consumo excesivo de glucosa, la elevada secreción de ácido láctico y la acidificación del pH extracelular, la escasez de aminoácidos esenciales, las condiciones hipóxicas o la acumulación de ácidos grasos en el microambiente tumoral (TME, *tumor microenvironment*), dificultan en gran

medida la actividad antitumoral de las estrategias de terapia celular adoptiva.

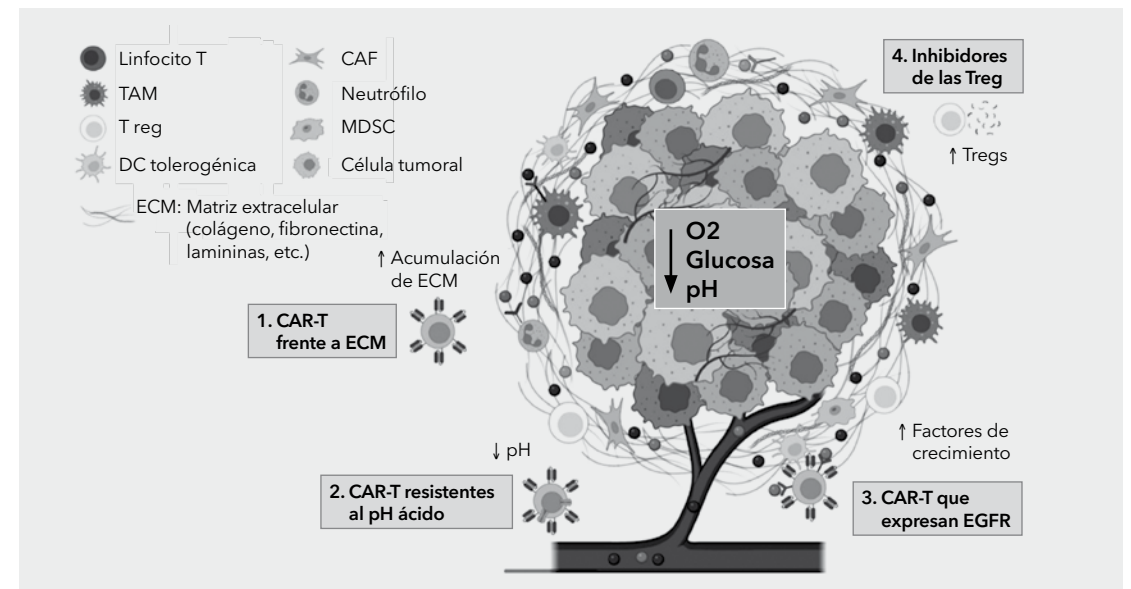
Esta realidad ha resaltado la importancia de una comprensión más profunda del mecanismo que rige el tráfico, la activación, el agotamiento o la falta de respuesta de las células T, así como las estrategias de evasión inmunitaria del tumor. Existe un gran interés en delinear la biología fundamental que sustenta la respuesta a la terapia y en identificar nuevos enfoques para amplificar la eficacia de las inmunoterapias.

A continuación, exponemos aspectos importantes que pueden afectar significativamente a la eficacia de las terapias celulares adoptivas, indicando también algunas alternativas terapéuticas que estamos implementando para superar estos inconvenientes (figura 1).

### Barreras físicas y matriz extracelular

Existen varios factores que pueden alterar la migración transendotelial y la entrada de linfocitos al lecho tumoral<sup>2</sup>. Entre ellos, la expansión tumoral acelerada da como resultado

**Figura 1.** Algunas estrategias para mejorar la actividad antitumoral de la terapia celular adoptiva. **1)** La aberrante matriz extracelular tumoral ofrece antígenos con la proteína EDA de la fibronectina que pueden ser dianas en el desarrollo de células CAR-T. **2)** La modificación génica de las CAR-T para que expresen transportadores reguladores del pH intracelular puede facilitar la funcionalidad de las CAR-T en el pH ácido que existe en los tumores. **3)** La sobreexpresión de receptores de EGFR puede permitir a las CAR-T beneficiarse de las propiedades proliferativas de los ligandos de EGFR presentes en muchos tumores. **4)** El uso de inhibidores de las células Treg puede facilitar la acción de las células CAR-T en el tumor. CAF: cancer associated fibroblasts; DC: dendritic cell; EGFR: epidermal growth factor receptor; MDSC: myeloid derived suppressor cells; TAM: Mymot associated macrophages; Treg: T regulatory lymphocyte.



condiciones hipóxicas, lo que conduce a la activación del factor 1 inducible por hipoxia (HIF-1), que a su vez induce la regulación al alza de factores angiogénicos como el factor de

crecimiento endotelial vascular (VEGF, *vascular endothelial growth factor*), el factor de crecimiento epidérmico (EGF, *epidermal growth factor*) o el factor de crecimiento de fibroblastos (FGF,

*fibroblast growth factor*) que favorecen la hipervascularización aberrante<sup>3</sup>. El uso de inhibidores de la angiogénesis para normalizar la vasculatura tumoral ha llamado mucho la atención. Sin embargo, la activación de vías angiogénicas alternativas por parte del tumor a menudo genera resistencia<sup>4</sup>. Los enfoques inmunológicos para interrumpir la vasculatura tumoral se han probado con éxito en estudios preclínicos<sup>4,5</sup>. En particular, las células T que expresan CAR dirigidas a antígenos de la vasculatura tumoral, como VEGF-1 o VEGF-2, integrina  $\alpha\beta 3$ , TEM8, empalme alternativo EDB de fibronectina o CLEC14A<sup>1</sup>, han mostrado cierta eficacia, aunque en algunos casos aparece el temido efecto de toxicidad denominado *on target-off tumor* asociado a la expresión de estos antígenos en tejidos sanos no tumorales<sup>6,7</sup>.

Además de la vasculatura aberrante, el estado fibrótico de los tumores desmoplásicos puede afectar la infiltración tumoral de linfocitos. Ahora es bien aceptado que los carcinomas se comportan como heridas, lo que obliga

al TME del huésped a un estado constante de reparación fibrótica<sup>8</sup> con una remodelación continua y extensa de la matriz extracelular promovida por la inflamación crónica presente en el tumor.

Las células tumorales secretan factores de crecimiento para atraer fibroblastos al TME, donde se transforman en fibroblastos asociados al cáncer, los principales actores de la acumulación de matriz extracelular. Una característica particular de la matriz extracelular estromal en muchos cánceres es su estructura altamente fibrótica, con acumulación de fibrillas de colágeno tipo I extensamente entrecruzadas<sup>9</sup>, que afecta de manera significativa a la progresión tumoral, la metástasis y la respuesta a la terapia<sup>10</sup>. Esta fibrillogénesis de colágeno está respaldada por redes de fibronectina que pueden proporcionar una plantilla para el depósito de colágeno y otros componentes de la matriz extracelular, incluyendo LTBP1, fibulina, tenascina, laminina, hialuronano y trombospondina, entre otras moléculas. En los tumores inmunoexcluidos existe un abundante infiltrado de células inmunitarias que no

logran penetrar de forma efectiva en el parénquima tumoral y quedan en el estroma que rodea los nidos de células tumorales. Este fenotipo inmunitario se caracteriza por un depósito excesivo de componentes de la matriz extracelular, incluidos haces alineados densos de colágeno y fibronectina alrededor de los islotes tumorales. Curiosamente, se ha observado en estudios de imágenes de células vivas en secciones de tejido tumoral que la motilidad activa de las células T aumenta en regiones con menos fibronectina y colágeno I, mientras que las células T migran mal en áreas de matriz densa<sup>11,12</sup>. Este hallazgo respalda la idea de que una matriz extracelular rica en fibra puede actuar como un escudo entre las células T y las células tumorales que previene la infiltración de células T en el TME.

El hecho de que la matriz extracelular presente en los tejidos tumorales sea muy diferente de la que se encuentra en los tejidos sanos ofrece la posibilidad de encontrar dianas terapéuticas nuevas para el desarrollo de terapias CAR-T. En efecto, uno de los principales desafíos para la traducción de terapias basadas en células CAR-T

para tumores sólidos es la identificación de antígenos específicos expresados en la membrana de la célula tumoral. En este esfuerzo, es necesario explorar otros antígenos alternativos presentes en el TME, aunque no sean expresados por la propia célula tumoral. Una diana prometedora es la fibronectina y sus versiones de *splicing*, que son clave en la reorganización de la matriz extracelular tumoral para promover el crecimiento, la migración y la invasión tumorales, y para alterar la capacidad de respuesta de las células tumorales a la terapia<sup>13</sup>. En este escenario, nuestro grupo se planteó la utilización de la proteína EDA, un *splicing* alternativo de la fibronectina que incluye el dominio extra A, como antígeno diana para el desarrollo de terapias CAR-T. Demostramos que EDA se expresa en muchos tipos de tumores, mientras que es indetectable en tejidos normales. Generamos células CAR-T específicas de EDA que se probaron *in vitro* e *in vivo* en cuanto a su capacidad para rechazar tumores. Demostramos que las células EDA CAR-T reconocen EDA y muestran actividad antitumoral *in vivo* en varios modelos murinos de tumores, como ratones inmunocompetentes

portadores de teratocarcinoma F9 o ratones NSG portadores de hepatocarcinoma humano derivado de la línea celular PLC.

La actividad antitumoral de EDA CAR-T parece estar mediada, al menos en parte, por el interferón gamma (IFN- $\gamma$ ). Esta citocina podría tener un efecto directo sobre las células tumorales al inhibir la proliferación celular o sensibilizar las células a la apoptosis<sup>14</sup>, regular al alza la expresión del complejo principal de histocompatibilidad de clase I y con ello aumentar la lisis de las células tumorales por parte de las células T antitumorales endógenas<sup>15</sup>, estimular la actividad de las células NK<sup>16</sup> o inhibir la angiogénesis<sup>17</sup>. En nuestro caso, demostramos que la actividad antitumoral se debía en parte a su efecto antiangiogénico. Por lo tanto, se puede especular que la actividad antiangiogénica dependiente del IFN- $\gamma$  puede constituir un importante mecanismo de acción de las células EDA CAR-T. El análisis RNAseq de los tejidos tumorales tras el tratamiento reveló un efecto importante de la terapia EDA CAR-T en el TME, con una

reducción significativa en las firmas genéticas asociadas con la transición epitelio-mesénquima, genes que codifican proteínas de colágeno o genes regulados al alza durante la formación de vasos sanguíneos, así como en conjuntos de genes que definen la inflamación, indicando que la estrategia de atacar una proteína presente en la matriz extracelular de los tumores puede reprogramar el TME y favorecer la respuesta antitumoral<sup>18</sup>.

#### **Actividad metabólica y pH intratumoral**

Las células cancerosas con metabolismo anómalo y captación excesiva de glucosa para la glucólisis aeróbica consumen grandes cantidades de oxígeno y nutrientes, lo que provoca hipoxia, deficiencia nutricional y niveles elevados de subproductos metabólicos en el TME<sup>19</sup>. Este TME altamente inmunosupresor inhibe la función de las células T e induce el escape inmunitario. Varios estudios han demostrado que las células T que se infiltran en el tumor se vuelven anérgicas y se agotan, y presentan firmas metabólicas distintas<sup>20</sup>.

Por un lado, las altas tasas metabólicas de las células cancerosas en combinación con una vasculatura deficiente hacen que el TME sea altamente hipóxico. Por otro lado, la alta demanda energética que presenta el tumor provoca una deficiencia de glucosa en el TME, que afecta de manera negativa a la activación de los linfocitos T antitumorales. Debido a que tanto las células cancerosas como las células T efectoras experimentan glucólisis aeróbica en el TME, existe una fuerte competencia por la glucosa, lo que deteriora la función de las células T infiltrantes y la inmunidad antitumoral. La modulación del metabolismo de las células T se está convirtiendo en una vía emocionante para mejorar las inmunoterapias actuales y aumentar la inmunidad antitumoral de las células T en el TME adverso<sup>21</sup>. La preparación del metabolismo de las células T *in vitro* antes de la transferencia adoptiva al paciente es una forma de ampliar su actividad antitumoral *in vivo*.

Los productos finales de la glucólisis son el lactato y los protones (H<sup>+</sup>), que son secretados masivamente por las células cancerosas y se acumulan en el

TME. Este exceso de lactato afecta la función y la proliferación de las células T efectoras y la inmunidad antitumoral<sup>22</sup>. La acumulación de lactato y protones (H<sup>+</sup>) en el TME provoca la acidificación del tumor. Un pH ácido intratumoral de 6-6,5 se asocia con metástasis, angiogénesis y resistencia a la terapia, fenotipo característico de tumores más agresivos<sup>23</sup>. Además, el pH ácido tiene efectos perjudiciales sobre la función de las células T infiltrantes. El pH ácido inhibe directamente la función de los linfocitos T CD8<sup>+</sup> y CD4<sup>+</sup>, y la inmunidad antitumoral mediada por los linfocitos T, lo que da como resultado tolerancia y escape inmunitario<sup>24</sup>. Algunos trabajos han demostrado que elevar el pH del TME mediante la administración de bicarbonato de sodio mejora las respuestas inmunitarias antitumorales en modelos de ratón<sup>25</sup> y en pacientes con leucemia mieloide aguda<sup>26</sup>. Estos datos indican que el efecto negativo que tiene el TME ácido sobre los linfocitos infiltrantes puede controlarse e incluso revertirse alcalinizando el TME.

Aunque las células T son muy sensibles al pH ácido, tienen mecanismos para

resistir la acidificación intracelular del pH (pHi) y lograr la homeostasis ácido-base. Para recuperarse de la acidificación o alcalinización intracelular, las células cuentan con transportadores extrusores y cargadores de iones para mantener el pHi dentro de un rango fisiológico estrecho, que en general es en torno a 7,2. En particular, las células cancerosas aprovechan varias bombas de protones y transportadores para neutralizar la carga de ácido metabólico y lograr valores de pH más altos que las células normales, lo que promueve la proliferación celular y la evasión de la apoptosis, y favorece la progresión del tumor<sup>27,28</sup>. En consecuencia, los sensores de pH fisiológicos son dianas muy prometedoras para el diseño de terapias frente al cáncer.

Las terapias celulares adoptivas basadas en CAR-T pueden verse afectadas por este microambiente ácido hostil. Como otros grupos han descrito previamente<sup>29,30</sup>, nosotros encontramos que un pH tan bajo como 6,5 provoca una proliferación y una producción deficientes de IFN- $\gamma$  y de interleucina (IL) 2 en respuesta a la

estimulación de TCR en células T CD4+ y CD8+ murinas y humanas. En este escenario probamos la posibilidad de mantener un pH más básico mediante la sobreexpresión de canales de extrusión de protones. Por esta razón, modificamos genéticamente las células T para sobreexpresar el extrusor de protones Hvcn1. Descubrimos que la sobreexpresión de Hvcn1 en linfocitos aumenta sus capacidades proliferativas y productoras de citocinas incluso en condiciones de cultivo de pH ácido. En particular, observamos que a pH tan bajo como 6,5, que impide la correcta actividad de los linfocitos T, la modificación génica para la sobreexpresión de Hvcn1 permitía al linfocito mantener una alta actividad funcional, similar a la observada en condiciones fisiológicas. Estos resultados sugieren que Hvcn1 protege a las células de la acidificación excesiva, facilitando la señalización de TCR que, como ya se ha descrito, se ve afectada por el pH ácido que conduce a un estado anérgico. Observamos además que la sobreexpresión de Hvcn1 mejoró la eficacia antitumoral de las células CAR-T específicas para el antígeno glipican-3 expresado en células de

hepatocarcinoma en un modelo murino, lo que sugiere que el control de la acidificación del pHi excesivo también puede tener un efecto positivo en las terapias basadas en células CAR-T para tumores sólidos<sup>31</sup>. En paralelo observamos que el silenciamiento del intercambiador de aniones AE2 (un potente acidificador celular) también conseguía mejorar la actividad antitumoral de los linfocitos en condiciones de pH ácido<sup>31</sup>.

En conclusión, hemos hallado que el silenciamiento del acidificante AE2 y la sobreexpresión del canal de protones Hvcn1 pueden ofrecer una ventaja para los linfocitos, mejorando así su funcionalidad en condiciones de pH ácido desfavorables presentes en el TME, y podría constituir una alternativa para la mejora de las terapias contra el cáncer basadas en la transferencia celular adoptiva de linfocitos T.

#### **Factores de crecimiento presentes en el microambiente tumoral**

En varios tipos de tumores, el crecimiento y la supervivencia de las células de carcinoma parecen estar mantenidos por una red de receptores/

ligandos de la familia del receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR, *epidermal growth factor receptor*). Está bien establecido que el EGFR se expresa de manera ubicua, pero en general se cree que está ausente en el linaje de células hematopoyéticas, con la excepción de la expresión esporádica descrita en monocitos o células plasmáticas. Los estudios también han demostrado que las células T reguladoras (Treg) Foxp3+ expresan EGFR en condiciones inflamatorias. El ligando de EGFR anfirregulina mejora notablemente la función de las células Treg *in vitro* e *in vivo*<sup>32-34</sup>. Curiosamente, las células T efectoras convencionales no expresan EGFR<sup>34</sup> y, por lo tanto, no se benefician de la presencia de ligandos de EGFR en el TME. Especulamos que si las células T transferidas adoptivamente pudieran responder a estos ligandos, podrían persistir y proliferar mejor dentro del TME. Modificamos genéticamente células T CD8+ antitumorales para expresar EGFR y estudiamos el efecto de los ligandos de EGFR en su función *in vitro* e *in vivo*. Descubrimos que las células T CD8+ transducidas con un retrovirus para expresar EGFR

respondieron a los ligandos de EGFR activando la vía de señalización de EGFR. Estas células T efectoras que expresan EGFR proliferaron mejor y produjeron más IFN- $\gamma$  y factor de necrosis tumoral alfa en presencia de ligandos de EGFR producidos por células tumorales *in vitro*. Las células T CD8 que expresan EGFR fueron más eficientes en la eliminación de células tumorales que las células T CD8 control, y también fueron más eficientes para retrasar el crecimiento tumoral en un modelo tumoral murino *in vivo*<sup>35</sup>. Nuestros resultados sugieren que la modificación genética de las células T CD8+ para expresar EGFR podría considerarse en estrategias inmunoterapéuticas basadas en la transferencia adoptiva de células T antitumorales contra cánceres que expresan ligandos de EGFR.

