

Terapéuticas inmunológicas actuales en neoplasias hematológicas

Bases inmunes, linfocitos T modificados, anticuerpos bienespecíficos, anticuerpos inhibidores de puntos de control de linfocitos T

Current immune therapies for hematological neoplasias

Jarchum I¹, Basquiera AL², Albarracín F³, Cazap N⁴, Dupont J⁵

1. Doctora en Ciencias Biomédicas (Albert Einstein College of Medicine, Bronx, NY) Post-doc en Memorial Sloan-Kettering Cáncer Center (NY).
Editora asociada en la revista *Nature Biotechnology*.
2. Médica Especialista en Hematología del Hospital Privado de Córdoba.
Instituto Universitario de Ciencias Biomédicas de Córdoba (IUCBC).
3. Médico Especialista en Hematología del Hospital Universitario.
UN Cuyo. Mendoza.
4. Médico Especialista en Hematología del CEMIC. Buenos Aires.
5. Jefe de Servicio de Hematología del CEMIC. Buenos Aires.

irenejarchum@gmail.com / abasquiera@hospitalprivadosa.com.ar
fhalbarracin@gmail.com / nicaz@yahoo.com / jcdupont643@gmail.com

Presentado en las III Jornadas Internacionales
de la Sociedad De Hematología de Córdoba.

Fecha de recepción: 30/06/2015
Fecha de aprobación: 11/08/2015



ARTÍCULO
DE REVISIÓN

HEMATOLOGÍA: 137 - 148
Volumen 19 n° 2
Mayo - Agosto 2015

Resumen

Las terapias inmunológicas demuestran tener alta eficacia en combatir ciertos tipos de cáncer. El objetivo de esta revisión es proveer un resumen de las últimas modalidades de terapias inmunológicas (entre ellas, anticuerpos monoclonales y bi-específicos, receptores quiméricos antigénicos y otras). Aquí presentamos la base científica inmunológica que llevó al desarrollo de estas modalidades y que ayudan a entender tanto su alto nivel de eficacia como sus efectos secundarios no deseados. Presentamos en este artículo también la experiencia clínica con estas terapias. Sin duda, las terapias que hacen uso del sistema inmune continuarán demostrando eficacia

contra el cáncer. Una mejor comprensión de su mecanismo de acción a nivel básico y de los resultados clínicos permitirán su rápida y exitosa expansión en el tratamiento de enfermedades oncohematológicas.

Palabras clave: terapias inmunológicas, anticuerpos monoclonales, anticuerpos bi-específicos, receptores quiméricos antigénicos, linfocitos T, terapia celular, cáncer.

Abstract

Immune therapies show efficacy against particular cancer types. The goal of this review is to provide a summary of the most common immune therapies (among them, monoclonal antibodies, bi-specific antibodies, chimeric antigen receptors and others). Here, we discuss the immunological basis that lead to the development of these modalities and that help understand both their high degree of efficacy and their unwanted side effects. We present clinical experiences with these therapies. Undoubtedly, therapies that harness the immune response will continue to show efficacy against cancer. A better understanding of the mechanism of action of

immune therapies and of clinical results will allow their rapid, safe, and successful expansion towards the treatment of oncohematological disease.

Keywords: immune therapies, monoclonal antibodies, bi-specific antibodies, chimeric antigen receptors, T cells, adoptive T cell therapy, checkpoint inhibitors, cancer.

Introducción

La relación entre los sistemas inmunes innatos y los adaptativos permiten entender la capacidad de los mamíferos de defenderse de noxas infecciosas. Además favorece la comprensión de las enfermedades autoinmunes y también el modo en que algunas enfermedades virales, y en particular las células neoplásicas, eluden sus reacciones.

Los desarrollos básicos y clínicos actuales relacionados al sistema inmune en enfermedades oncohematológicas han sido expuestos por los autores en las 3ras Jornadas Internacionales de la Sociedad de Hematología de Córdoba el 7 y 8 de mayo de 2015.