#### **Células inmunosupresoras infiltrantes del tumor**

La complejidad de la matriz extracelular y el desequilibrio de las quimiocinas en el TME promueven en gran medida la presencia de células Treg, macrófagos asociados a tumores, células supresoras

mieloides y otras poblaciones inmunosupresoras que dificultan en gran medida la capacidad de las células T para reconocer y eliminar las células tumorales<sup>36</sup>. Entre ellas, las células Treg representan un componente crucial del sistema inmunitario y son esenciales para controlar la autotolerancia. Sin embargo, son capaces de suprimir la función de las células T reactivas a tumores. De hecho, las Treg se encuentran infiltrando muchos tipos de tumores humanos y se asocian con un alto riesgo de muerte y una supervivencia reducida<sup>37</sup>. El diseño de estrategias para inhibir la acción inmunosupresora de las células Treg es un enfoque interesante para mejorar las respuestas de células T antitumorales. Las Treg que infiltran los tumores se caracterizan por una alta expresión de marcadores como CTLA4, PD-1, LAG3, CD25, GITR, 41BB, ICOS, TIGIT, TIM3 y OX40 en comparación con las Treg periféricas<sup>38</sup>. Estos marcadores son dianas potenciales para inhibir las Treg y trabajar en sinergia con las estrategias de terapia celular adoptiva<sup>38,39</sup>. Las Treg se caracterizan por la expresión de CD25 y del factor de

transcripción FOXP3 específico de Treg, que es necesario para su desarrollo y función<sup>40</sup>. Nuestro grupo ha desarrollado varios inhibidores peptídicos de FOXP3 que han demostrado su capacidad de inhibir las células Treg *in vivo*, mejorando su actividad antitumoral en modelos animales<sup>41-44</sup>. Queda por dilucidar su posible sinergia con las terapias de transferencia celular adoptiva (ACT, *adoptive cell therapy*).

Razonablemente, la combinación de ACT con estrategias de inhibición de Treg podría mejorar la respuesta antitumoral. Sin embargo, el precondicionamiento tumoral con linfodepleción, mediante irradiación o ciclofosfamida, previo a la ACT, es la recomendación más establecida. No obstante, las terapias con células CAR-T siguen siendo vulnerables a múltiples factores de inmunosupresión extrínsecos, incluidas las Treg. Se ha demostrado que las células CAR-T potencian inadvertidamente las Treg al proporcionar una fuente de IL-2 para el consumo de Treg. Algunas estrategias, como las CAR de tercera generación, que son deficientes en la señalización

de Lck, pueden eludir la supresión de Treg<sup>45</sup>. Otros enfoques se han centrado en la mejora de la resistencia de las células CAR-T a la supresión, en lugar de dirigirse directamente a las células supresoras. Por ejemplo, en un estudio, al utilizar células CAR-T con expresión constitutiva o inducida de IL-12, las células CAR-T transferidas fueron menos susceptibles a las Treg<sup>46</sup>.

En la actualidad, numerosas compañías farmacéuticas y biotecnológicas están desarrollando modernas terapias para inhibir las Treg, como anticuerpos biespecíficos, inhibidores oligonucleotídicos antisentido de FOXP3, combinaciones de anticuerpos y nuevos fármacos conjugados<sup>47</sup>. Sin embargo, solo unos pocos han sido probados en modelos de inmunoterapia ACT. Además, la homeostasis inmunitaria requiere un equilibrio entre los mecanismos efectores y supresores inmunitarios, y el agotamiento sistémico de Treg puede provocar el desarrollo de efectos adversos autoinmunitarios. Por lo tanto, la eliminación selectiva de las Treg que infiltran el tumor en el TME, mientras se preservan las poblaciones de Treg

periféricas, será el mayor desafío para aumentar la actividad antitumoral de la ACT sin inducir una autoinmunidad perjudicial<sup>48</sup>.

### Conclusiones

Los datos de los estudios preclínicos y de los primeros ensayos clínicos con terapias de células T adoptivas han identificado varias limitaciones principales en el contexto de los tumores sólidos:

- Dificultades en el reclutamiento de células T.
- Falta de antígenos específicos para el reconocimiento de células tumorales.
- Carencias en la proliferación y persistencia de las células transferidas y derivación de la TME inmunosupresora.

La mayoría de los estudios realizados hasta la fecha han abordado estas limitaciones por separado. Sin embargo, el problema es tan complejo que será necesario abordar diferentes obstáculos en paralelo para aumentar la eficacia de las células T en los tumores sólidos. Un enfoque importante será la

combinación de varias modificaciones génicas en el producto celular. Gracias al rápido desarrollo de la ingeniería de células T y la tecnología de edición del genoma es factible evaluar conceptos ambiciosos y aplicar enfoques clínicos novedosos, y a menudo revolucionarios, en especial en el campo de las células CAR-T. No obstante, algunos problemas técnicos, como la menor eficiencia de transducción y transposición con el aumento del tamaño del inserto, pueden limitar el uso de células CAR-T con múltiples modificaciones. Por otro lado, el riesgo de aumentar la toxicidad de las células CAR-T con estas modificaciones combinadas hace necesario desarrollar estrategias de expresión inducibles que permitan una regulación más fina de la acción del producto celular. Un escenario prometedor es la combinación de células CAR-T y otras modalidades de tratamiento para maximizar la sinergia y abordar diferentes vías simultáneamente. Se deben explorar modelos preclínicos y mecanismos de eficacia y resistencia a la terapia con células CAR-T más apropiados. Los ensayos en curso revelarán si los novedosos enfoques de células CAR-T

beneficiarán a una población más amplia de pacientes con cáncer. Las lecciones que aprendamos de estos nuevos ensayos clínicos serán

importantes para continuar desarrollando nuevas terapias con células CAR-T para el tratamiento de tumores sólidos.

### Bibliografía

1. Martin-Otal C, Navarro F, Casares N, Lasarte-Cia A, Sanchez-Moreno I, Hervas-Stubbs S, et al. Impact of tumor microenvironment on adoptive T cell transfer activity. *Int Rev Cell Mol Biol.* 2022;370:1-31.
2. Lanitis E, Irving M, Coukos G. Targeting the tumor vasculature to enhance T cell activity. *Curr Opin Immunol.* 2015;33:55-63.
3. Bergers G, Benjamin LE. Tumorigenesis and the angiogenic switch. *Nat Rev Cancer.* 2003;3:401-10.
4. Li Y, Wang MN, Li H, King KD, Bassi R, Sun H, et al. Active immunization against the vascular endothelial growth factor receptor flk1 inhibits tumor angiogenesis and metastasis. *J Exp Med.* 2002;195:1575-84.
5. van Beijnum JR, Nowak-Sliwinska P, Huijbers EJ, Thijssen VL, Griffioen AW. The great escape; the hallmarks of resistance to antiangiogenic therapy. *Pharmacol Rev.* 2015;67:441-61.
6. Chinnasamy D, Yu Z, Theoret MR, Zhao Y, Shrimali RK, Morgan RA, et al. Gene therapy using genetically modified lymphocytes targeting VEGFR-2 inhibits the growth of vascularized syngenic tumors in mice. *J Clin Invest.* 2010;120:3953-68.
7. Petrovic K, Robinson J, Whitworth K, Jinks E, Shaaban A, Lee SP. TEM8/ANTXR1-specific CAR T cells mediate toxicity in vivo. *PLoS One.* 2019;14:e0224015.
8. Dvorak HF. Tumors: wounds that do not heal. Similarities between tumor stroma generation and wound healing. *N Engl J Med.* 1986;315:1650-9.
9. Perryman L, Erler JT. Lysyl oxidase in cancer research. *Future Oncol.* 2014;10:1709-17.
10. Keely PJ. Mechanisms by which the extracellular matrix and integrin signaling act to regulate the switch between tumor suppression and tumor promotion. *J Mammary Gland Biol Neoplasia.* 2011;16:205-19.

11. Joyce JA, Fearon DT. T cell exclusion, immune privilege, and the tumor microenvironment. *Science*. 2015;348:74-80.
12. Salmon H, Franciszkievicz K, Damotte D, Dieu-Nosjean MC, Validire P, Trautmann A, et al. Matrix architecture defines the preferential localization and migration of T cells into the stroma of human lung tumors. *J Clin Invest*. 2012;122:899-910.
13. Efthymiou G, Saint A, Ruff M, Rekad Z, Ciais D, Van Obberghen-Schilling E. Shaping up the tumor microenvironment with cellular fibronectin. *Front Oncol*. 2020;10:641.
14. Mazzolini G, Narvaiza I, Martínez-Cruz LA, Arina A, Barajas M, Galofre JC, et al. Pancreatic cancer escape variants that evade immunogene therapy through loss of sensitivity to IFN gamma-induced apoptosis. *Gene Ther*. 2003;10:1067-78.
15. Dighe AS, Richards E, Old LJ, Schreiber RD. Enhanced in vivo growth and resistance to rejection of tumor cells expressing dominant negative IFN gamma receptors. *Immunity*. 1994;1:447-56.
16. Brunda MJ, Rosenbaum D. Modulation of murine natural killer cell activity in vitro and in vivo by recombinant human interferons. *Cancer Res*. 1984;44:597-601.
17. Qin Z, Schwartzkopff J, Pradera F, Kammertoens T, Seliger B, Pircher H, et al. A critical requirement of interferon gamma-mediated angiostasis for tumor rejection by CD8+ T cells. *Cancer Res*. 2003;63:4095-100.
18. Martín-Otal C, Lasarte-Cía A, Serrano D, Casares N, Conde E, Navarro F, et al. Targeting the extra domain A of fibronectin for cancer therapy with CAR-T cells. *J Immunother Cancer*. 2022;10:e004479.
19. Sahai E, Astsaturov I, Cukierman E, DeNardo DG, Egeblad M, Evans RM, et al. A framework for advancing our understanding of cancer-associated fibroblasts. *Nat Rev Cancer*. 2020;20:174-86.
20. Scharping NE, Menk AV, Moreci RS, Whetstone RD, Dadey RE, Watkins SC, et al. The tumor microenvironment represses T cell mitochondrial biogenesis to drive intratumoral T cell metabolic insufficiency and dysfunction. *Immunity*. 2016;45:374-88.
21. Sukumar M, Liu J, Ji Y, Subramanian M, Crompton JG, Yu Z, et al. Inhibiting glycolytic metabolism enhances CD8+ T cell memory and antitumor function. *J Clin Invest*. 2013;123:4479-88.
22. Brand A, Singer K, Koehl GE, Koltz M, Schoenhammer G, Thiel A, et al. LDHA-associated lactic acid production blunts tumor immunosurveillance by T and NK cells. *Cell Metab*. 2016;24:657-71.

23. Estrella V, Chen T, Lloyd M, Wojtkowiak J, Cornell HH, Ibrahim-Hashim A, et al. Acidity generated by the tumor microenvironment drives local invasion. *Cancer Res*. 2013;73:1524-35.
24. Calcinotto A, Filipazzi P, Grioni M, Iero M, De Milito A, Ricupito A, et al. Modulation of microenvironment acidity reverses anergy in human and murine tumor-infiltrating T lymphocytes. *Cancer Res*. 2012;72:2746-56.
25. Pilon-Thomas S, Kodumudi KN, El-Kenawi AE, Russell S, Weber AM, Luddy K, et al. Neutralization of tumor acidity improves antitumor responses to immunotherapy. *Cancer Res*. 2016;76:1381-90.
26. Uhl FM, Chen S, O'Sullivan D, Edwards-Hicks J, Richter G, Haring E, et al. Metabolic reprogramming of donor T cells enhances graft-versus-leukemia effects in mice and humans. *Sci Transl Med*. 2020;12:eabb8969.
27. Parks SK, Chiche J, Pouyssegur J. pH control mechanisms of tumor survival and growth. *J Cell Physiol*. 2011;226:299-308.
28. Webb BA, Chimenti M, Jacobson MP, Barber DL. Dysregulated pH: a perfect storm for cancer progression. *Nat Rev Cancer*. 2011;11:671-7.
29. Bosticardo M, Ariotti S, Losana G, Bernabei P, Forni G, Novelli F. Biased activation of human T lymphocytes due to low extracellular pH is antagonized by B7/CD28 costimulation. *Eur J Immunol*. 2001;31:2829-38.
30. Carswell KS, Papoutsakis ET. Extracellular pH affects the proliferation of cultured human T cells and their expression of the interleukin-2 receptor. *J Immunother*. 2000;23:669-74.
31. Navarro F, Casares N, Martín-Otal C, Lasarte-Cía A, Gorraiz M, Sarrion P, et al. Overcoming T cell dysfunction in acidic pH to enhance adoptive T cell transfer immunotherapy. *Oncoimmunology*. 2022;11:2070337.
32. Dai K, Huang L, Chen J, Yang L, Gong Z. Amphiregulin promotes the immunosuppressive activity of intrahepatic CD4(+) regulatory T cells to impair CD8(+) T-cell immunity against hepatitis B virus infection. *Immunology*. 2015;144:506-17.
33. Wang S, Zhang Y, Wang Y, Ye P, Li J, Li H, et al. Amphiregulin confers regulatory T cell suppressive function and tumor invasion via the EGFR/GSK-3beta/Foxp3 Axis. *J Biol Chem*. 2016;291:21085-95.
34. Zaiss DM, van Loosdregt J, Gorlani A, Bekker CP, Grone A, Sibilica M, et al. Amphiregulin enhances regulatory T cell-suppressive function via the epidermal growth factor receptor. *Immunity*. 2013;38:275-84.

35. Lozano T, Chocarro S, Martín C, Lasarte-Cía A, Del Valle C, Gorraiz M, et al. Genetic modification of CD8(+) T cells to express EGFR: potential application for adoptive T cell therapies. *Front Immunol.* 2019;10:2990.
36. Rodríguez-García A, Palazón A, Noguera-Ortega E, Powell DJ Jr, Guedan S. CAR-T cells hit the tumor microenvironment: strategies to overcome tumor escape. *Front Immunol.* 2020;11:1109.
37. Lozano T, Casares N, Lasarte JJ. Searching for the Achilles heel of FOXP3. *Front Oncol.* 2013;3:294.
38. Arce Vargas F, Furness AJS, Litchfield K, Joshi K, Rosenthal R, Ghorani E, et al. Fc effector function contributes to the activity of human anti-CTLA-4 antibodies. *Cancer Cell.* 2018;33:649-63e4.
39. Chambers CA, Kuhns MS, Egen JG, Allison JP. CTLA-4-mediated inhibition in regulation of T cell responses: mechanisms and manipulation in tumor immunotherapy. *Annu Rev Immunol.* 2001;19:565-94.
40. Williams LM, Rudensky AY. Maintenance of the Foxp3-dependent developmental program in mature regulatory T cells requires continued expression of Foxp3. *Nat Immunol.* 2007;8:277-84.
41. Casares N, Rudilla F, Arribillaga L, Llopiz D, Riezu-Boj JI, Lozano T, et al. A peptide inhibitor of FOXP3 impairs regulatory T cell activity and improves vaccine efficacy in mice. *J Immunol.* 2010;185:5150-9.

42. Lozano T, Casares N, Martil-Otal C, Anega B, Gorraiz M, Parker J, et al. Searching for peptide inhibitors of T regulatory cell activity by targeting specific domains of FOXP3 transcription factor. *Biomedicines.* 2021;9:197.
43. Lozano T, Gorraiz M, Lasarte-Cía A, Ruiz M, Rabal O, Oyarzabal J, et al. Blockage of FOXP3 transcription factor dimerization and FOXP3/AML1 interaction inhibits T regulatory cell activity: sequence optimization of a peptide inhibitor. *Oncotarget.* 2017;8:71709-24.
44. Lozano T, Villanueva L, Durantez M, Gorraiz M, Ruiz M, Belsue V, et al. Inhibition of FOXP3/NFAT interaction enhances T cell function after TCR stimulation. *J Immunol.* 2015;195:3180-9.
45. Suryadevara CM, Desai R, Farber SH, Choi BD, Swartz AM, Shen SH, et al. Preventing Lck activation in CAR T cells confers Treg resistance but requires 4-1BB signaling for them to persist and treat solid tumors in nonlymphodepleted hosts. *Clin Cancer Res.* 2019;25:358-68.
46. Pegram HJ, Lee JC, Hayman EG, Imperato GH, Tedder TF, Sadelain M, et al. Tumor-targeted T cells modified to secrete IL-12 eradicate systemic tumors without need for prior conditioning. *Blood.* 2012;119:4133-41.
47. Ohue Y, Nishikawa H. Regulatory T (Treg) cells in cancer: can Treg cells be a new therapeutic target? *Cancer Sci.* 2019;110:2080-9.
48. Romano M, Fanelli G, Albany CJ, Giganti G, Lombardi G. Past, present, and future of regulatory T cell therapy in transplantation and autoimmunity. *Front Immunol.* 2019;10:43.



# Linfocitos T en inmunoterapia: TIL, CAR-T y tTcR

E. Azucena González-Navarro

Sección de Inmunoterapia, Servicio de Inmunología, CDB, Hospital Clínic de Barcelona, Barcelona

## Resumen

El sistema inmunitario es uno de los sistemas orgánicos que nos garantiza la individualidad, reconociendo nuestro entorno. En los vertebrados está formado por la inmunidad innata, natural o inespecífica, y la inmunidad adquirida, adaptativa o específica. La inmunidad innata es un sistema de acción rápido, que representa la primera línea de defensa del organismo, mientras que la inmunidad adaptativa se genera tras el contacto con los antígenos y, por lo tanto, es más tardía. Los dos tipos de inmunidad mantienen una compleja red de interacciones que permiten su funcionamiento integrado y coordinado en la defensa del organismo frente a agresiones exógenas (infecciones) y endógenas (cáncer). La posibilidad de que respuestas inmunitarias específicas puedan erradicar los tumores ha motivado a lo largo de los años un debate sobre esta hipótesis en el campo de la inmunología tumoral, provocando un cambio de paradigma en el tratamiento del cáncer en los últimos tiempos, pasando desde fármacos tradicionales que se focalizan en un ataque directo frente a las células tumorales hacia la inmunoterapia, con la que se busca potenciar el sistema inmunitario del paciente para que sea este el que ataque al tumor. La evidencia tras varios años de utilizar tratamientos de inmunoterapia nos está llevando a respuestas más eficaces cuando se utilizan combinaciones de fármacos, ya sea dentro del esquema de inmunoterapia o junto con fármacos tradicionales.

**Palabras clave:** inmunoterapia, CAR-T, TIL, TCR, sistema inmunitario.

## Introducción

La inmunoterapia del cáncer se puede definir como cualquier procedimiento que modifique el sistema inmunitario y que afecte de manera negativa al crecimiento de un tumor establecido. Estos procedimientos pueden ser o no específicos para el tumor.

La inmunoterapia específica implica la utilización de antígenos concretos del tumor como dianas contra las que se quiere dirigir la respuesta inmunitaria<sup>1,2</sup>.

## Neoantígenos

Las células tumorales se dividen y multiplican muy rápidamente, lo que genera una serie de mutaciones, inserciones, deleciones, mutaciones puntuales, amplificaciones o inversiones, que dan lugar a los neoantígenos. También se pueden generar por alteraciones en la traducción del RNA mensajero, el procesamiento del antígeno para ser cargado en las moléculas del complejo principal de histocompatibilidad (MHC, *major histocompatibility complex*), así como en la presentación del antígeno a los linfocitos T. En estos casos, la incorporación de un cambio en la

región codificante de una proteína expresada por el tumor puede causar un incremento en la afinidad del péptido por la molécula de MHC, y por lo tanto una mayor presentación en la superficie, o una alteración en la secuencia de aminoácidos que interaccionan directamente con el receptor de células T (TCR, *T cell receptor*). Se trata de moléculas que solo se expresan en células tumorales, en las que no existe tolerancia frente a ellas, por lo que pueden generar respuestas de alta afinidad. Algunas de estas mutaciones pueden estar directamente implicadas en dicha transformación (mutaciones *driver*) y otras apenas tienen un papel relevante en el proceso (mutaciones pasajeras). Un neoantígeno solo se forma cuando una mutación somática genera un epítipo que es expresado, procesado y presentado por las moléculas del MHC de un paciente dado y reconocido por el repertorio de linfocitos T presente en ese paciente; por lo tanto, cada mutación que se genera aumenta las posibilidades de que se forme un neoantígeno<sup>3</sup>.

Los neoantígenos se pueden dividir en dominantes, aquellos que inducen de forma espontánea la respuesta

inmunitaria, y subdominantes, aquellos que requieren una inmunización previa para generar una respuesta inmunitaria<sup>4</sup>. Lo interesante de esta clasificación es que si un neoantígeno dominante es eliminado mediante la inmunoección, los neoantígenos subdominantes pueden ser una diana prometedor para la inmunoterapia.

Actualmente se considera la carga mutacional de un tumor como un factor relevante en el resultado de diferentes tratamientos, lo que está reforzando el papel de este tipo de antígenos como dianas en las diferentes estrategias terapéuticas.

### **Estrategias de inmunoterapia**

#### *Inmunoterapia no específica*

##### INTERLEUCINAS

Diferentes interleucinas (IL-2, IL-12, IL-21) se han utilizado a lo largo de los años para el tratamiento del cáncer, con resultados más o menos favorables, pero con efectos adversos graves. En la actualidad, algunas de estas citocinas se utilizan junto con la inmunoterapia celular para potenciar la acción de esta.

##### INHIBIDORES DEL PUNTO DE CONTROL

Se han desarrollado anticuerpos que consiguen bloquear las moléculas de expresión inhibitoras de la inmunidad, como CTLA-4 y PD-1/PD-L1, para evitar la inhibición del sistema inmunitario por parte del tumor. El uso de estos fármacos ha demostrado la importancia que tiene el sistema inmunitario en la respuesta antitumoral. Con estos tratamientos se ha observado que, una vez desaparecida dicha inhibición, el sistema inmunitario vuelve a funcionar en condiciones óptimas, con buenos resultados del tratamiento.

Los inhibidores del punto de control (*checkpoint inhibitor*) fueron los fármacos que situaron a la inmunoterapia, hace varios años, como una opción en el tratamiento del cáncer, gracias a las respuestas obtenidas principalmente en el melanoma. Esto posibilitó su uso en otros cánceres menos inmunógenos, obteniendo tan buenos resultados como en el melanoma.

El tratamiento con estos fármacos genera reacciones adversas, sobre todo de tipo autoinmunitario por la inhibición

de la tolerancia inmunitaria. La respuesta al tratamiento en pacientes que desarrollaron efectos adversos de grado II o superior se ha correlacionado con respuestas claramente mejores que las de aquellos pacientes que no presentaron toxicidad<sup>5</sup>.

Una consecuencia importante del uso clínico de estos anticuerpos moduladores del sistema inmunitario ha sido el cambio de paradigma en los métodos de valoración de la respuesta al tratamiento, aceptando una valoración de la respuesta a más largo plazo, ya que las acciones antineoplásicas son indirectas y puede haber un retraso en la aparición de la respuesta (no a 1-3 meses como se valoran las quimioterapias). Este cambio en la valoración de la respuesta da por válidos muchos resultados obtenidos con inmunoterapias celulares que antes no se consideraban eficaces<sup>6</sup>.

#### *Inmunoterapia específica*

##### VACUNAS TERAPÉUTICAS

El uso de células tumorales completas (lisadas o atenuadas) para generar una respuesta inmunitaria antitumoral se viene empleando como abordaje

terapéutico desde hace varias décadas, así como el uso de adyuvantes para potenciar la respuesta, como podrían ser el bacilo de Calmette-Guérin<sup>7</sup> y el virus de la enfermedad de Newcastle<sup>8</sup>. Debido a la dificultad de trabajar con líneas tumorales y a la posibilidad de generar fenómenos de autoinmunidad a consecuencia de la presencia de antígenos no tumorales en la vacuna de células completas<sup>9</sup>, se ha intentado otro tipo de vacunación utilizando péptidos derivados de antígenos tumorales.

Los nuevos métodos de secuenciación han permitido entender que las mutaciones implicadas en la transformación maligna de las células tumorales tienen una gran relevancia en la inmunidad antitumoral, pudiendo considerarse buenas dianas para el desarrollo de vacunas, ya que son secuencias extrañas para el organismo y, por lo tanto, no se ha inducido tolerancia inmunitaria frente a ellas. Los resultados preliminares de ensayos clínicos en los que se utilizan vacunas basadas en neoantígenos tumorales demuestran que este tipo de vacunas son seguras y pueden inducir respuestas específicas frente al tumor<sup>10</sup>.

Se ha intentado desarrollar vacunas que tienen como diana neoantígenos que contienen mutaciones frecuentes<sup>11</sup>. Sin embargo, la mayoría de las mutaciones son únicas de cada paciente, y por ello para cada paciente se deben seleccionar los neoepítomos obtenidos de su propio mutanoma que generen una fuerte respuesta inmunitaria. Una gran limitación de este tipo de aproximaciones es que, de todo el mutanoma, solo una pequeña fracción (1%) de neoepítomos son capaces de generar una respuesta inmunitaria espontánea<sup>12</sup>.

En la actualidad se está procesando la enorme cantidad de datos obtenidos en relación con neoantígenos para identificar biomarcadores que permitan seleccionar los neoantígenos más inmunógenos sin que generen efectos adversos de autoinmunidad por reacciones cruzadas con su versión no mutada<sup>13</sup>.

#### TERAPIA CELULAR ADOPTIVA

La inmunoterapia celular adoptiva se puede dividir en dos grandes tipos: linfocitos infiltrantes de tumor (TIL) y linfocitos T modificados genéticamente.

La principal diferencia entre estas dos terapias es que los TIL son una población policlonal que puede reconocer múltiples antígenos tumorales, mientras que los linfocitos T modificados genéticamente se modifican para que reconozcan una única diana o un número limitado de antígenos.

#### 1) Linfocitos infiltrantes de tumor

Son linfocitos que infiltran los tumores sólidos y pueden crecer en suspensión a partir de la disgregación de los tumores con un medio de cultivo que contenga IL-2<sup>14</sup>. Tienen la capacidad de reconocer antígenos específicos de tumor y pueden mantener la lisis específica después de ser expandidos y altamente activados *ex vivo*. Por ejemplo, en pacientes con melanoma, aproximadamente el 70% de los linfocitos obtenidos muestran lisis específica de tumor o secreción de citocinas cuando se exponen al tumor autólogo<sup>15</sup>.

El tratamiento con TIL ha demostrado su eficacia y su capacidad antitumoral, pero no ha logrado los resultados esperados. Una nueva estrategia puede centrarse

en seleccionar *in vitro* aquellos clones que reconocen el tumor y muestran una actividad citotóxica contra antígenos después de la expansión de los TIL para mejorar la especificidad de reconocimiento, pero también debe asegurarse que los linfocitos T inoculados lleguen al tumor. El análisis de linfocitos con especificidad antitumoral que expresan TCR específicos de tumor ha permitido definir ciertos elementos que influyen en la eficacia de la inmunoterapia antitumoral con linfocitos T, y con ello diseñar estrategias para maximizar su actividad. La cantidad de linfocitos administrados, y más en concreto el número de linfocitos con especificidad antitumoral, parece asociarse con la eficacia de la terapia, pero también parece tener importancia el grado de diferenciación de estos, ya que se ha observado que a pesar de que la actividad citotóxica de los linfocitos contra el tumor *in vitro* aumenta de manera progresiva con la diferenciación, su actividad antitumoral *in vitro* disminuye<sup>16</sup>. El grado de diferenciación está relacionado con la pérdida de su habilidad de producir IL-2, su capacidad proliferativa y su habilidad para

extravasarse a tejidos linfáticos y mediar en la regresión tumoral<sup>16,17</sup>. Algunas estrategias incluyen la expansión con citocinas alternativas (IL-7, IL-15 o IL-21), la inhibición de la diferenciación farmacológicamente o modificar genéticamente los linfocitos para que expresen TCR con especificidad antitumoral<sup>18</sup>.

La administración de quimioterapia o radioterapia puede eliminar células inmunosupresoras y tener un efecto inmunoestimulador a través de la activación de las células presentadoras de antígenos (APC, *antigen presenting cell*). Además, la necrosis tumoral inducida por la radiación o la quimioterapia causa la liberación de antígenos que pueden ser captados y presentados por las APC, lo que a su vez puede contribuir a la activación de los linfocitos administrados.

También se ha conseguido la expansión de linfocitos antitumorales a partir de sangre periférica mediante la estimulación repetida con un antígeno tumoral *in vitro*<sup>19</sup>.

Además, en un gran número de tumores, como el melanoma, el

carcinoma de ovario, el carcinoma de colon y el cáncer de cuello, la presencia de TIL se usa como marcador pronóstico<sup>20-22</sup>.

## 2) Linfocitos T modificados genéticamente

La terapia génica sobre los linfocitos T es la opción que está acumulando mayores éxitos como inmunoterapias ya aprobadas, incluyendo no solo terapia CAR-T, sino también TcR nuevos o tTCR:

- CAR-T: es el tratamiento celular que está consiguiendo mejores resultados. Consiste en células T modificadas genéticamente que expresan una proteína de fusión formada por los dominios de reconocimiento de un anticuerpo monoclonal (que otorga la especificidad a la célula T), junto con los dominios de señalización. Los CAR-T han ido evolucionando y se habla de diferentes generaciones, cada una de ellas con alguna incorporación respecto a la anterior. Los CAR-T de primera generación solo tenían la molécula que da la

señal de citotoxicidad (CD3), a los CAR-T de segunda generación se les añade una segunda señal (CD28 o CD137) de activación, mientras que los de tercera generación combinan señales de activación (CD28 más CD137). Los CAR-T de segunda generación son los más eficaces y los más ampliamente utilizados en la actualidad. La célula T que expresa el receptor quimérico de antígeno (CAR) tiene la capacidad de reconocer estructuras en la superficie de las células diana sin necesidad de ser presentadas por vía del MHC, ya que el receptor CAR tiene la misma especificidad y «modo de acción» que el anticuerpo monoclonal que le cede la región de reconocimiento<sup>23</sup>. La especificidad monoclonal de los CAR representa un ataque muy dirigido a una molécula diana, lo que puede dar lugar a una deriva antigénica por parte del tumor y escapar a la respuesta inmunitaria mediada por CAR. Diferentes puntos dentro de la estructura del CAR-T pueden ser modificados para mejorar su

seguridad, eficacia y aplicabilidad. Se están realizando muchos esfuerzos para conseguir CAR-T universales que puedan ser fabricados a partir de linfocitos T de donantes y ser utilizados a demanda. A pesar de obtener resultados concretos en diferentes ensayos clínicos, su aplicación no será a corto plazo.

- tTCR: son linfocitos T modificados genéticamente que expresan un TCR frente a un antígeno concreto del tumor, rompiendo así la tolerancia al tumor. Este tipo de terapia podría generar una inmunidad de tipo «viral» frente a los antígenos de un tumor<sup>24</sup>. Diferentes antígenos están siendo utilizados para explorar esta estrategia. Dentro de los de línea germinal se están explorando NY-ESO-1, MAG-A3, MAG-A10, AFP y CEA. En cuanto a los autoantígenos, MART-1 y gp100 son prometedores dentro de esta estrategia. Uno de los inconvenientes de esta aproximación es la generación de

toxicidad, ya que estos antígenos pueden expresarse en órganos sanos causando reacciones de autoinmunidad o reactividad cruzada. Se han reportado algunos casos de respuestas completas tras la utilización de tTCR frente a neoantígenos presentes en los tumores de los pacientes.

## Conclusiones

A pesar de los buenos resultados obtenidos con la inmunoterapia, existen limitaciones para lograr mejores respuestas. Dentro de estas limitaciones cabe destacar la dependencia de la presentación del antígeno por las moléculas del MHC para que pueda ser reconocido por los TIL y los tTCR, así como la necesidad de que el antígeno esté presentado en la superficie celular para ser reconocido por los CAR-T. Sin embargo, en general, la principal limitación de la eficacia de las terapias celulares adoptivas es la heterogeneidad antigénica de los tumores. Por lo tanto, son necesarias nuevas aproximaciones para mejorar las respuestas.

## Bibliografía

1. Strønen E, Toebes M, Kelderman S, van Buuren MM, Yang W, van Rooij N, et al. Targeting of cancer neoantigens with donor-derived T cell receptor repertoires. *Science*. 2016;352:1337-41.
2. Robbins PF, Lu YC, El-Gamil M, Li YF, Gross C, Gartner J, et al. Mining exomic sequencing data to identify mutated antigens recognized by adoptively transferred tumor-reactive T cells. *Nat Med*. 2013;19:747-52.
3. Bethune MT, Joglekar AV. Personalized T cell-mediated cancer immunotherapy: progress and challenges. *Curr Opin Biotechnol*. 2017;48:142-52.
4. Yarchoan M, Johnson BA, Lutz ER, Laheru DA, Jaffee EM. Targeting neoantigens to augment antitumour immunity. *Nat Rev Cancer*. 2017;17:209-22.
5. Brahmer JR, Tykodi SS, Chow LQ, Hwu WJ, Topalian SL, Hwu P, et al. Safety and activity of anti-PD-L1 antibody in patients with advanced cancer. *N Engl J Med*. 2012;366:2455-65.
6. Tuma RS. Immunotherapies in clinical trials: do they demand different evaluation tools? *J Natl Cancer Inst*. 2011;103:780-1.
7. Hoover HC, Brandhorst JS, Peters LC, Surdyke MG, Takeshita Y, Madariaga J, et al. Adjuvant active specific immunotherapy for human colorectal cancer: 6.5-year median follow-up of a phase III prospectively randomized trial. *J Clin Oncol*. 1993;11:390-9.
8. Schlag P, Manasterski M, Gerneth T, Hohenberger P, Dueck M, Herfarth C, et al. Active specific immunotherapy with Newcastle-disease-virus-modified autologous tumor cells following resection of liver metastases in colorectal cancer. First evaluation of clinical response of a phase II trial. *Cancer Immunol Immunother*. 1992;35:325-30.
9. Lokhov PG, Balashova EE. Cellular cancer vaccines: an update on the development of vaccines generated from cell surface antigens. *J Cancer*. 2010;1:230-41.
10. Hu Z, Ott PA, Wu CJ. Towards personalized, tumour-specific, therapeutic vaccines for cancer. *Nat Rev Immunol*. 2017;18:168-82.
11. Türeci Ö, Vormehr M, Diken M, Kreiter S, Huber C, Sahin U. Targeting the heterogeneity of cancer with individualized neopeptide vaccines. *Clin Cancer Res*. 2016;22:1885-96.
12. Patel SJ, Sanjana NE, Kishton RJ, Eidizadeh A, Vodnala SK, Cam M, et al. Identification of essential genes for cancer immunotherapy. *Nature*. 2017;548:537-42.
13. Yarchoan M, Johnson BA, Lutz ER, Laheru DA, Jaffee EM. Targeting neoantigens to augment antitumour immunity. *Nat Rev Cancer*. 2017;17:209-22.
14. Rosenberg SA, Spiess P, Lafreniere R. A new approach to the adoptive immunotherapy of cancer with tumor-infiltrating lymphocytes. *Science*. 1984;225:1487-9.
15. Dudley ME, Wunderlich JR, Shelton TE, Even J, Steven A. Generation of tumor-infiltrating lymphocyte cultures for use in adoptive transfer therapy for melanoma patients. *J Immunother*. 2003;26:332-42.
16. Gattinoni L, Klebanoff CA, Palmer DC, Wrzesinski C, Kerstann K, Yu Z, et al. Acquisition of full effector function in vitro paradoxically impairs the in vivo antitumor efficacy of adoptively transferred CD8+ T cells. *J Clin Invest*. 2005;115:1616-26.
17. Berger C, Turtle CJ, Jensen MC, Riddell SR. Adoptive transfer of virus-specific and tumor-specific T cell immunity. *Curr Opin Immunol*. 2009;21:224-32.
18. Gattinoni L, Klebanoff CA, Restifo NP. Pharmacologic induction of CD8+ T cell memory: better living through chemistry. *Sci Transl Med*. 2009;1:11ps12.
19. Yee C. The use of endogenous T cells for adoptive transfer. *Immunol Rev*. 2014;257:250-63.
20. Liakou CI, Narayanan S, Ng Tang D, Logothetis CJ, Sharma P. Focus on TILs: prognostic significance of tumor infiltrating lymphocytes in human bladder cancer. *Cancer Immun*. 2007;7:10.
21. Uppaluri R, Dunn GP, Lewis JS Jr. Focus on TILs: prognostic significance of tumor infiltrating lymphocytes in head and neck cancers. *Cancer Immun*. 2008;8:16.
22. Oble DA, Loewe R, Yu P, Mihm MC. Focus on TILs: prognostic significance of tumor infiltrating lymphocytes in human melanoma. *Cancer Immun*. 2009;9:3.
23. Sadelain M, Rivière I. CAR T cells in cancer therapy. *Nat Rev Drug Discov*. 2017. Disponible en: [https://media.nature.com/full/nature-cms/uploads/ckeditor/attachments/8488/nrd\\_tcells\\_dec17.pdf](https://media.nature.com/full/nature-cms/uploads/ckeditor/attachments/8488/nrd_tcells_dec17.pdf).
24. Morgan RA, Dudley ME, Wunderlich JR, Hughes MS, Yang JC, Sherry RM, et al. Cancer regression in patients after transfer of genetically engineered lymphocytes. *Science*. 2006;314:126-9.

# Visión global y futuro de las inmunoterapias avanzadas en oncología

## Antoni Ribas

Departamentos de Medicina, Cirugía, Farmacología Molecular y Médica, Programa de Inmunología del Tumor, Jonsson Comprehensive Cancer Center, Los Angeles, CA, USA  
Parker Institute for Cancer Immunotherapy Center, University of California Los Angeles (UCLA), Los Angeles, CA, USA

### Resumen

Se describen el presente y el futuro de los tratamientos mediante inhibición de los *checkpoints* inmunitarios. A través de diversos estudios clínicos se probará la importancia de cumplir ciertos requisitos biológicos para que esto suceda. Hay que elegir al paciente correcto, ya que debería ocurrir en aquellos con una alta presencia de linfocitos T en el tumor; de otra manera, no se producirá un efecto inmunitario. Se debe administrar la terapia inhibitoria solo cuando tenga sentido; en situaciones en las que la extirpación quirúrgica se lleve los linfocitos T, la acción inmunitaria no será eficaz. Por ello, se propone estudiar si el tratamiento debe hacerse como neoadyuvante o adyuvante. En esa línea, muchas veces los linfocitos T están inmovilizados en *checkpoints* anteriores, por lo que usando tratamientos combinados con diversos inhibidores será posible la infiltración de los linfocitos T al tumor, asegurando una mayor tasa de éxito terapéutico. Finalmente, se comenta la importancia de la retroalimentación del interferón gamma producida por la misma inmovilidad de los linfocitos T en el tumor, haciendo del tumor un factor activador de la respuesta inmunitaria antitumoral, que luego se activa con el tratamiento inhibitorio.