La respuesta inmune

Irene Jarchum

Inmunidad natural y adquirida

El sistema inmune está compuesto de células que deben comunicarse entre sí para responder a la amenaza de una infección. Las primeras células en reconocer la presencia de un patógeno son generalmente las células presentadoras de antígeno, que están situadas en los tejidos y ‘patrullan’ el cuerpo buscando algo ajeno a lo propio. Las células presentadoras de antígeno (células dendríticas, macrófagos y linfocitos B) expresan receptores (como por ejemplo, toll-like receptors, NOD-like receptors, Dectins) que activan la célula al reconocer patrones derivados de virus, bacterias y hongos. Una vez activadas, estas células producen citocinas y quimocinas, que actúan como mediadores para comunicar a otras células que hay un patógeno amenazante. Las citocinas y quimocinas indican dónde está la infección y reclutan células que puedan ayudar específicamente

con ese tipo de patógeno.

La segunda rama de la respuesta inmune es la llamada inmunidad adquirida. La respuesta adquirida está compuesta de linfocitos B, linfocitos T y linfocitos NKT. Los linfocitos B (productores de anticuerpos) y los linfocitos T llevan en su superficie un receptor que reconoce antígenos (epítopes) con alto nivel de afinidad. El receptor de linfocitos T (‘T cell receptor’, o TCR), que forma un complejo con la molécula CD3, reconoce epítopes derivados de proteínas en el contexto de moléculas HLA (MHC clase I si es un linfocito CD8⁺ y MHC clase II si es CD4⁺).

Este receptor –en linfocitos B, la inmunoglobulina, y en linfocitos T, el TCR– se genera en cada célula mediante un proceso de recombinación genética a nivel somático que produce una enorme variedad en el repertorio de receptores. Cada linfocito B y T que ha madurado (en la médula ósea y el timo, respectivamente), expresa un receptor distinto. Así, las células de la inmunidad adquirida tienen la capacidad de reconocer un sinnúmero de antígenos derivados de patógenos.

Activación de linfocitos

La primera señal necesaria para activar al linfocito T es el reconocimiento de antígeno a través de su TCR. La asociación del TCR con CD3 ζ , CD3 δ , CD3 γ y CD3 ϵ logra una eficaz señalización, ya que estas moléculas tienen dominios intracelulares que, a través de fosforilación y asociaciones con otras moléculas, transmiten rápidamente la señal al núcleo celular. Sin embargo, para la activación completa de estas células, se requiere una segunda señal.

Esta señal proviene de la interacción de la molécula CD28 con sus receptores CD80 y CD86, la cual provee costimulación al linfocito.

Además de CD28, existen otras moléculas que proveen costimulación al linfocito T y que contribuyen a la activación de la célula y modulan su respuesta⁽¹⁾. Estas son parte de la sinapsis inmunológica (**Figura**

1) e incluyen OX-40, 4-1BB y CD40.

Con la información que recibe el linfocito T a través de su TCR y las moléculas de costimulación, el linfocito T es activado y produce citocinas y moléculas que matan directamente a otras células (perforin, granzyme B). Además, el linfocito prolifera, generando más células que expresan ese mismo TCR.