**Palabras clave:** linfocito T, anti-PD-1, anti-CTLA-4, interferón gamma, cáncer, melanoma.

### Introducción

Se han hecho referencias ya sobre la conveniencia de entender por qué es importante el uso de anti-PD-1 en pacientes; eso llevamos años estudiándolo y hemos podido desarrollar tres estudios clínicos en el SouthWest Oncology Group (<https://www.swog.org>) que permitirán aportar a esta discusión. Dichos estudios se basan en la búsqueda de un entendimiento más profundo de cómo utilizar este receptor para avanzar en el tratamiento de los pacientes. Esto, a su vez, logrará empujar aún más el entendimiento de cómo el cáncer se transforma en un facilitador de la respuesta inmunitaria y a su vez puede inactivar a las moléculas que desbaratan la respuesta inmunitaria.

Usar inhibidores de diversos *checkpoints* inmunitarios como tratamiento oncológico de frontera tecnológica es posible que incluso haga innecesario, en algunos casos específicos, el uso de cirugía u otros tratamientos pensados para otras dianas celulares. Un ejemplo es PD-1 (proteína de muerte celular programada), que es el regulador más

investigado, por su papel indispensable en la regulación de los linfocitos T y la homeostasis inmunitaria<sup>1</sup>; otro es CTLA-4 (antígeno asociado a linfocito T citotóxico), el cual es un regulador negativo muy estudiado de los linfocitos T que modula la activación celular mediante diversas cascadas tróficas<sup>2</sup>.

Se utilizan tratamientos anti-PD-1 y anti CTLA-4 debido a que asumimos que los linfocitos T antitumorales ya pasaron por todos los procesos y tienen los receptores adecuados para reconocer el cáncer entre las células normales, pero tienen un bloqueo por parte de estas moléculas que inhibimos. Eso es poco frecuente, razón por la que son escasos los pacientes que responden. Sin embargo, vamos a comentar tres estudios que muestran los contextos en los que sí es muy efectivo.

### Elegir a los pacientes correctos para el bloqueo de PD-1

El melanoma desmoplástico es un cáncer raro que corresponde a uno de cada 40 melanomas cutáneos y se genera principalmente en gente de

mayor edad y en zonas del cuerpo que no tienen pigmentación expuestas al sol<sup>3</sup>. Además, la gran cantidad de fibrosis por colágeno que presenta este cáncer hace muy difícil realizar tratamientos (quimioterapia y radioterapia), generando un microambiente tumoral que hace compleja la respuesta inmunitaria. Junto a todo ello se encuentra además la falta de estructuras linfoides terciarias. En su conjunto, tiene unas características que hacen inviable considerar el bloqueo de PD-1 como tratamiento.

Sin embargo, hay dos características que incluso pueden ser favorables para este tratamiento: la tasa mutacional es alta en el tumor y el infiltrado de linfocitos T preexistentes (antes de cualquier tratamiento) es alto.

El tratamiento estándar es la cirugía, ya que no hay otra forma de tratarlos. La cuestión era que esperábamos una alta funcionalidad del uso neoadyuvante de anti-PD-1 (pembrolizumab) en el cáncer localizado, como este melanoma, de la misma manera que en aquellos que generan metástasis. Lo que se vio primeramente, en un estudio realizado con 57 pacientes, es que la tasa de

respuesta al tratamiento neoadyuvante con el anti-PD-1 pembrolizumab fue del 70% en pacientes con melanoma desmoplástico<sup>4</sup>. Esto nos alentó a realizar un estudio terapéutico (SWOG S1512)<sup>5</sup> en el que se trataron 29 pacientes, con una respuesta patológica del 55%, aunque es probable que la respuesta sea mayor al tener algunos pacientes melanomas residuales menores de 1 mm.

En síntesis, los pacientes con melanoma desmoplástico son excepcionales candidatos para tratamientos anti-PD-1, lo que ayudaría a dejar fuera otros tratamientos estándar o cirugías desfigurantes.

**Administrar una terapia de bloqueo de PD-1 solo cuando tenga sentido hacerlo**

Si los tratamientos con neoadyuvantes son exitosos en los pacientes con melanoma avanzado, es lógico poder compararlos como tratamiento adyuvante. Eso fue lo que se hizo en el estudio clínico SWOG S1801<sup>6</sup>. Administramos 18 dosis de pembrolizumab, un anti-PD-1, durante 1 año, antes o después de una cirugía.

Sorprendentemente, el 72% de los pacientes tratados antes de la cirugía no tuvieron eventos de reaparición, frente al 49% de los que recibieron el tratamiento después de la cirugía.

Es decir, la respuesta al bloqueo de PD-1 requiere una alta infiltración de linfocitos T antitumorales directamente en contacto con células cancerígenas<sup>7</sup>. En el tratamiento como adyuvante, la resección quirúrgica del tumor se lleva la mayoría de los linfocitos, lo que impide una alta respuesta antitumoral *a posteriori*, dejando solo a los linfocitos T potencialmente capaces de responder a la terapia en sitios de micrometástasis sistémicas<sup>8-10</sup>.

En cambio, la administración previa a la cirugía, con una alta población de linfocitos T presentes y bloqueados por PD-1 junto al tumor, podría activar una fuerte respuesta inmunitaria con el tratamiento anti-PD-1, expandiendo los linfocitos del tumor y del sitio donde se realizará la extirpación quirúrgica<sup>11,12</sup>.

En síntesis, deberíamos cambiar la forma en que administramos la terapia anti-PD-1 y anti-PDL-1, y hacerlo previamente a la cirugía en aquellos

pacientes con cáncer localmente avanzado y que tengan la potencialidad de responder a este tipo de agentes.

**Corregir lo que no permite el funcionamiento del tratamiento anti-PD-1**

Hay muchos pacientes que tienen cáncer con metástasis que es refractario a los tratamientos anti-PD-1. En estos pacientes, las hipótesis imperantes son que no hay una gran infiltración de linfocitos T en el tumor, probablemente porque se encuentran frenados en el *checkpoint* de activación de CTLA-4<sup>7</sup>. Por ello, si es posible liberarlos de este bloqueo, los linfocitos podrán llegar hasta el tumor<sup>13-18</sup>.

En un tercer estudio (SWOG S1616)<sup>19</sup> investigamos cómo puede revertirse la resistencia primaria al bloqueo de PD-1 utilizándolo en combinación con anti-CTLA-4. Incluimos pacientes con melanoma avanzado que no habían respondido a un tratamiento con anti-PD-1, de los cuales 23 recibieron solo ipilimumab (anti-PD-1) y 68 recibieron la combinación de nivolumab (anti-CTLA-4) con ipilimumab. Como señala la literatura, los que recibieron el

tratamiento combinado anti-PD-1 y anti-CTLA-4 tuvieron una mayor supervivencia libre de progresión que los tratados solo con anti-PD-1. La proyección de supervivencia a 6 meses fue tres veces mayor para el tratamiento combinado (34% frente a 13%). Es decir, incluso los pacientes refractarios a anti-PD-1 son candidatos que rescatar al agregar un anti-CTLA-4.

Además, siguiendo la línea de la hipótesis, al cuantificar los linfocitos T se ve un aumento en las biopsias de los pacientes con el tratamiento combinado<sup>20</sup>, lo que confirma que efectivamente hay un bloqueo en el *checkpoint* de CTLA-4. Es importante utilizar anti-PD-1 debido a que, al ser liberados, inmediatamente se inactivarán en el tumor por PD-1.

### El futuro

Considerando que el tumor buscará todas las formas posibles de impedir la acción inmunitaria, tales como células inmunosupresoras, aumentar el metabolismo tumoral, elevar el pH, etc., dejando a los linfocitos T en una clara desventaja de manera natural, y que además los linfocitos antitumorales

tienden a estar muy reducidos previamente a cualquier tratamiento, entonces, ¿cómo llegan a ser capaces de atacar al tumor? Pues principalmente la respuesta radica en el proceso de bloqueo tumoral de los linfocitos T, en particular por la rápida producción de interferón gamma (IFN- $\gamma$ ), que inducirá no solo la activación de los linfocitos, sino también de las células tumorales, que expresarán 2000 genes nuevos inducidos por el IFN- $\gamma$  en 24 horas. Por lo tanto, no es solo que una célula tumoral sea la que bloquea a los linfocitos T, sino que, en efecto, también activa la producción de IFN- $\gamma$  hasta a 40 niveles celulares que están expresando genes en respuesta a este interferón<sup>21,22</sup>.

En un nuevo estudio, en el que seguimos los biomarcadores durante 3 años en 101 pacientes con tratamiento con nivolumab solo o combinado con ipilimumab contra el melanoma con metástasis<sup>23</sup>, observamos que la respuesta o la resistencia a estas terapias estaba supeditada a la infiltración de linfocitos T. Además, aquellos pacientes que respondían a las terapias tenían un incremento en la expresión de genes para HLA e IFN- $\gamma$ . Por esta razón, los

pacientes con mutaciones en JAK 1-2 generarían una resistencia a los tratamientos de inhibición, principalmente porque se impediría la activación por el IFN- $\gamma$ <sup>24</sup>.

En síntesis, los linfocitos T, al ser bloqueados en su PD-1 por las células tumorales, inducen la producción de IFN- $\gamma$ , que a su vez activa a las células inmunitarias circundantes, que se bloquearían también al llegar al tumor, transformando así al tumor en un potencializador de la respuesta inmunitaria antitumoral. Esto se logra activar mediante los tratamientos inhibidores.

### Conclusiones

- La actividad antitumoral al bloquear PD-1 requiere la existencia de

linfocitos T en el tumor y que se encuentren inmovilizados por PD-1.

- Administrar terapia anti-PD-1 antes de una cirugía oncológica beneficia a los pacientes al movilizar del tumor a los linfocitos T.
- Los pacientes con un cáncer con una alta tasa mutacional (melanoma desmoplástico o cáncer colorrectal con alto número de microsatélites) son muy buenos candidatos para terapia inhibidora de PD-1. En el futuro, esto podría relegar las cirugías a un segundo plano.
- El tumor requiere haber sido un activador de la respuesta inmunitaria antitumoral para que se produzca una respuesta, por la necesidad de tener linfocitos T sensibilizados por el IFN- $\gamma$ .

### Bibliografía

1. Abril-Rodriguez G, Ribas A. SnapShot: immune checkpoint inhibitors. *Cancer Cell*. 2017;31:848.e1.
2. Robert L, Tsoi J, Wang X, Emerson R, Homet B, Chodon T, et al. CTLA4 blockade broadens the peripheral T-cell receptor repertoire. *Clin Cancer Res*. 2014;20:2424-32.



3. Chen LL, Jaimes N, Barker CA, Busam KJ, Marghoob AA. Desmoplastic melanoma: a review. *J Am Acad Dermatol* 2013;68:825-33.
4. Eroglu Z, Zaretsky JM, Hu-Lieskovan S, Kim DW, Algazi A, Johnson DB, et al. High response rate to PD-1 blockade in desmoplastic melanomas. *Nature*. 2018;553:347-50.
5. Kendra KL, Moon M, Eroglu Z, Hu-Lieskovan S, Carson W, Wada D, et al. Neoadjuvant PD-1 blockade in patients with resectable desmoplastic melanoma (SWOG 1512). *J Clin Oncol*, 2022;40 (Suppl 15): abstr 9502.
6. Patel SP, Othus M, Chen Y, Wright GP Jr, Yost KJ, Hyngstrom JR, et al. Neoadjuvant-adjuvant or adjuvant-only pembrolizumab in advanced melanoma. *N Engl J Med*. 2023;388:813-23.
7. Tumei PC, Harview CL, Yearley JH, Shintaku IP, Taylor EJ, Robert L, et al. PD-1 blockade induces responses by inhibiting adaptive immune resistance. *Nature*. 2014;515:568-71.
8. Weber J, Mandala M, Del Vecchio M, Gogas HJ, Arance AM, Cowey CL, et al. Adjuvant nivolumab versus ipilimumab in resected stage III or IV melanoma. *N Engl J Med*. 2017;377:1824-35.
9. Eggermont AMM, Blank CU, Mandala M, Long GV, Atkinson V, Dalle S, et al. Adjuvant pembrolizumab versus placebo in resected stage III melanoma. *N Engl J Med*. 2018;378:1789-801.
10. Grossmann KF, Othus M, Patel SP, Tarhini AA, Sondak VK, Knopp MV, et al. Adjuvant pembrolizumab versus IFN $\gamma$ 2b or ipilimumab in resected high-risk melanoma. *Cancer Discov*. 2022;12:644-53.
11. Liu J, Blake SJ, Yong MC, Harjunpää H, Ngiow SF, Takeda K, et al. Improved efficacy of neoadjuvant compared to adjuvant immunotherapy to eradicate metastatic disease. *Cancer Discov*. 2016;6:1382-99.
12. Blank CU, Rozeman EA, Fanchi LF, Sikorska K, van de Wiel B, Kvistborg P, et al. Neoadjuvant versus adjuvant ipilimumab plus nivolumab in macroscopic stage III melanoma. *Nat Med*. 2018;24:1655-61.
13. Sharma P, Shen Y, Wen S, Yamada S, Jungbluth AA, Gnjatic S, et al. CD8 tumor-infiltrating lymphocytes are predictive of survival in muscle-invasive urothelial carcinoma. *Proc Natl Acad Sci*. 2007;104:3967-72.
14. Ribas A, Benz MR, Allen-Auerbach MS, Radu C, Chmielowski B, Seja E, et al. Imaging of CTLA4 blockade-induced cell replication with  $^{18}\text{F}$ -FLT PET in patients with advanced melanoma treated with tremelimumab. *J Nucl Med*. 2010;51:340-6.

15. Huang RR, Jilil J, Economou JS, Chmielowski B, Koya RC, Mok S, et al. CTLA4 blockade induces frequent tumor infiltration by activated lymphocytes regardless of clinical responses in humans. *Clin Cancer Res*. 2011;17:4101-9.
16. Cha E, Klinger M, Hou Y, Cummings C, Ribas A, Faham M, et al. Improved survival with T cell clonotype stability after anti-CTLA-4 treatment in cancer patients. *Sci Transl Med*. 2014;6:238ra70.
17. Wei SC, Levine JH, Cogdill AP, Zhao Y, Anang NAS, Andrews MC, et al. Distinct cellular mechanisms underlie anti-CTLA-4 and anti-PD-1 checkpoint blockade. *Cell*. 2017;170:1120-33.e17.
18. Sharma A, Subudhi SK, Blando J, Scutti J, Vence L, Wargo J, et al. Anti-CTLA-4 immunotherapy does not deplete FOXP3+ regulatory t cells (Tregs) in human cancers. *Clin Cancer Res*. 2019;25:1233-8.
19. Vanderwalde AM, Moon J, Kendra K, Khushalani NI, Collichio F, Sosman JA, et al. Abstract CT013: S1616: Ipilimumab plus nivolumab versus ipilimumab alone in patients with metastatic or unresectable melanoma that did not respond to anti-PD-1 therapy. *Cancer Res*. 2022;82:CT013. Disponible en: [https://aacrjournals.org/cancerres/article/82/12\\_Supplement/CT013/701949/Abstract-CT013-S1616-Ipilimumab-plus-nivolumab](https://aacrjournals.org/cancerres/article/82/12_Supplement/CT013/701949/Abstract-CT013-S1616-Ipilimumab-plus-nivolumab).
20. Van der Walde A, Bellasea SL, Kendra KL, Khushalani NI, Campbell KM, Scumpia PO, et al. Ipilimumab with or without nivolumab in PD-1 or PD-L1 blockade refractory metastatic melanoma: a randomized phase 2 trial. *Nat Med*. 2023;29:2278-85.
21. Ribas A, Haining WN, Schumacher TNM. When cancer cells become the enablers of an antitumor immune response. *Cancer Discov*. 2022;12:2244-8.
22. Hoekstra ME, Bornes L, Dijkgraaf FE, Philips D, Pardieck IN, Toebes M, et al. Long-distance modulation of bystander tumor cells by CD8+ T-cell-secreted IFN- $\gamma$ . *Nat Cancer*. 2020;1:291-301.
23. Grasso CS, Tsoi J, Onyshchenko M, Abril-Rodriguez G, Ross-Macdonald P, Wind-Rotolo M, et al. Conserved interferon- $\gamma$  signaling drives clinical response to immune checkpoint blockade therapy in melanoma. *Cancer Cell*. 2020;38:500-15.e3.
24. Zaretsky JM, García-Díaz A, Shin DS, Escuin-Ordinas H, Hugo W, Hu-Lieskovan S, et al. Mutations associated with acquired resistance to PD-1 blockade in melanoma. *N Engl J Med*. 2016;375:819-29.

# Terapias avanzadas en niños: necesidades y particularidades

Susana Rives Solà

Hematología Pediátrica, Pediatric Cancer Center Barcelona, Hospital Sant Joan de Déu, Esplugues de Llobregat, Barcelona

## Resumen

El desarrollo de las terapias avanzadas en la edad pediátrica presenta unos desafíos importantes. En este capítulo se resumen las principales dificultades que tiene la implementación de estas terapias en los niños y particularmente en la hematooncología pediátrica. Los cánceres en la infancia y la adolescencia son enfermedades minoritarias, que constituyen el 2% de todos los cánceres. Algunos de ellos solo están presentes en esta edad. Esto dificulta el interés de la industria farmacéutica por la investigación en terapias avanzadas para esta población. El acceso a tratamientos nuevos en esta edad y a ensayos clínicos ha ido generalmente por detrás de los pacientes en edad adulta. En los últimos años este problema se ha debatido de forma multidisciplinaria y se han conseguido algunos avances, como los planes de investigación pediátrica requeridos por la EMA. La terapia CAR-T se aprobó por primera vez en la edad pediátrica; sin embargo, la investigación de CAR-T en tumores de la edad pediátrica resulta muy compleja. Un desafío importante es la traslación de la investigación académica en ensayos clínicos a su aprobación y posible uso fuera de los estudios. Se requiere una colaboración entre las instituciones académicas y las agencias reguladoras para que ayuden y fomenten su llegada a la población pediátrica.

**Palabras clave:** terapias avanzadas, CAR-T, cáncer pediátrico, niños.

## Introducción

En este capítulo se describen las particularidades y los desafíos de las terapias avanzadas en la edad pediátrica, en particular en el cáncer pediátrico. Tras una breve descripción sobre el cáncer en la edad pediátrica y la situación especial de los ensayos clínicos en pediatría, abordaremos las particularidades y los retos de las terapias avanzadas en niños y las posibles estrategias para hacer frente a las dificultades y permitir su desarrollo en estos pacientes.

## Cáncer pediátrico

El cáncer en la edad pediátrica es una enfermedad que difiere de los cánceres que se presentan en los adultos, no solo en el tipo de cáncer, sino también en sus características biológicas. Además, el impacto en las familias y en los pacientes, tanto en calidad de vida como en años de vida potencialmente perdidos, y como secuelas y consecuencias a largo plazo, es en especial importante cuando se trata de niños<sup>1</sup>.

A diferencia de la edad adulta, el cáncer en la edad pediátrica es una

enfermedad infrecuente, que representa el 2% de todos los cánceres. Aun así, constituye una de las principales causas de mortalidad infantil no accidental en los países de renta alta. El tipo de cáncer difiere, tratándose en la mayoría de los casos de tumores del desarrollo, con un número menor de mutaciones que los cánceres del adulto. En niños y adolescentes, los cánceres más frecuentes son la leucemia y el linfoma, los tumores del sistema nervioso central, los sarcomas y el neuroblastoma. En los adultos, en cambio, predominan los tumores epiteliales y los carcinomas.

Algunos tipos de tumores ocurren tanto en adultos como en niños, aunque pueden diferir en algunas características biológicas y en su pronóstico, como las leucemias y los linfomas, y otros son prácticamente exclusivos de la edad pediátrica o del adulto joven, como el tumor de Wilms, el sarcoma de Ewing y el neuroblastoma<sup>1</sup>.

Al tratarse de enfermedades minoritarias, y algunas de ellas presentes solo en esta edad, la inversión y el interés de la industria

farmacéutica en su investigación es menor que en los cánceres mucho más prevalentes de la edad adulta. El acceso a tratamientos nuevos en esta edad y a ensayos clínicos ha ido generalmente por detrás de los pacientes en edad adulta.

#### Ensayos clínicos en pediatría

Los ensayos clínicos pediátricos son esenciales para desarrollar tratamientos seguros y efectivos para niños, pero requieren una atención especial a cuestiones éticas, regulatorias y prácticas. A continuación, describimos algunas de las dificultades y particularidades de llevar a cabo ensayos clínicos en la edad pediátrica.

Con el fin de proteger a los menores, se debe garantizar que no estén expuestos a riesgos excesivos y que los posibles beneficios superen los riesgos. El dilema ético radica en la realización de ensayos clínicos mientras se protege el bienestar y los derechos de los menores. Así, durante muchos años se consideró que los niños no debían participar en tratamientos experimentales. Debido a ello, en Europa, más de la mitad de los

fármacos utilizados en niños nunca han sido estudiados en esta población, llegando al 90% en neonatología.

Los niños presentan un organismo en desarrollo con cambios en su metabolismo. Falta información respecto a la farmacocinética y la dosificación específica para la edad, lo que puede exponerlos a efectos adversos indeseados o a una ineficacia de tratamientos por dosificación subterapéutica. También es necesario evaluar el posible impacto en el crecimiento y el desarrollo puberal, así como los efectos a largo plazo. Además, requieren formulaciones adaptadas a su edad y peso<sup>2</sup>.

Otra dificultad que presenta la investigación pediátrica es que en ocasiones se trata de enfermedades muy infrecuentes, por lo que son necesarios diseños específicos para poblaciones con un número de pacientes muy pequeño<sup>3</sup>.

Por otro lado, en la mayoría de los estudios en los que se prueba por primera vez un medicamento en humanos (*first in human*), como dogma general se considera que el hallazgo de

dosis debe hacerse primero en adultos para «proteger» a los niños. Esto retrasa la llegada de nuevos tratamientos para esta población, o incluso puede impedir que lleguen fármacos que por haber mostrado un perfil tóxico en adultos no alcancen a ser probados en niños, cuando, a menudo, los niños toleran mejor los tratamientos. Un ejemplo que pone de manifiesto que un tratamiento puede ser mejor tolerado en niños que en adultos es la terapia con células CAR-T en pacientes con leucemia linfoblástica aguda (LLA). Es el caso de CTL019, tisagenlecleucel, que fue aprobado por la Food and Drug Administration (FDA) y la Agencia Europea de Medicamentos (EMA) para niños y adultos hasta 25 años<sup>4,5</sup>. Sin embargo, la toxicidad de esta terapia en adultos fue mayor y no se ha aprobado para adultos mayores de 25 años. Si no se hubiera probado en niños de forma independiente, tal vez este tratamiento no habría llegado nunca a los niños con LLA.

Afortunadamente, el paradigma de la investigación pediátrica ha cambiado y en vez de proteger a los niños impidiendo su participación en ensayos

clínicos se les protege promoviendo que participen en ellos y que lo hagan desde el principio del desarrollo del fármaco, acelerando así su acceso a nuevas terapias. Las agencias reguladoras, como la FDA y la EMA, han desarrollado regulaciones específicas que obligan a las empresas farmacéuticas a realizar ensayos pediátricos para todos los medicamentos, salvo aquellos en los que no se dé la enfermedad en la edad infantil. La EMA obliga a desarrollar un plan de investigación pediátrica (PIP), que es un plan de desarrollo destinado a garantizar que se obtienen los datos necesarios mediante estudios en población pediátrica para apoyar la autorización de un medicamento para niños<sup>6,7</sup>. Sin embargo, esta regulación tiene limitaciones importantes. En oncología, la regulación viene dirigida por las indicaciones de las enfermedades en adultos e ignora que el mecanismo de acción de un tratamiento que puede beneficiar a un cáncer de la edad adulta, como por ejemplo el cáncer de mama, también podría beneficiar a otros cánceres en edad pediátrica, como el neuroblastoma. Debería ir dirigido por el mecanismo de acción del fármaco, en

lugar de por la indicación de los adultos. Además, muchas enfermedades raras, exclusivas de la edad pediátrica, carecen de PIP.

### Terapias avanzadas en pediatría

Hemos expuesto el problema de los ensayos clínicos en niños porque el desarrollo de las terapias avanzadas en pediatría comparte, en gran medida, muchas de estas dificultades. Además, la elevada inversión que requiere su desarrollo incrementa el desafío que supone su inicio en enfermedades minoritarias, como son los cánceres pediátricos y otras enfermedades genéticas como las inmunodeficiencias, las hemoglobinopatías y las metabolopatías.

A pesar de ello, precisamente la terapia CAR-T consiguió su primera aprobación en la LLA en edad pediátrica con el tisagenlecleucel<sup>4</sup>. En España, el primer ensayo clínico con terapia CAR-T se llevó a cabo en un hospital pediátrico, en 2016, con el inicio del ensayo ELIANA que posteriormente llevó a su aprobación por la FDA en 2017 y por la EMA en 2018<sup>4,5,8</sup>. También el primer CAR-T alogénico de donante sano

*off the shelf* se probó en un lactante<sup>9</sup>. En el caso del ensayo de fase I *first in human* con el CAR-T académico ARI-0001, se hizo un ensayo clínico en el que se incluyeron simultáneamente niños y adultos con neoplasias linfoides CD19 positivas<sup>10</sup>.

También se han publicado resultados prometedores con un CAR-T GD2A en niños con neuroblastoma<sup>11</sup> y se están realizando ensayos clínicos en otros cánceres pediátricos, como gliomas y sarcomas<sup>12</sup>.

Pese a este desarrollo inicial de la terapia CAR-T en niños, dicho tratamiento presenta unas dificultades importantes.

La terapia CAR-T ha demostrado eficacia en la LLA de células B (LLA-B) en recaída o refractaria sin otras alternativas y con un perfil de menor toxicidad que el trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos. Además, el potencial de este tratamiento puede extenderse más allá de la LLA-B, por ejemplo a la LLA de células T e incluso a los tumores sólidos. Para ello se requiere investigar porque son muchas las barreras, tanto en cuanto a la diana como a la penetración de las células en el tumor

y el microambiente inmunitario hostil. Será necesario investigar en plataformas internacionales, en el contexto de instituciones o grupos académicos. El desarrollo de CAR-T para cánceres pediátricos se halla en un momento muy complejo, con dificultades de financiación y regulatorias que desafían la investigación académica en general y en la población pediátrica muy especialmente<sup>3</sup>.

A diferencia de lo que ocurre con otros productos individualizados, como los usados en el trasplante hematopoyético, en el que se ha venido investigando en centros académicos bajo los estándares de las GMP (*Good Manufacturing Practice*), la legislación actual considera que las células CAR-T son fármacos y requieren su aprobación como tales. Esto dificulta en gran medida la posibilidad del desarrollo completamente académico de estas terapias. Por otro lado, el interés de las compañías farmacéuticas por el desarrollo de productos de alta complejidad para enfermedades muy raras, como son los cánceres pediátricos, es muy limitado. A diferencia de la LLA-B, que comparte

antígenos tumorales (como CD19) con la LLA del adulto y otras neoplasias linfoides B (linfomas, leucemia linfática crónica), muchos de los tumores pediátricos no los comparten.

En este sentido, tanto grupos europeos como norteamericanos han mostrado su interés en promover una investigación pediátrica con modelos puramente académicos y también con modelos híbridos. Así se han establecido foros de discusión pediátricos, como ACCELERATE<sup>3</sup>, en el que grupos multidisciplinares que incluyen investigadores y clínicos, del mundo académico y de compañías farmacéuticas, representantes de asociaciones de pacientes y familias, y reguladores de la EMA y de la FDA, discuten e identifican los desafíos y las posibles formas de solventarlos<sup>3</sup>. En una reunión de este foro en 2022 se concluyó la necesidad de:

- Apoyar de forma precoz a la academia en oncología pediátrica.
- Contar con el asesoramiento y la ayuda de las agencias reguladoras en el diseño de los ensayos clínicos buscando su posible aprobación.

- Fomentar una alineación estratégica, científica y reguladora de las tecnologías de salud y de su financiación.
- Establecer posibles modelos híbridos, con vistas a transferir de forma rápida el conocimiento a la industria para su desarrollo.
- Asegurar el acceso de los niños a estos tratamientos.

Una iniciativa de la EMA que va en el sentido de fomentar el desarrollo académico de las terapias avanzadas es la designación PRIME (*PRiority MEDicines*)<sup>13</sup>. Así, como ejemplo, las células ARI-0001, el primer CAR-T CD19 académico aprobado por la Agencia Española del Medicamento y Productos Sanitarios, consiguió en 2022 la

designación PRIME. Además, para la aprobación de este producto por la EMA se ha requerido un PIP con el fin de que pueda conseguirse su aprobación también para población pediátrica.

### Conclusiones

En resumen, debido a la rareza de las enfermedades oncológicas y de otras enfermedades monogénicas en pediatría, la terapia celular y la terapia génica se encuentran con grandes dificultades para su desarrollo y carecen de interés para la industria farmacéutica. Se requiere una colaboración entre las instituciones académicas y las agencias reguladoras para que ayuden y fomenten su llegada a la población pediátrica.

### Bibliografía

1. Ward E, DeSantis C, Robbins A, Kohler B, Jemal A. Childhood and adolescent cancer statistics, 2014. *CA Cancer J Clin.* 2014;64:83-103.
2. Kearns GL, Abdel-Rahman SM, Alander SW, Blowey DL, Leeder JS, Kauffman RE. Developmental pharmacology – drug disposition, action, and therapy in infants and children. *N Engl J Med.* 2003;349:1157-67.

3. Pearson AD, Rossig C, Mackall C, Shah NN, Baruchel A, Reaman G, et al. Paediatric Strategy Forum for medicinal product development of chimeric antigen receptor T-cells in children and adolescents with cancer: ACCELERATE in collaboration with the European Medicines Agency with participation of the Food and Drug Administration. *Eur J Cancer.* 2022;160:112-33.
4. O’Leary MC, Lu X, Huang Y, Lin X, Mahmood I, Przepiorka D, et al. FDA Approval Summary: Tisagenlecleucel for treatment of patients with relapsed or refractory B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia. *Clin Cancer Res.* 2019;25:1142-6.
5. European Medicines Agency. Kymriah. (Consultado el 6-11-2023.) Disponible en: <https://www.ema.europa.eu/en/medicines/human/EPAR/kymriah>.
6. Food and Drug Administration. Pediatric Drug Development Under the Pediatric Research Equity Act and the Best Pharmaceuticals for Children Act: Scientific Considerations. May 2023. (Consultado el 6-11-2023.) Disponible en: <https://www.fda.gov/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/pediatric-drug-development-under-pediatric-research-equity-act-and-best-pharmaceuticals-children-act>.
7. European Medicines Agency. Human regulatory. Paediatric investigation plans. (Consultado el 6-11-2023.) Disponible en: <https://www.ema.europa.eu/en/human-regulatory/research-development/paediatric-medicines/paediatric-investigation-plans>.
8. 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. *N Engl J Med.* 2018;378:439-48.
9. Qasim W, Zhan H, Samarasinghe S, Adams S, Amrolia P, Stafford S, et al. Molecular remission of infant B-ALL after infusion of universal TALEN gene-edited CAR T cells. *Sci Transl Med.* 2017; 9:eaaj2013. [Published correction appears in *Sci Transl Med.* 2017;9:aam9292.]
10. Ortiz-Maldonado V, Rives S, Castellà M, Alonso-Saladrigues A, Benítez-Ribas D, Caballero-Baños M, et al. CART19-BE-01: a multicenter trial of ARI-0001 cell therapy in patients with CD19+ relapsed/refractory malignancies. *Mol Ther.* 2021;29:636-44.
11. Del Bufalo F, De Angelis B, Caruana I, Del Baldo G, De Ioris MA, Serra A, et al. GD2-CART01 for relapsed or refractory high-risk neuroblastoma. *N Engl J Med.* 2023;388:1284-95.
12. Majzner RG, Ramakrishna S, Yeom KW, Patel S, Chinnasamy H, Schultz LM, et al. GD2-CAR T cell therapy for H3K27M-mutated diffuse midline gliomas. *Nature.* 2022;603:934-41.
13. European Medicines Agency. Human regulatory. PRIME: priority medicines. (Consultado el 6-11-2023.) Disponible en: <https://www.ema.europa.eu/en/human-regulatory/research-development/prime-priority-medicines>.

# Instalaciones para inmunoterapia celular: diseño, función y gestión

Esteve Trias<sup>1,2</sup>, Cristina Bernadó Morales<sup>1</sup> y Alan Muñoz<sup>1</sup>

<sup>1</sup>LEITAT Medical, Centro Tecnológico LEITAT, Barcelona

<sup>2</sup>Unidad de Terapias Avanzadas, Hospital Clínic de Barcelona, Barcelona

## Resumen

Los medicamentos de terapia avanzada (ATMP, *advanced therapy medicinal product*) se basan en genes, tejidos o células, y su fabricación debe ajustarse a los principios de las Normas de Correcta Fabricación (GMP, *Good Manufacturing Practices*) establecidas en la regulación europea. Esta normativa recoge las directrices para garantizar la calidad y la seguridad de los productos, y establece, entre otras cuestiones, que se debe contar con todos los recursos necesarios, incluyendo las infraestructuras adecuadas. Las instalaciones para la fabricación de medicamentos, incluidos los ATMP, se denominan «salas blancas» y deben cumplir con estrictos requerimientos de concentración de partículas y contaminación cercanos a cero en las zonas más críticas. En el diseño de las salas blancas se debe tener en cuenta principalmente la función que tendrán, y por lo tanto el producto y los procesos que se llevarán a cabo. El contexto de producción, si es en un ensayo clínico o un producto consolidado, también podrá definir si se puede producir en un entorno académico o si es necesario un escalado industrial en un entorno farmacéutico. Partiendo de que la base determinante para el diseño será la función, se debe considerar también la gestión para definir el modelo de funcionamiento que permita que la instalación sea eficiente y sostenible desde el punto de vista económico y operativo. En definitiva, una visión integral que tenga en cuenta una gestión eficiente y una planificación óptima basada en los recursos disponibles y en el análisis de riesgos será clave para la sostenibilidad y el buen funcionamiento de una instalación para la fabricación de ATMP.

**Palabras clave:** medicamentos de terapia avanzada, normas de correcta fabricación, salas blancas.

## Productos de terapia avanzada y normativa aplicable

Los medicamentos de terapia avanzada (ATMP, *advanced therapy medicinal product*) incluyen productos de terapia génica, terapia celular somática e ingeniería de tejidos. Además, se consideran ATMP combinados aquellos ATMP que contengan dispositivos médicos<sup>1,2</sup>.

El marco legal para la regulación de los ATMP se establece en el Reglamento (EC) No. 1394/2007 de productos medicinales de terapia avanzada<sup>1</sup>. El punto de partida de estos productos es la donación de sustancias de origen humano y, por lo tanto, aplica además la legislación relacionada. Esta incluye la Directiva Europea de Tejidos y Células, Directiva 2004/23/EC, que entre otros aspectos regula los estándares para la donación, la obtención, el procesado, la preservación, el almacenaje y la distribución de tejidos y células de origen humano<sup>3</sup>, y la Directiva 2002/98/EC que establece los estándares de calidad y seguridad para la recogida, el ensayo, el procesado, el almacenaje y la distribución de sangre y componentes

sanguíneos de origen humano<sup>4</sup>. Los ATMP que contengan organismos modificados genéticamente deben cumplir, además, con la legislación que regula la liberación de estos al medio ambiente<sup>5-9</sup>.

Al ser considerados medicamentos, la fabricación de ATMP debe ajustarse a los principios de las Normas de Correcta Fabricación (GMP, *Good Manufacturing Practices*) establecidas en la Directiva 2003/94/CE de la Comisión, por la que se establecen los principios y directrices de las GMP de los medicamentos de uso humano y de los medicamentos en investigación de uso humano<sup>10</sup>, además de las directrices publicadas en la parte IV del volumen 4 de EudraLex ([https://health.ec.europa.eu/medicinal-products/eudralex/eudralex-volume-4\\_en](https://health.ec.europa.eu/medicinal-products/eudralex/eudralex-volume-4_en)) sobre los requerimientos específicos de GMP para medicamentos de terapia avanzada<sup>11</sup>, que reflejan la naturaleza particular de su proceso de fabricación.

El cumplimiento de las GMP es obligatorio para todos los medicamentos que han obtenido una

autorización de comercialización, así como para los que están en investigación clínica. Del mismo modo, aplica a los ATMP administrados en virtud del artículo 3(7) de la Directiva 2001/83/CE referente a la denominada exención hospitalaria, que queda limitada al Estado miembro donde se ha desarrollado el producto<sup>2</sup>.

Las normas de autorización por exención hospitalaria no están armonizadas entre los Estados miembros y dependen de la legislación nacional específica, que en el caso de España se incluye en el Real Decreto 477/2014 por el que se regula la autorización de medicamentos de terapia avanzada de fabricación no industrial<sup>12</sup>. Este Real Decreto es de aplicación a los ATMP de uso humano que son preparados ocasionalmente, de acuerdo con normas de calidad específicas, y empleados en España, en una institución hospitalaria y bajo la responsabilidad profesional exclusiva de un médico colegiado, con el fin de cumplir una prescripción facultativa individual de un producto hecho a medida destinado a un solo paciente, ya sean medicamentos en fase de

investigación clínica o medicamentos que la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios considere que satisfacen las garantías de calidad, seguridad, eficacia, identificación e información.