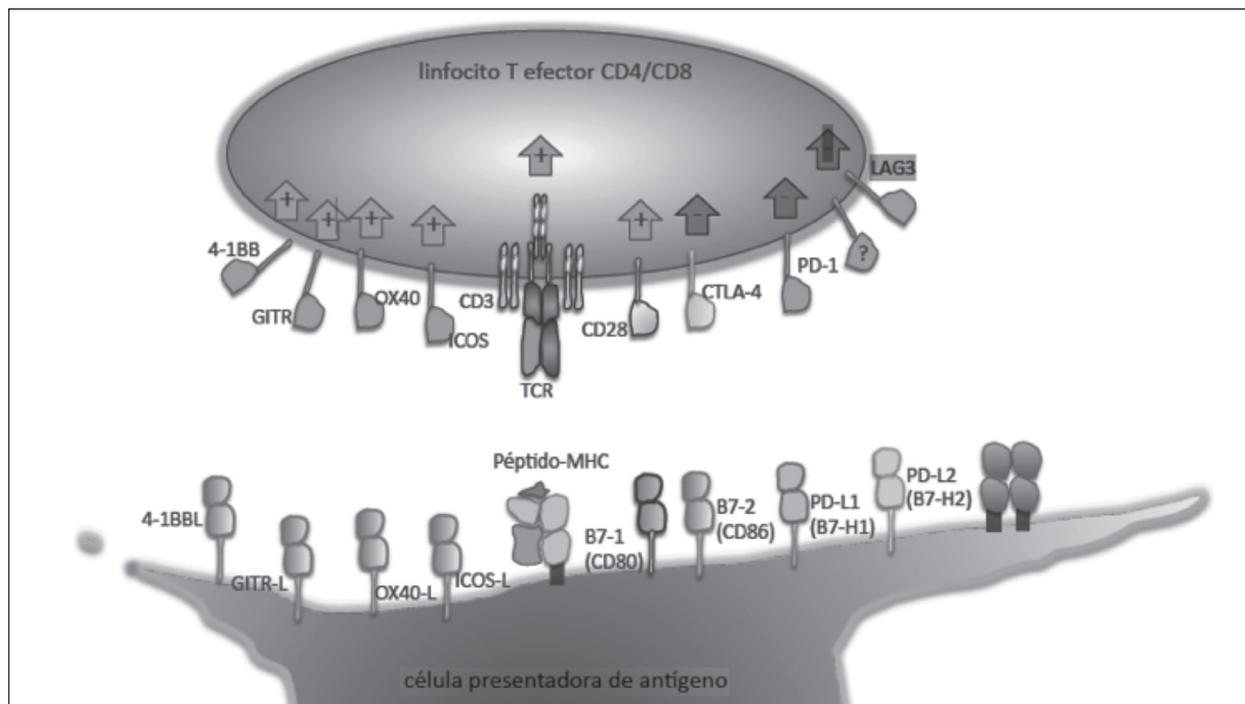


Figura 1: Son muchas las moléculas involucradas en la interacción entre un linfocito T y la célula presentadora de antígeno. Aquí se muestran las moléculas involucradas específicamente en interacciones particularmente relevantes en el contexto de la respuesta inmune contra el cáncer. Algunas interacciones moleculares proveen una señal de activación al linfocito (señal positiva), mientras que otras disminuyen su activación (señal negativa).

Tolerancia inmunológica

Uno de los desafíos de la respuesta inmune es evitar el reconocimiento de antígenos propios; un proceso que, si se desencadena, puede tener como consecuencia el desarrollo de autoinmunidad. Cómo se logra esto? Existen varios mecanismos para ‘borrar’ o apagar células que reconocen componentes propios. El primero es el mecanismo de tolerancia central, que ocurre durante la maduración de los linfocitos B y T. Durante este proceso, los linfocitos que reconocen autoantígenos a través de su TCR o inmunoglobina mueren por apoptosis. Además, se genera durante este proceso un repertorio de linfocitos T regulatorios (Treg) que, una vez en la periferia, protegen contra la autoinmunidad y la inflamación excesiva.

Además de los Treg, existen otros mecanismos de protección en la periferia. Dos de ellos son las moléculas CTLA-4 (cytotoxic T lymphocyte-associated

protein 4) y PD-1 (program cell death protein 1). CTLA-4 es expresado por linfocitos T activados e interactúa con los receptores CD80 y CD86 (**Figura 1**) con una afinidad mucho mayor a la de CD28 por estos mismo receptores. La interacción de CTLA-4 con sus receptores transmite una señal muy potente de ‘pare’ al linfocito T, apagando rápidamente estas células. Es un eficiente mecanismo para frenar la respuesta inmune una vez que se ha combatido al patógeno.

PD-1 es expresado por linfocitos T exhaustos; es decir, aquellos linfocitos que, al haber estado expuestos al mismo antígeno por un largo período de tiempo, deben ser apagados para evitar daño excesivo en tejidos sanos. PD-1 se une a PD-L1 y PD-L2, que están presentes no sólo en las células presentadoras de antígeno, sino también en tumores. La interacción de PD-1 con sus ligandos, particularmente con PD-L1, apaga al linfocito T.

Inmunoterapias contra el cáncer

Después de décadas de investigación básica en cultivos celulares y modelos en animal, las inmunoterapias contra el cáncer han llegado a pacientes y demuestran alta eficacia⁽²⁾. Hoy en día existen varias modalidades (y muchas más se continúan explorando) para captar la potencia de la respuesta inmune y dirigirla contra el cáncer.

Anticuerpos monoclonales

Cuando un tumor se comienza a desarrollar, puede provocar una respuesta inmune si es reconocido como algo externo. Sin embargo, si el tumor continúa creciendo, el sistema inmune debe apagarse, como lo haría en presencia de un virus crónico, por ejemplo, para evitar daño a los tejidos sanos. Por eso, CTLA-4 y PD-1/PD-L1 se encuentran activados en el contexto de varios tipos de cáncer y son buenos candidatos como antígenos para los anticuerpos monoclonales⁽³⁾, ya que su neutralización reactiva a los linfocitos T. Si existen en el tumor o en la circulación linfocitos T que reconocen antígenos tumorales, estas células pueden atacar al tumor. Recientemente se ha demostrado que los anticuerpos monoclonales contra esta clase de antígenos es eficaz sobre todo si existen en el paciente linfocitos T que reconocen neoantígenos (antígenos que derivan de mutaciones en el tumor)⁽⁴⁻⁶⁾.

Anticuerpos biespecíficos

Otra modalidad que ha demostrado buenos resultados es el anticuerpo biespecífico, en particular el BiTE (bispecific T cell engager)⁽⁷⁾. Esta molécula consiste de dos cadenas de anticuerpo (single-chain variable fragment, o scFv) unidas entre sí. Los scFv

no incluyen toda la molécula de la inmunoglobulina sino sólo la región que reconoce el anticuerpo, es decir, la región variable de la cadena pesada y la cadena liviana. Estas están unidas a través de un conector. Cada uno de los scFv se une a un antígeno distinto. Varias combinaciones de scFv están siendo exploradas, pero el BiTE más estudiado es el que reconoce CD3 (en linfocitos T) y CD19 (en linfocitos B). El BiTE logra unir físicamente estas dos células, activando al linfocito T y logrando una respuesta anti-tumoral en el contexto de las malignidades de linfocitos B.

Ingeniería celular

La ingeniería celular provee otras opciones en la batalla contra el cáncer. En particular, tres modalidades se destacaron en estos últimos años: los linfocitos que infiltran el tumor ('tumor-infiltrating lymphocytes' o TILs), los linfocitos que expresan un TCR específico contra una antígeno tumoral ('TCR-engineered T cells'), y los que expresan un receptor quimérico antigénico ('chimeric antigen receptor-engineered T cells' o CAR-T cells).

Linfocitos infiltrantes de tumores (TIL's)

Los TILs se extraen de una biopsia del tumor y en el laboratorio se evalúan con respecto a su afinidad hacia antígenos tumorales. Se expanden in vitro aquellos linfocitos que responden específicamente contra el tumor y se le devuelven al paciente a través de una infusión⁽⁸⁾. Esta terapia incrementa el porcentaje de linfocitos que reconocen al tumor y ha demostrado eficacia particularmente en el melanoma. Una de sus ventajas sobre otras modalidades es que no requiere manipulación genética (**Tabla 1**).

Tabla 1. Ventajas y desventajas de modalidades de terapias de linfocitos T contra el cáncer. TILs, tumor-infiltrating lymphocytes (linfocitos que infiltran el tumor); TCR-engineered T cells (linfocitos T con expresión de TCR); CAR-T cells (linfocitos T con expresión de receptor quimérico de antígeno).