#### **Principios básicos de las normas de correcta fabricación**

Las GMP describen los estándares mínimos que un fabricante de medicamentos debe cumplir en el proceso de producción para garantizar la calidad y la seguridad de los productos elaborados, y se fundamentan en el control de cuatro pilares principales: la instalación, los equipos, el personal y los procesos. Por lo tanto, para la correcta elaboración de los medicamentos se exige contar con los recursos necesarios y adecuados, como son las instalaciones, en este caso denominadas «salas blancas», con espacios adecuados y con un correcto mantenimiento, los equipos apropiados, el personal cualificado y los procedimientos normalizados aprobados. Todo ello, bajo un paraguas de garantía de calidad

sustentado por procesos de control, mantenimiento, formación y mejora continua<sup>10</sup>.

En el caso de los ATMP, la aplicación de la normativa debe basarse en el análisis de riesgos. Los ATMP son productos complejos y, por lo tanto, los riesgos asociados tanto a ellos como a los procesos varían según el tipo de producto, los materiales de partida o el nivel de complejidad del proceso de producción. En este sentido, será necesario realizar un análisis de riesgos que permita diseñar las medidas de organización, técnicas y estructurales para cumplir con las GMP, y con ello asegurar la calidad, de acuerdo con los riesgos específicos asociados al producto y al proceso de producción. La aproximación basada en el riesgo proporciona flexibilidad, pero también implica que el fabricante es responsable de aplicar las medidas de control y mitigación necesarias para abordar los riesgos específicos del producto y del proceso productivo<sup>11</sup>.

La aplicación de estas normas permitirá que los medicamentos sean consistentes y de alta calidad, apropiados para su determinado uso y que cumplan con los

requerimientos de la autorización de mercado o de ensayo clínico. En Europa, son las autoridades competentes de cada Estado miembro las que deben emitir la autorización de fabricación GMP al laboratorio farmacéutico fabricante, o a la instalación académica vinculada al Sistema Nacional de Salud que elabora un producto en el contexto de un ensayo clínico o de la exención hospitalaria.

La planificación de las instalaciones de las salas blancas empieza por el diseño, que debe basarse principalmente en la función y, por lo tanto, en los procesos que en ellas se llevarán a cabo. Debemos tener en cuenta que la autorización GMP de una instalación va asociada a los procesos de fabricación y, por lo tanto, el diseño para el cumplimiento de los requerimientos técnicos establecidos en la normativa estará relacionado con el tipo de proceso que se va a realizar. En la implementación se deberán considerar, pues, los requerimientos técnicos de la instalación y los equipos, y su mantenimiento, el personal necesario, los procesos y los flujos de trabajo. Por otro lado, la gestión será determinante

para que la instalación sea sostenible desde un punto de vista económico y operativo.

### **Planificación y diseño de las instalaciones de salas blancas**

El diseño y la construcción de las salas blancas son decisivos y deben cumplir con los criterios establecidos por la regulación aplicable a este tipo de instalaciones y al uso que van a tener.

Conceptualmente, una sala blanca es un área controlada que debe cumplir con unos niveles de concentración de partículas y contaminación muy bajos, cercanos a cero. En consecuencia, debe ser diseñada de modo que el número de partículas que puedan entrar o ser generadas sea lo más bajo posible.

Por este motivo, una sala blanca mantiene unos parámetros de presión constantes y estables, además de tener una aportación de aire filtrado con un sistema de renovación adecuado, y de mantenerse con un estándar de limpieza apropiado.

El uso de las salas, en referencia a los procesos que se vayan a realizar en ellas, será determinante porque

distintos procesos conllevan distintas necesidades que impactan en el diseño de las instalaciones. En este sentido, antes de construir una sala blanca es importante conocer bien las necesidades para los productos que van a ser procesados y producidos, así como las cantidades y los métodos que se van a utilizar. Se deben considerar también la cantidad de personal que estará implicado en el proceso, los equipos necesarios, los servicios, la gestión de residuos, la limpieza, el mantenimiento de las instalaciones y los equipos, así como el sistema de gestión documental. Teniendo todo esto en cuenta, el diseño de las instalaciones de una sala blanca debe ser bien planificado desde el inicio.

Uno de los parámetros que deben considerarse en detalle es el tamaño, pues no solo la construcción, sino también el correcto mantenimiento de una sala blanca, conllevan un elevado coste. Por lo tanto, el principio básico debe ser planificar bien todo lo necesario, pero preferiblemente en el mínimo espacio posible para evitar costes innecesarios.

Podemos considerar que una buena planificación para la construcción de una sala blanca empieza por la recogida de las especificaciones del usuario, seguida del diseño conceptual en el que se plasma una primera versión del conjunto sobre la planta del espacio físico. En segundo lugar, las fases de desarrollo, implementación, planificación y adquisición de equipos, siguiendo los requerimientos marcados por la regulación y el proceso de calificación. Primero se debe hacer una calificación del diseño con el proyecto de ingeniería, en el que se debe demostrar y documentar que el diseño cumple con las GMP. Seguidamente, tanto la instalación como los equipos deben pasar por los procesos de calificación de instalación, operación y rendimiento<sup>11</sup>.

En el diseño deberemos tener en cuenta que, para mantener las instalaciones en un entorno controlado y limpio, es necesario disponer de una entrada para personal a través de unos vestuarios que actúen como esclusas de aire, y otra entrada para material y equipos. Los controles y el seguimiento deben estar objetivamente justificados

y documentados, y también se debe evaluar eficazmente el estado de las condiciones ambientales de las salas blancas, las esclusas de aire y las escotillas de paso.

El diseño debe tener en cuenta que las diversas operaciones de preparación de componentes y de preparación y llenado de productos deben llevarse a cabo con medidas de separación técnicas y operativas apropiadas dentro de la sala blanca o de la instalación para evitar confusiones y contaminación.

Las distintas áreas o zonas se clasifican, según el Anexo I de las GMP, en cuatro clases (A, B, C, D)<sup>13</sup>, o según la UNE-EN ISO 14.644-1 en nueve clases (ISO 1-9), donde se definen los valores límite máximos de concentración de partículas y contaminación permitidos, y que son requeridas según el tipo de proceso que se vaya a llevar a cabo (Tablas 1 y 2)<sup>11,13</sup>. Cabe remarcar que se consideran salas blancas no solo las salas de operación, sino también todas las áreas clasificadas.

También debemos tener presente que una instalación de terapias avanzadas



**Tabla 1.** Concentración máxima de partículas totales permitidas para clasificación y ejemplos de uso<sup>11,13</sup>.

	En reposo		En proceso		Monitorización de partículas	Ejemplos de procesos
	Máximo partículas >0,5 µm/m <sup>3</sup>	ISO	Máximo partículas >0,5 µm/m <sup>3</sup>	ISO		
Clase A	3520	5	3520	5	Durante toda la duración del proceso crítico	Preparaciones y llenados asépticos (cabina de flujo laminar)
Clase B	3520	5	352.000	7	Como en A, pero la frecuencia de muestreo puede ser menor	Fondo para zona de grado A
Clase C	352.000	7	3.520.000	8	De acuerdo con los principios del análisis de riesgos	Procesos en sistemas cerrados o preparación de soluciones que posteriormente se filtrarán
Clase D	3.520.000	8	ND	ND	De acuerdo con los principios del análisis de riesgos	Zona más sucia de la instalación GMP. Manejo de material tras su lavado y desinfección

GMP: *Good Manufacturing Practices*; ND: no definido.

**Tabla 2.** Niveles máximos permitidos de contaminación microbiana durante la calificación<sup>11,13</sup>.

	UFC de muestra de aire/m <sup>3</sup>	Placas de sedimentación (diámetro 90 mm) UFC/4 h*	Placas de contacto (diámetro 55 mm) UFC/placa
Clase A	Sin crecimiento		
Clase B	10	5	5
Clase C	100	50	25
Clase D	200	100	50

UFC: unidades formadoras de colonias.

\*Las placas de sedimentación deben exponerse durante la duración de las operaciones y cambiarse según sea necesario después de un máximo de 4 horas. El tiempo de exposición debe basarse en estudios de recuperación y no debe permitir la desecación de los medios utilizados.

es un espacio funcional global que incluye zonas clasificadas y no clasificadas, que igualmente deberán considerarse en el diseño. Un error común es proyectar solo las salas blancas e infravalorar la necesidad de los espacios auxiliares que son muy importantes para el correcto funcionamiento de la instalación. Los espacios auxiliares deben ser diseñados para garantizar los correctos flujos de trabajo y, en definitiva, la calidad y la seguridad del proceso. Estos incluyen, por ejemplo, espacios para la recepción de material, el almacenaje (cuarentena, liberado y rechazado), el acondicionamiento o la preparación, y la realización de ensayos de control de calidad, así como zonas técnicas, áreas de descanso, vestuarios, servicios y áreas de oficina para registros, documentación y almacenaje de esta.

**Función e implementación de salas blancas**

La función, en referencia a los productos y los procesos que se vayan a realizar, determinará en primera instancia el requerimiento de

clasificación de las zonas de trabajo. Así, las zonas de grado A son zonas críticas para operaciones de alto riesgo (procesos en abierto) que normalmente se llevan a cabo en áreas localizadas con protección por flujo de aire, como las cabinas de flujo laminar y los aisladores, porque una sala de clase A tiene un coste de explotación muy elevado y debe limitarse lo máximo posible. Las zonas de grado B son el fondo requerido para el grado A abierto, como serían las cabinas de flujo laminar. Las zonas de los grados C y D se utilizan para los procesos menos críticos, como por ejemplo de fondo para procesos en sistemas cerrados (p. ej., biorreactores cerrados) o aisladores, para los cuales un fondo de grado D puede ser aceptable<sup>11</sup>. Otro ejemplo es la preparación de soluciones que posteriormente se vayan a filtrar o esterilizar, que puede realizarse en una zona de grado C<sup>11,13</sup>. Los diferentes grados se definen según los límites permitidos de número y tamaño de partículas, así como según los límites de contaminación microbiológica en reposo y en operación (Tablas 1 y 2)<sup>11,13</sup>.

De manera general, los elementos de diseño y construcción que hay que tener en cuenta para alcanzar estos requerimientos son, por un lado, la incorporación de sistemas de esclusas de seguridad que proporcionen separación física y minimicen la contaminación de partículas y microbiana de las diferentes áreas, que deben estar presentes para el material y el personal que se mueve de un grado a otro. Para circular entre diferentes clases se exige una vestimenta específica, que se debe retirar o cambiar al realizar un cambio de clase para evitar o reducir la contaminación entre clases.

Por otro lado, las salas blancas deben estar provistas de un sistema de suministro de aire filtrado que mantenga una presión positiva o un flujo de aire positivo en relación con las salas colindantes de grado inferior, además de renovar el aire del área de manera efectiva. Es decir, el escalado de presiones debe ir de menor a mayor según la clase (D, C, B, A). Es posible que deban modificarse las recomendaciones relativas tanto a la aportación como a las presiones del aire cuando sea necesario realizar también una función de

contención de determinados materiales (p. ej., productos patógenos, altamente tóxicos o radiactivos, o materia viva viral o bacteriana). La modificación puede incluir esclusas de aire con presión positiva o negativa, que evitan que el material peligroso contamine las áreas circundantes.

Los materiales utilizados en las salas blancas, tanto en la construcción de la sala como para los artículos utilizados dentro de ella, deben seleccionarse para minimizar la generación de partículas y permitir la aplicación repetida de agentes de limpieza, desinfectantes y esporicidas.

Otro de los puntos críticos en la implementación es el personal que operará en las instalaciones. Se debe asegurar que haya suficiente personal, debidamente cualificado, formado y experimentado en la fabricación y ensayo de productos estériles, y en todas las tecnologías de fabricación específicas requeridas en el proceso. Todos los operadores deben pasar por una cualificación inicial y la simulación de un proceso aséptico, con el fin de no comprometer la garantía de esterilidad. Además, todo el personal, incluido el de

limpieza, mantenimiento, supervisión y cualquier otro que acceda a las salas blancas, debe recibir capacitación periódica y cualificación de vestimenta.

La aplicación de las GMP no se reduce solo al diseño de la instalación basado en la clasificación y el cumplimiento de los requisitos técnicos, sino que también deben cumplirse en los procesos y los flujos de trabajo que incluyen la segregación de los distintos estados del producto teniendo en cuenta los periodos de cuarentena y producción, tanto de producto intermedio como de producto final. En este sentido, el buen diseño de los procesos y flujos es uno de los retos en las instalaciones dedicadas a la elaboración de diferentes productos. En estas instalaciones multiproducto es de especial relevancia, además del diseño de acuerdo con las funciones, una buena gestión basada en el análisis de riesgos y focalizada en optimizar la sostenibilidad.

#### **Gestión de una sala blanca**

El diseño de la instalación es un punto crítico; lo podemos ver como la base sobre la cual construir, pero también

debemos considerar la gestión como determinante para que una instalación sea funcional y sostenible desde el punto de vista económico y operativo. Unas instalaciones bien diseñadas facilitan la gestión y la operación; por el contrario, una mala gestión puede invalidar la instalación por muy bien diseñada que esté.

En los costes asociados a la instalación, el de construcción es el más sencillo de asignar y repercutir por amortizaciones, y a menudo se tiende a minimizar la importancia de otros costes recurrentes, como el de mantenimiento de los sistemas de calidad, validación y calificación de los procesos, el coste del mínimo personal necesario para garantizar el sistema más allá del personal del proceso, o el coste de los mantenimientos o de las actividades de soporte, como la limpieza.

Teniendo esto en cuenta, la primera pregunta es para qué se va a utilizar la instalación, a la que idealmente deberíamos responder teniendo en cuenta una planificación con visión de función inmediata, pero también a largo plazo. Así, deberemos considerar el tipo y el número de productos distintos que

se van a fabricar, así como la fase en la que se encuentran y a la que queremos llegar (ensayo clínico, uso compasivo, autorización de mercado), además del alcance de distribución (local, nacional o internacional). Por ejemplo, en caso de tener un producto consolidado con alta previsión de demanda, será de especial relevancia diseñar y dimensionar adecuadamente la capacidad productiva. Por otro lado, para productos en ensayo clínico deberemos asegurarnos de que la instalación sea lo suficientemente flexible y que los procedimientos de trabajo garanticen la seguridad y minimicen los riesgos para elaborar productos distintos. En este caso, la multifuncionalidad de las instalaciones y un modelo de uso continuado permitirían un mejor balance coste-beneficio.

En cualquier caso, un buen modelo de gestión de los recursos disponibles y un buen análisis de los riesgos son imprescindibles para una correcta planificación global del plan de sostenibilidad de la instalación.

Además, específicamente en la producción de ATMP, se deberán tener en cuenta parámetros adicionales, como

por ejemplo el tipo según el origen y el uso, ya que impactarán en la gestión de la instalación. Por ejemplo, los productos autólogos son dependientes del material biológico de los pacientes a tratar, y por lo tanto la planificación es más probable que sea alterada de manera imprevisible, mientras que para los productos alogénicos, que pueden fabricarse con planificación sin alteraciones, el modelo de gestión será más estandarizado y eficiente.

### Conclusiones

No hay duda de que la función es el punto de partida para el diseño de la instalación, pero la gestión será determinante para asegurar un funcionamiento que permita que la instalación sea funcional, eficiente y sostenible. Por lo tanto, en la evaluación inicial de la instalación será de especial relevancia realizar un plan de explotación y sostenibilidad que tenga en cuenta el balance entre el coste y los resultados.

Los modelos de gestión de salas blancas multifuncionales con aprovechamiento máximo de los tiempos de utilización deberán ser

contrastados con el diseño y la función basándose en un análisis de riesgos. Para la fabricación de productos distintos, una posibilidad para optimizar el uso de salas evitando contaminaciones cruzadas es la implementación de producciones por campañas separadas por procesos de desinfección y limpieza profundas.

Del mismo modo, la optimización del personal con conocimiento de varios procesos podría contraponerse a la idoneidad de disponer de personal dedicado, altamente especializado y

cualificado. En este punto, el equilibrio puede estar en disponer de personal altamente especializado que actúe como responsable líder de un proceso determinado, y personal de soporte multifuncional que actúe siempre bajo supervisión.

En definitiva, una gestión eficiente de la ocupación de las salas y la dedicación del personal mediante una planificación óptima basada en los recursos disponibles y el análisis de riesgos serán las claves para la sostenibilidad de la instalación.

### Bibliografía

1. Regulation (EC) No 1394/2007 of the European Parliament and of the Council of 13 November 2007 on advanced therapy medicinal products and amending Directive 2001/83/EC and Regulation (EC) No 726/2004 (Text with EEA relevance). p. OJ L 324, 10/12/2007. p. 121-37.
2. Directive 2001/83/EC of the European Parliament and of the Council of 6 November 2001 on the Community code relating to medicinal products for human use. p. OJ L 311, 28/11/2001. p. 67-128.
3. Directive 2004/23/EC of the European Parliament and of the Council of 31 March 2004 on setting standards of quality and safety for the donation, procurement, testing, processing, preservation, storage and distribution of human tissues and cells. p. OJ L 102, 7/4/2004. p. 48-58.

4. Directive 2002/98/EC of the European Parliament and of the Council of 27 January 2003 setting standards of quality and safety for the collection, testing, processing, storage and distribution of human blood and blood components and amending Directive 2001/83/EC. p. OJ L 33, 8/2/2003. p. 30-40.
5. Directive 2001/18/EC of the European Parliament and of the Council of 12 March 2001 on the deliberate release into the environment of genetically modified organisms and repealing Council Directive 90/220/EEC - Commission Declaration. p. OJ L 106, 17/4/2001. p. 1-39.
6. Ley 9/2003, de 25 de abril, por la que se establece el régimen jurídico de la utilización confinada, liberación voluntaria y comercialización de organismos modificados genéticamente. BOE-A-2003-8588. Sec. I. Disposiciones generales p. BOE núm. 100, de 26 de abril de 2003. p. 16214-23.
7. Real Decreto 178/2004, de 30 de enero, por el que se aprueba el Reglamento general para el desarrollo y ejecución de la Ley 9/2003, de 25 de abril, por la que se establece el régimen jurídico de la utilización confinada, liberación voluntaria y comercialización de organismos modificados genéticamente. BOE-A-2004-1850. Sec. I. Disposiciones generales p. BOE núm. 27, de 31 de enero de 2004. p. 4171-216.
8. Real Decreto 364/2017, de 17 de abril, por el que se modifica el Reglamento general para el desarrollo y ejecución de la Ley 9/2003, de 25 de abril, por la que se establece el régimen jurídico de la utilización confinada, liberación voluntaria y comercialización de organismos modificados genéticamente, aprobado mediante Real Decreto 178/2004, de 30 de enero. BOE-A-2017-4242. Sec. I. Disposiciones generales p. BOE núm. 92, de 18 de abril de 2017. p. 30357-9.

9. Real Decreto 452/2019, de 19 de julio, por el que se modifica el Real Decreto 178/2004, de 30 de enero, por el que se aprueba el Reglamento general para el desarrollo y ejecución de la Ley 9/2003, de 25 de abril, por la que se establece el régimen jurídico de la utilización confinada, liberación voluntaria y comercialización de organismos modificados genéticamente, y el Real Decreto 511/2017, de 22 de mayo, por el que se desarrolla la aplicación en España de la normativa de la Unión Europea en relación con el programa escolar de consumo de frutas, hortalizas y leche. BOE-A-2019-10757. Sec. I. Disposiciones generales p. BOE núm. 175, de 23 de julio de 2019. p. 79365-89.
10. Commission Directive 2003/94/EC of 8 October 2003 laying down the principles and guidelines of good manufacturing practice in respect of medicinal products for human use and investigational medicinal products for human use (Text with EEA relevance). p. OJ L 262, 14/10/2003. p. 22-6.
11. European Commission. Guidelines on Good Manufacturing Practice for Advanced Therapy Medicinal Products. nov 22, 2017 p. C(2017) 7694 final.
12. Real Decreto 477/2014, de 13 de junio, por el que se regula la autorización de medicamentos de terapia avanzada de fabricación no industrial. BOE-A-2014-6277. Sec. I. Disposiciones generales p. BOE núm. 144, de 14 de junio de 2014. p. 45068-78.
13. European Commission. EU Guidelines for Good Manufacturing Practice for Medicinal Products for Human and Veterinary Use. Annex 1. Manufacture of sterile products. Sec. The Rules Governing Medicinal Products in the European Union. Volume 4. ago 22, 2022 p. C(2022) 5938 final.

# Fases del ciclo de vida de un medicamento de terapia avanzada y tipos de autorización regulatoria

Eulàlia Olesti<sup>1,2</sup>, Sara Varea<sup>1,2</sup> y Gonzalo Calvo<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Servicio de Farmacología Clínica, Área del Medicamento, Hospital Clínic de Barcelona, Barcelona

<sup>2</sup>Grupo de Investigación Transversal en Farmacología Clínica, Instituto de Investigaciones Biomédicas August Pi i Sunyer, Barcelona

## Resumen

En 2007, la Comisión Europea estableció que las terapias avanzadas (productos celulares, ingeniería de tejidos y terapia génica) debían ser consideradas medicamentos y, por lo tanto, cumplir con los estándares regulatorios europeos. Así, para poder tratar pacientes con este tipo de terapias se deben seguir las distintas fases del desarrollo de fármacos. La primera fase es la de investigación básica, que incluye el desarrollo del producto, pruebas de fabricación de la terapia y distintos estudios preclínicos que evalúen la eficacia, la toxicidad y la farmacocinética del producto.

Tras una primera evaluación favorable del riesgo-beneficio se puede solicitar el primer ensayo clínico en humanos con el fin de evaluar la seguridad del producto. Posteriormente, si los resultados son los esperados, se pueden realizar más estudios para evaluar la eficacia del tratamiento y confirmar la indicación clínica. Si la relación riesgo-beneficio es favorable, se puede solicitar la autorización para la comercialización del producto mediante el procedimiento centralizado en la Agencia Europea de Medicamentos. Existen diferentes tipos de aprobación regulatoria (estándar, condicional o en circunstancias excepcionales) dependiendo de la enfermedad y de los datos disponibles. Tras la autorización, el titular del medicamento debe presentar informes periódicos de seguridad y eficacia, y realizar un extenso seguimiento de los resultados obtenidos del producto en el mercado.

**Palabras clave:** regulación de terapias avanzadas, autorización de comercialización, experimentos preclínicos, fabricación de terapias avanzadas, desarrollo clínico.

## Regulación en terapias avanzadas

En el año 2007, las Instituciones Europeas publicaron un Reglamento (1394/2007) que tuvo una gran trascendencia en el desarrollo de productos celulares y de terapia génica<sup>1</sup>, al establecer que las terapias avanzadas eran «productos medicinales» y por lo tanto debían seguir el mismo camino regulatorio que los fármacos tradicionales de síntesis química y los biológicos (como los anticuerpos monoclonales o las insulinas). Así, el desarrollo de productos celulares, de ingeniería de tejidos y las terapias génicas deben cumplir con los estándares regulatorios y las normativas de buenas prácticas establecidas (ya sea durante la fabricación del producto bajo las *Good Manufacturing Practices* o bien durante los ensayos clínicos bajo las *Good Clinical Practices*)<sup>2</sup>.

El término «terapias avanzadas» incluye muchos tipos de productos medicinales, tanto puramente celulares (p.ej., los TIL [linfocitos infiltrantes de tumores]) como productos celulares modificados genéticamente (p. ej., la terapia celular CAR [receptor de antígeno quimérico]) y terapias

puramente genéticas (p. ej., vectores virales como los adenoasociados o los lentivirus). En el Reglamento de 2007 se oficializó el Comité de Terapias Avanzadas de la Agencia Europea de Medicamentos (EMA) con el fin de dar soporte a la evaluación de medicamentos de terapia avanzada en Europa. Una de las tareas de este comité es proporcionar recomendaciones científicas para una correcta clasificación regulatoria del tipo de producto de terapia avanzada<sup>3</sup>.

De esta manera, desde el año 2007, las nuevas terapias celulares, génicas y de tejidos deben seguir las distintas fases del desarrollo farmacéutico para un producto medicinal, según la clasificación regulatoria correspondiente. Las fases del ciclo de vida de un medicamento de terapia avanzada se muestran en la figura 1 y se exponen a continuación.

## Fase de investigación preclínica y de calidad

### Desarrollo preclínico

El ciclo de vida de un medicamento empieza con un primer periodo de

**Figura 1.** Descripción general del ciclo de vida de un medicamento de terapia avanzada. (Adaptada del proyecto STARS Pilot III Regulatory Support<sup>4</sup>.)



investigación básica y desarrollo preclínico del producto medicinal. En este momento del desarrollo, los investigadores, a partir de una hipótesis clínica, diseñan el producto y realizan los experimentos que permitan evaluar su actividad biológica, su potencial eficacia terapéutica, sus características farmacocinéticas y la detección de señales de seguridad y toxicidad. Esta fase del desarrollo puede incluir ensayos en células o tejidos (p. ej., el uso de líneas celulares que expresen antígenos tumorales para evaluar la citotoxicidad del producto), ensayos con organismos vivos (p. ej., con ratones que modelen la condición a tratar para evaluar el efecto del producto) o ensayos de modelización computacional (pueden simular o predecir potenciales efectos tóxicos del fármaco evaluado)<sup>5</sup>.

Los resultados preclínicos obtenidos en el laboratorio van a definir los siguientes pasos del desarrollo. En aquellos casos en que los experimentos no obtienen datos beneficiosos es recomendable parar el desarrollo y continuar con la búsqueda de otros productos con perspectivas más favorables.

#### **Fabricación de productos de terapia avanzada**

Para continuar con el desarrollo de un producto de terapia avanzada es crucial evaluar la calidad del proceso de fabricación. Así, los medicamentos de terapia avanzada deberán ser producidos bajo normas de correcta fabricación, en salas acreditadas. Antes de la primera administración en humanos, los investigadores deberán realizar distintos experimentos para caracterizar el producto y optimizar su fabricación. Además, deben establecer las especificaciones y los criterios de aceptación que evaluarán para cada lote de producto que se quiera administrar a los pacientes. Habitualmente, las especificaciones deben incluir datos de potencia, de seguridad, de ausencia de impurezas, de características fisicoquímicas y de identidad y fenotipo (en caso de productos celulares). Estas especificaciones deben garantizar la robustez del método de fabricación y la calidad del producto en las distintas fases de producción. En este momento del desarrollo

también se deben presentar estudios de estabilidad del producto, descripciones de los métodos analíticos utilizados, etc.<sup>6</sup>.

Las instituciones académicas están desempeñando un papel fundamental en la fabricación de nuevos productos de terapia avanzada<sup>7</sup>. Para distintos tipos de productos autólogos (como las terapias CAR o los TIL), algunos centros académicos europeos están acreditando salas de fabricación bajo las normas de correcta fabricación con el fin de poder ofrecer a sus pacientes nuevos productos de terapia avanzada. La academia, al igual que la industria, debe proporcionar datos a las agencias reguladoras para acreditar el uso de un producto medicinal bajo unos estrictos estándares de calidad.

#### **Solicitud del primer ensayo clínico**

Una vez realizados los experimentos preclínicos y tras una evaluación de la fabricación y la calidad del producto de terapia avanzada, los investigadores pueden plantearse pasar a la siguiente fase del desarrollo: la solicitud de autorización del primer ensayo clínico. Para ello, los datos de los experimentos

preclínicos deben ser favorables y la fabricación del producto factible y consistentemente acreditada.

Para solicitar la autorización de un primer ensayo clínico en humanos se debe presentar un paquete de información que incluye el protocolo clínico, donde se describen los objetivos, el diseño, la metodología, las consideraciones estadísticas y la organización del ensayo clínico. También se debe presentar la hoja de información al paciente, que le debe trasladar de manera comprensible y antes de iniciar su participación la voluntariedad de esta, qué objetivos tiene el ensayo, los posibles riesgos, en qué consiste su participación, el tratamiento de sus datos, etc.

Uno de los documentos principales de la solicitud de autorización de ensayo clínico es el IMPD (*Investigational Medicinal Product Dossier*). Este documento contiene la información preclínica y de calidad acumulada durante la fase de investigación básica y debe hacer un primer ejercicio de evaluación del riesgo-beneficio<sup>8</sup>. Antes de la primera administración en humanos, las potenciales ventajas del

medicamento suelen ser teóricas y, por lo tanto, con el ensayo se pretende comprobar una hipótesis (científicamente justificada) en una indicación en concreto y contextualizada con las distintas alternativas terapéuticas. En cuanto a la evaluación de los riesgos, estos pueden identificarse durante el desarrollo preclínico del producto, y hay otros que se pueden deducir del mecanismo de acción del fármaco y de su aparición con productos similares. La monitorización y la vigilancia de los riesgos debe ser constante a lo largo del desarrollo, e integral, para poder asesorar sobre el potencial riesgo-beneficio del producto antes de su administración en humanos.

Toda esta documentación (juntamente con otra de índole administrativa y local) debe ser enviada tanto a la agencia reguladora correspondiente como a un comité de ética e investigación con medicamentos para su evaluación. En enero de 2023 entró en vigor en Europa un nuevo canal de solicitudes de ensayos clínicos (CTIS, *Clinical Trial Information System*) con el fin de homogeneizar y estandarizar la evaluación de los ensayos clínicos en los

distintos Estados miembros. Este sistema centraliza la evaluación y permite que las distintas agencias reguladoras de los Estados miembros tengan acceso y puedan valorar la documentación regulatoria enviada por el solicitante<sup>9</sup>.

#### **Fase de investigación clínica**

Una vez aprobada la documentación para el primer ensayo clínico empieza el desarrollo del producto en pacientes. Hoy en día, las terapias avanzadas suelen ser desarrolladas para pacientes oncológicos (sobre todo con enfermedades hematooncológicas graves) que han recaído o no han respondido a tratamientos anteriores y se encuentran en una fase de la enfermedad muy avanzada o terminal. Para este tipo de indicaciones, el estudio clínico de primera administración ya se suele realizar en pacientes y no en voluntarios sanos. Este primer estudio debe ser exploratorio y las variables clínicas principales deben evaluar la seguridad y el manejo del tratamiento. En aquellos casos en que la terapia tenga resultados favorables de seguridad se puede continuar el desarrollo con otros

estudios clínicos que evalúen la eficacia del producto, ya con una dosis y una indicación claras. Es importante que la población de estudio sea representativa de la población a tratar y que las variables clínicas reflejen el potencial beneficio real para los pacientes.

Finalmente, la realización de estudios confirmatorios con pacientes de distintos hospitales (y hasta en diferentes países) es clave para poder tener los datos adecuados para establecer el balance riesgo-beneficio y, si se obtienen resultados favorables, plantearse la solicitud de autorización de comercialización.

### Autorización regulatoria

En caso de que durante el desarrollo clínico el producto de terapia avanzada obtenga resultados favorables y realmente suponga un beneficio para los pacientes, el siguiente paso regulatorio es la solicitud de autorización para la comercialización del medicamento. Para los medicamentos de terapia avanzada, al igual que para otros, como los oncológicos o los medicamentos huérfanos, los solicitantes deben pedir

el procedimiento centralizado en la EMA<sup>10</sup>. Dentro de este procedimiento centralizado de la EMA hay distintos tipos de aprobación regulatoria, que dependen de la enfermedad a tratar y de los datos disponibles (Fig. 2). A continuación, se describen los distintos tipos de aprobaciones posibles.

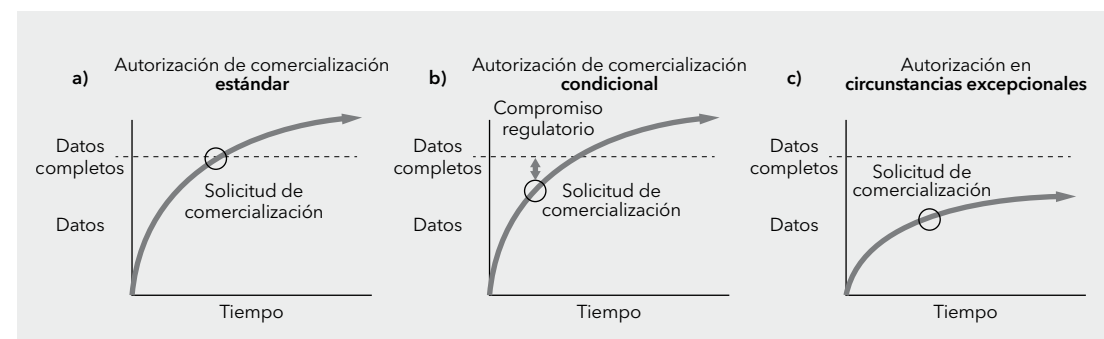
### Aprobación estándar

Se deben presentar todos los datos disponibles en el dossier de autorización de uso para su evaluación. La aprobación no caduca y la EMA requiere compromisos de farmacovigilancia tras la aprobación.

### Aprobación condicional

Incluye aquellos casos en que el investigador presenta datos de un producto muy prometedor y con una indicación con una alta necesidad médica no cubierta. Se pueden aportar datos inmaduros, pero con el compromiso de presentar el paquete de datos completo en un tiempo determinado. Así, el titular del medicamento se debe comprometer a seguir realizando estudios para obtener más información sobre el producto y demostrar su beneficio terapéutico.

Figura 2. Tipos de autorización de comercialización para los medicamentos que siguen un procedimiento centralizado en la EMA.



La aprobación es para 1 año renovable y suele ir dirigida a medicamentos huérfanos o para enfermedades muy graves sin alternativas terapéuticas.

### Circunstancias excepcionales

Es un escenario donde la indicación clínica suele ser para enfermedades raras o muy raras. El solicitante no puede obtener la cantidad de pacientes que se reclutan en los ensayos clínicos con enfermedades más prevalentes. Así, este tipo de aprobación pretende no dejar sin posibilidades terapéuticas a aquella población de estudio escasa en prevalencia. Este tipo de autorización se debe renovar cada 5 años.

### Fase de posautorización

Una vez que el producto ha sido evaluado por la agencia reguladora y ha demostrado un balance riesgo-beneficio positivo, recibe la autorización de comercialización. Tras esta autorización, el titular tiene la obligación de presentar a la agencia reguladora informes que recojan datos de seguridad y eficacia del producto en su uso en la práctica clínica. Los informes de seguridad y eficacia se actualizan periódicamente, de manera que las agencias siguen evaluando el riesgo-beneficio tras la autorización mientras el medicamento siga en el mercado<sup>11</sup>.



## Bibliografía

1. Official Journal of the European Union. Regulation (EC) No. 1394/2007 of the European Parliament and of the council on advanced therapy medicinal products and amending Directive 2001/83/EC and Regulation (EC) No. 726/2004. Vol. 324, 13 November 2007. 2007. p. 122. Disponible en: <http://care.diabetesjournals.org/content/28/9/2155.abstract%0Ahttps://doi.org/10.1007/BF02968135>.
2. Guidelines on Good Manufacturing Practice for Advanced Therapy Medicinal Products. Disponible en: [https://health.ec.europa.eu/system/files/2017-04/pharm731\\_2ib\\_atmps\\_guidelines\\_0.pdf](https://health.ec.europa.eu/system/files/2017-04/pharm731_2ib_atmps_guidelines_0.pdf).
3. Barkholt L, Voltz-Girolt C, Raine J, Salmonson T, Schüssler-Lenz M. Regulatory watch: European regulatory experience with advanced therapy medicinal products. *Nat Rev Drug Discov.* 2019; 18:8-9.
4. AEMPS. Pilot III: Regulatory Support to Spanish Academia from STARS Core to Comprehensive Curriculum. 2022. (Consultado el 20-4-2022.) Disponible en: <https://www.csa-stars.eu/Pilot-III-Implementing-the-Comprehensive-Curriculum-1761.html>.
5. Gastelurrutia P, Prat-Vidal C, Vives J, Coll R, Bayes-Genís A, Gálvez-Montón C. Transitioning from preclinical evidence to advanced therapy medicinal product: a Spanish experience. *Front Cardiovasc Med.* 2021;8:604434.

6. European Medicines Agency. EMA/CAT/80183/2014 Guideline on the quality, non-clinical and clinical aspects of gene therapy medicinal products. EMA; 2018. Disponible en: [www.ema.europa.eu/contact](http://www.ema.europa.eu/contact).
7. Alliance for Regenerative Medicine. Clinical trials in Europe: recent trends in ATMP development. 2019. Disponible en: [www.alliancerm.org](http://www.alliancerm.org).
8. IMP-Dossier. 2018. European Investigational Medicinal Product Dossiers - IMPD Guidance. Disponible en: [https://www.imp-dossier.eu/imdp\\_guidance/](https://www.imp-dossier.eu/imdp_guidance/).
9. European Medicines Agency. EMA/299895/2021 Clinical Trials Information System (CTIS) - Sponsor Handbook. 2021. Disponible en: [www.ema.europa.eu/contact](http://www.ema.europa.eu/contact).
10. European Medicines Agency. Marketing authorization. (Consultado el 21-7-2023.) Disponible en: <https://www.ema.europa.eu/en/human-regulatory/marketing-authorisation>.
11. European Medicines Agency. EMA/816292/2011 Guideline on good pharmacovigilance practices (GVP). 2013. Disponible en: [www.ema.europa.eu](http://www.ema.europa.eu).

# Sostenibilidad en terapias avanzadas

Vanessa López

Salud por Derecho

La Fundación Salud por Derecho es una organización de derechos humanos que se dedica a la incidencia política en el ámbito del derecho a la salud. La creamos un grupo de compañeros que nos conocimos hace casi 20 años en un máster de cooperación para el desarrollo. Fundamos la organización porque estábamos preocupados por la situación del virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) en los países empobrecidos, y ese fue el origen. Teníamos claro que nuestro objetivo era trabajar en incidencia política, hacer campañas y generar cambios estructurales en las políticas públicas para asegurar el acceso a los medicamentos para las personas con VIH y abordar otros problemas de salud. Actualmente seguimos trabajando en este ámbito, centrándonos también en el acceso a la salud de inmigrantes indocumentados, entre otros asuntos.

Sin embargo, con el tiempo, nuestro porfolio relacionado con el acceso a los medicamentos (y otras tecnologías sanitarias) ha ido creciendo. Cuando

fundamos la organización, en 2002, este tema se circunscribía principalmente a los países empobrecidos y a ciertas enfermedades, pero a partir de más o menos 2013, cuando surgió el debate sobre el acceso a los medicamentos y el sistema de innovación, en especial en relación con Sovaldi®, el fármaco para la hepatitis C, este problema se volvió relevante en todo el mundo. En consecuencia, nuestro ámbito de trabajo también se expandió considerablemente.

En cuanto a la financiación de nuestra organización, procede de fondos privados, sobre todo de fundaciones internacionales, como la Fundación Bill y Melinda Gates (a través de New Venture Fund), la fundación creada por George Soros, la Open Society Foundation, o la Fundación Elton John, así como de donaciones de particulares.

Desde Salud por Derecho hemos debatido mucho en los últimos años sobre cómo promover las terapias

CAR-T en el ámbito académico. En primer lugar, voy a intentar contextualizar brevemente el problema de la sostenibilidad de las terapias avanzadas en relación con los altos precios; una tendencia que afecta a la mayoría de los fármacos. Además, compartiré algunas ideas para

alimentar el debate sobre posibles modelos y marcos regulatorios que promuevan el desarrollo de terapias avanzadas más sostenibles y que aseguren el acceso de los pacientes.

El tema de la sostenibilidad está estrechamente relacionado con el precio<sup>1</sup> de los tratamientos y los costes

Tabla 1. Algunos medicamentos de alto impacto presupuestario en España (2021).

Medicamento	Marca	Enfermedad	Coste tratamiento
Onasemnógeno Abeparvovec	Zolgensma®	Enfermedad rara. AME	1.941.888 €
Voregtine neparvovec	Luxturna®	Pérdida de visión	688.896 €
Nusinersén	Spinraza®	Enfermedad rara AME	Primer año 419.328 € y los siguientes 269.360 €
Atezolizumab	Tecentriq®	Cáncer	17.273 € a 71.250 €
Dupilumab	Dupixent®	Dermatitis atópica	15.734 €
Atidarsagene Autotemcel (OTL-200)	Libmeldy®	Enfermedad rara. Leucodistrofia metacromática (LMD)	2,5 y 3 millones €
Lanadelumab	Takhzyro®	Angioma hereditario	50

AME: atrofia muscular espinal; LMD: leucodistrofia metacromática.

Fuente: No Es Sano, 2021. Los altos precios de los medicamentos en España.

<sup>1</sup> Los precios de las CAR-T a las que nos referimos son 320.000 € para Kymriah®, 327.000 € para Yescarta® y 90.000 € para ARI-0001.).

de oportunidad asociados. Este no es un problema solo de las terapias avanzadas, sino que se lleva observando desde hace muchos años. En la tabla 1 se muestran algunos ejemplos de fármacos aprobados recientemente, en especial durante la época de la pandemia, que tienen un alto impacto presupuestario. Estos fármacos, en su mayoría destinados a enfermedades raras, pueden llegar a costar 2 o 3 millones de euros por paciente. Incluso para dolencias más comunes, como la dermatitis atópica, hay medicamentos con precios que rondan los 16.000 €, según nuestros análisis que publicamos en un informe en el año 2021<sup>2</sup>.

Entre 2014 y 2020, la factura farmacéutica hospitalaria se incrementó un 53%, lo cual es una tendencia preocupante que compromete al sistema público de salud, que cuenta cada vez con menos recursos.

<sup>2</sup>No Es Sano, 2021. Los altos precios de los medicamentos en España. Disponible en: <https://noessano.org/wp-content/uploads/2023/09/AltosPreciosMedicamentosEspana-InformeNES.pdf>.

<sup>3</sup>Jiménez OD, Bernal Carcelén I. Interés público en la innovación biomédica. 2019. Disponible en: [https://saludporderecho.org/wp-content/uploads/2019/01/Interes\\_Publico\\_Inovacion\\_Biomedica.pdf](https://saludporderecho.org/wp-content/uploads/2019/01/Interes_Publico_Inovacion_Biomedica.pdf).

Obviamente, esto también afecta al acceso a estas terapias y al número de pacientes que pueden recibirlas.

Desconocemos si se está racionando el acceso de los pacientes a las terapias avanzadas de las que estamos hablando, pero antes ya mencioné el caso de Sovaldi®, para el que sí se restringió de manera sistemática el acceso de los pacientes. Por lo tanto, el precio es importante, pero también considero fundamental ponerlo en contexto.

En estas jornadas se ha mencionado que las empresas farmacéuticas apenas reciben dinero de las arcas públicas. Lo cierto es que la industria farmacéutica recibe grandes cantidades de dinero público para todo el proceso de investigación, desde la investigación básica hasta la investigación clínica.

A lo largo de los años, desde Salud por Derecho<sup>3</sup> y también desde No Es Sano,

una campaña que promovemos y en la que participan entidades como la Organización Médica Colegial, la Sociedad Española de Salud Pública y Administración Sanitaria, la Organización de Consumidores y Usuarios, y Médicos del Mundo, hemos elaborado varios informes en los que analizamos la inversión pública en diferentes medicamentos y tecnologías sanitarias.

Hace algunos años publicamos un informe en el que analizábamos la inversión pública<sup>4</sup> en varios fármacos líderes de ventas para el cáncer. Los datos eran bastante llamativos, ya que revelaban una gran inversión pública.

<sup>4</sup>Bernal Carcelén I, Iraizoz E. Medicamentos para el cáncer. Altos precios y desigualdad. 2018. Disponible en: <https://noessano.org/noticias/document/medicamentos-para-el-cancer-altos-precios-y-desigualdad/>.

<sup>5</sup>Salud por Derecho. La inversión pública en la I+D en COVID-19. Recomendaciones para asegurar el acceso universal a las vacunas y a los medicamentos. 2020. Disponible en: <https://saludporderecho.org/wp-content/uploads/2020/04/Informe-Inversion-Publica-Covid19-2.pdf>.

<sup>6</sup>RePORT, Research Portfolio Online Reporting Tool, ofrece acceso a informes, datos y análisis de las actividades de investigación de los NIH, incluida información sobre los gastos de los NIH y los resultados de las investigaciones respaldadas por los NIH (<https://report.nih.gov/>).

<sup>7</sup>CORDIS contiene información sobre todos los proyectos de investigación y desarrollo que la Unión Europea ha financiado dentro de sus programas marco de investigación (<https://cordis.europa.eu/es>).

También hemos realizado un análisis similar en el contexto de la pandemia de COVID-19<sup>5</sup>.

Me gustaría compartir un caso concreto sobre las terapias CAR-T, en las que la tendencia es similar. Los datos que mencionaré son del año 2019, por lo que es importante tener en cuenta que la situación actual puede haber cambiado significativamente. Además, el estudio no está publicado.

Realizamos una investigación utilizando las bases de datos RePORT<sup>6</sup> de los Estados Unidos y CORDIS<sup>7</sup> de la Unión Europea, para identificar todos los proyectos relacionados con CAR-T financiados con dinero público.

La pandemia interrumpió nuestra investigación, por lo que esta instantánea del año 2019 puede cambiar bastante, aunque nos sirve para ver la tendencia.

En los Estados Unidos encontramos alrededor de 920<sup>8</sup> proyectos financiados con dinero público relacionados con CAR-T. Estos proyectos representaban una inversión de aproximadamente 480 millones de euros entre 2006 y 2019. Esto está claramente subestimado, ya que no se tiene en cuenta toda la investigación realizada antes de 2006, que es considerable, pues ha habido investigaciones relacionadas con las terapias avanzadas, incluyendo la investigación básica, durante varias décadas. En el caso de la Unión

Europea<sup>9</sup>, cuando realizamos este análisis en febrero de 2019, aparecían siete proyectos financiados con fondos europeos, por un valor de aproximadamente 25 millones de euros. De nuevo, esta cifra puede haber aumentado.

También quiero mostrar la parte relacionada con la financiación de ensayos clínicos, que es otro indicador de cómo los fondos públicos y el sector público intervienen en la financiación de este tipo de terapias (Fig. 1). Aunque estos datos deben tomarse con precaución, resulta interesante ver que el 53,76% de los ensayos clínicos de las bases de datos de España, los Estados Unidos y la Unión Europea conjuntamente eran ensayos clínicos no comerciales, financiados por completo

<sup>8</sup>Según RePORT, la contribución pública a la investigación básica en CAR-T se ha traducido en 912 proyectos asignados de 2006 a 2019, que suman más de 480 millones de dólares, principalmente gestionados a través del National Cancer Institute.

<sup>9</sup>En CORDIS se detectaron siete proyectos de desarrollo clínico o preclínico de CAR-T financiados con fondos procedentes de los marcos europeos FP7 y Horizonte 2020 (H2020), y del Consejo Europeo de Investigación (ERC, European Research Council), dos de ellos ya finalizados. En la mayoría de los casos, la aportación europea suponía el 100% del presupuesto total del proyecto. Una aportación que, en los proyectos detectados en los últimos 6 años, sumaba algo más de 25,5 millones de euros.

**Figura 1.** Porcentaje de ensayos clínicos de las terapias CART por tipo de financiador. Entidades públicas, universidades y otros centros de investigación: universidades y hospitales públicos y privados, instituciones públicas de salud, centros de investigación, fundaciones y entidades sin ánimo de lucro y sin fines comerciales. Mixta: financiación compartida entre la industria y universidades, hospitales, centros de investigación o fundaciones sin ánimo de lucro. Industria: empresas farmacéuticas, biotecnológicas y otras entidades con fines comerciales. ND: no hay datos en los registros. (Fuente: elaboración propia. Estudio no publicado.)



con fondos públicos, mientras que el 23,23% eran una combinación de industria, academia o entidades sin fines de lucro. Solo un 20,86% de los ensayos clínicos eran financiados de manera exclusiva por la industria.

Comparto esta información sobre los precios y la inversión pública para transmitir dos ideas principales. En primer lugar, creo que el sector público, a través de sus agencias y condiciones de financiación, debería tener voz en el futuro de las tecnologías

que contribuye a desarrollar. Esto significa que se deberían establecer condiciones o criterios de interés público en estas financiaciones. Por ejemplo, se podría considerar que las transferencias de tecnología sean no exclusivas de forma predeterminada. Asimismo, podrían incluirse cláusulas relacionadas con precios máximos, límites de beneficios y la continuidad de la investigación, entre otras relevantes. Hoy en día esto no se hace, y es importantísimo. Desde Salud por

Derecho y otros actores, como el Parlamento Europeo, hemos estado defendiendo estas propuestas.

En segundo lugar, me gustaría abordar cómo fortalecer las terapias CAR-T en el ámbito público. Creo que es crucial plantear algunas preguntas, porque una cuestión que hace que estas terapias sean aún más relevantes es que, por primera vez, existen alternativas a los productos industriales extremadamente costosos.

En general, los gobiernos tienen una capacidad limitada para establecer precios razonables y se ven obligados a aceptar los precios propuestos por la industria sin poder negociar adecuadamente; por un lado, por la falta de transparencia, y por otro, porque se carece de alternativas. Sin embargo, cuando existe una alternativa pública, como en el caso de ARI-0001 u otras posibles terapias que puedan surgir, el panorama cambia por completo.

Por lo tanto, creemos que es fundamental seguir promoviendo este tipo de terapias académicas para poder

contar con capacidad de negociación y tener competencia.

Además, se ha mencionado que estamos frente a un paradigma médico del futuro. Si deseamos garantizar la sostenibilidad y la introducción cada vez mayor de nuevas terapias avanzadas, con acceso para todos y sin poner en riesgo el futuro del sistema sanitario, necesitamos modelos más sostenibles. Parece que el enfoque de la industria, con los altos precios que estamos presenciando, no es el más recomendable.

La pregunta es si se está haciendo lo suficiente desde el punto de vista de las administraciones públicas. En España, según el Real Decreto 774/2014, se implementó la exención hospitalaria, afortunadamente sin un número específico que limite el acceso de pacientes. Sin embargo, esto no ocurre de la misma manera en otros países.

Como digo, cabe cuestionarse si se están tomando las medidas adecuadas desde las administraciones públicas. Mi impresión es que no se está

haciendo lo suficiente, y así lo hemos transmitido a los diferentes responsables en el Ministerio de Sanidad en diversas ocasiones.

Creo que el gobierno español, o la Generalitat de Cataluña, o incluso ambos en coalición, deberían facilitar fondos para, por ejemplo, pagar las solicitudes de autorización. Considero que debería haber una apuesta mucho mayor para crear la infraestructura necesaria en diferentes centros españoles y permitir que actúen en red.

¿Cuál podría ser el modelo óptimo? Quizá garantizar que diferentes hospitales en España, y posiblemente también fuera de nuestro país, puedan fabricar y administrar las terapias a sus propios pacientes en los mismos hospitales. Habrá que ver si la regulación actual es suficiente en este sentido, al menos en España.

Otro modelo que se está considerando es transferir los CAR-T académicos a la industria. ¿A priori está mal? Bueno, depende de cómo se lleve a cabo. Me preocupa que el esfuerzo económico

previo, que ha sido realizado por la Administración pública y asumido como riesgo, termine siendo empaquetado y entregado en su totalidad a la industria, perdiendo así todo el control y obteniendo a cambio precios abusivos. Esto no solo ocurre con las terapias CAR-T, sino que es la forma en que funciona el sistema de innovación farmacéutica en general.

Por lo tanto, la colaboración con la industria es importante, pero creo que se trata de crear un ecosistema en el que los intereses estén equilibrados y en el que existan modelos de negocio con empresas dispuestas a tener márgenes de beneficio razonables y a colaborar con el sector público para ampliar el acceso a las terapias.

No podemos seguir con el mismo modelo de siempre, y creo que la Administración pública debería pensarlo detenidamente, en especial porque, como antes mencioné, existen la capacidad y una lógica clara para que las terapias avanzadas se desarrollen en el ámbito público.

# Monografías\*

## Fundación Dr. Antoni Esteve

1. Erill S, Estapé J, coord. El hospital de día y su repercusión en terapéutica (1985)
2. Verger G, Carbó Ll, coord. Problemas que se plantean en el tratamiento de infecciones graves por *S. aureus* (1986)
3. Erill S, Camprubí P, coord. Contribución del biólogo a la farmacología en España (1987)
4. Laurence DR, Shaw IC, coord. Un glosario para farmacólogos (1987)
5. García Sevilla JA, coord. Aspectos biológicos de los síndromes depresivos (1988)
6. Munné P. Bases del tratamiento de las intoxicaciones agudas (1988)
7. Erill S, Castell JV, coord. Investigación básica y medicina clínica (1988)
8. Badía A, Domínguez-Gil A, Garzón J, coord. Tratamiento de datos en farmacología (1989)
9. Matías-Guiu J, Bigorra J, coord. Perspectivas terapéuticas en la esclerosis múltiple (1989)
10. González-Duarte R, coord. Biotecnología de aplicación farmacéutica (1991)
11. García Alonso F, Bakke OM, coord. Metodología del ensayo clínico (1991)
12. Periodismo científico. Un simposio internacional (Barcelona, 30 de mayo, 1990) (1991)
13. Barlett A, Serrano MA, Torrent J, coord. El ensayo clínico como tarea cooperativa (1992)
14. Camps MV, Pérez-Oliva M, coord. Terapéutica y calidad de vida (1993)
15. Capellá G, Hernández Bronchud M, Lluís F, coord. Investigación sobre cáncer en España: de la biología molecular a la clínica (1994).
16. Carlos R, Baños JE, coord. El tratamiento del dolor: del laboratorio a la clínica (1994)
17. García AG, coord. Farmacología de los canales iónicos (1995)
18. Elguero J, Pérez Gutthann S, coord. Bases de datos en farmacología y terapéutica (1996)
19. Álvarez FJ, coord. Fármacos y conducción de vehículos (1996)
20. Navarro FA. Traducción y lenguaje en medicina (1997)
21. Medicina y medios de comunicación. Traducción al español de una serie publicada en la revista *The Lancet* (1997)
22. Carné X, Costa J, coord. Problemas y controversias en torno al ensayo clínico (1998)
23. Baños JE, Brotons C, Farré. Glosario de investigación clínica y epidemiológica (1998)
24. Baeyens JM, Zorzano A, coord. Transducción de señales como diana farmacológica (1999)
25. Investigación médico-farmacéutica en atención primaria. Una visión a través de las publicaciones de la REAP (1999)
26. Miró JM, Gatell JM, coord. Modelos experimentales de patología infecciosa (2000)
27. Laurence DR, Carpenter JR. Diccionario de farmacología y temas afines (2000)
28. Codina C. Educación sanitaria: información al paciente sobre los medicamentos (2000)
29. Bosch F, coord. Aspectos conceptuales del ensayo clínico. Una revisión a través de artículos publicados en *Medicina Clínica* (1990-1999) (2000)
30. Bonfill X, coord. Ensayos clínicos en intervenciones no farmacológicas (2001)
31. De Felipe, coord. Aspectos básicos y clínicos sobre la neurobiología de la adicción (2003)
32. Videla S, Bosch F, coord. La investigación en un entorno asistencial. Algunas reflexiones y ejemplos (2005)
33. Baños JE, Bigorra J, coord. La proyección social del medicamento (2007)
34. Badía A, coord. Aportaciones de los estudios funcionales a la investigación farmacológica básica (2008)
35. Torrens RM, coord. Atención al paciente oncológico desde la perspectiva de enfermería (2010)
36. Juan M, coord. Nuevas perspectivas en inmunoterapia (2012)
37. Gutiérrez Rodilla BM, Navarro FA, coord. La importancia del lenguaje en el entorno biosanitario (2014)
38. Orefice C, Baños JE, coord. The role of humanities in the teaching of medical students (2018)
39. Ruiz Cantero MT, coord. Perspectiva de género en medicina (2019)

---

\*Referencias en formato abreviado de la serie. La cita correcta debería seguir el formato: Ruiz Cantero MT, coord. Perspectivas de género en medicina. Monografías Dr. Antoni Esteve, N° 39. Barcelona: Fundación Dr. Antoni Esteve; 2019.

Todas las monografías de la Fundación Dr. Antoni Esteve están disponibles gratuitamente en [www.esteve.org](http://www.esteve.org)