TILs	TCR-engineered T cells	CAR-T cells
No están modificadas genéticamente	La activación de las células es óptima (usa receptor natural)	Reconoce proteínas, carbohidratos y lípidos
El antígeno reconoce el tumor	Mejor entrada a tumores sólidos (?)	No está restringido por un HLA
Los linfocitos son policlonales	Reconoce antígenos intracelulares	No depende de la expresión de HLA
Difícil sobrepasar las señales negativas del tumor	Está restringido a un HLA	Activación no es ideal
Algunos tumores disminuyen expresión de HLA y presentación de antígenos	Algunos tumores disminuyen expresión de HLA y presentación de antígenos	Reconoce sólo antígenos expresados en la membrana

Expresión de TCR

Los linfocitos que expresan un TCR específico contra el tumor deben ser manipulados genéticamente. Se extraen linfocitos T de la sangre del paciente y se transducen con un vector que exprese un TCR específico para el antígeno deseado. Luego, los linfocitos modificados se expanden para obtener suficientes células, y se le devuelven al paciente^(9, 10).

El TCR se elige en base a dos factores críticos: la expresión en el tumor del antígeno en cuestión, y el haplotipo del paciente. Como los TCR de un individuo reconocen no sólo el epítipo sino también el HLA, debe haber compatibilidad entre el TCR y el HLA del paciente. Esto puede causar dificultades para aplicar esta terapia en pacientes con haplotipos que no han sido suficientemente estudiados o para los cuales no se conocen TCR anti-tumorales de alta afinidad. Sin embargo, esta terapia tiene la ventaja que los antígenos hacia los cuales se dirige el TCR pueden ser proteínas intracelulares (**Tabla 1**).

CAR-T cells

La producción de linfocitos que expresan un receptor quimérico antigénico (CAR-T cells) es similar a la de linfocitos con un TCR anti-tumoral; la diferencia está en el tipo de receptor. En el caso del receptor quimérico, éste está compuesto de varias regiones (**Figura 2**).

El reconocimiento del antígeno tumoral no ocurre a través de un TCR sino a través de un fragmento de inmunoglobulina, específicamente un scFv. El scFv está derivado de un anticuerpo monoclonal dirigido al antígeno de interés (por ejemplo, CD19). El

scFv está seguido por un conector y un segmento trans-membrana. En la región intracelular del receptor, hay uno o varios dominios de señalización de receptores inmunológicos^(11, 12) (**Figura 2**).

Los dominios de señalización son necesarios para transmitir la señal de que el scFv reconoció a su antígeno hacia el linfocito T, activándolo. Una vez activado, el linfocito T mata a su objetivo.

La primera generación de CARs tiene sólo el dominio intracelular de la molécula CD3 ζ , y aunque demostró alguna eficacia en modelos de ratón, esta señal no es suficiente para activar al linfocito T completamente. Los CARs de segunda generación incluyen, además del dominio intracelular de CD3 ζ , el dominio de señalización intracelular de otra molécula de la sinapsis inmunológica, como CD28, 4-1BB, o OX-40 (**Figura 1**). Ya con dos señales, se logra activar al linfocito T de forma más completa. Los receptores de tercera generación incluyen dos de estos dominios intracelulares además de CD3 ζ , en distintas combinaciones (**Figura 2**).

Los receptores quiméricos tienen la ventaja de que pueden ser dirigidos no solamente hacia antígenos proteínicos sino también lípidos y carbohidratos. Además, al no estar restringidos por HLA, pueden ser aplicados en pacientes con distintos haplotipos. Sin embargo, hasta ahora se ha visto alta eficacia usando CD19 como el antígeno⁽¹³⁾, pero encontrar otros antígenos específicos contra el tumor (para evitar que los CAR-T cells causen apoptosis en células sanas) no ha sido fácil.

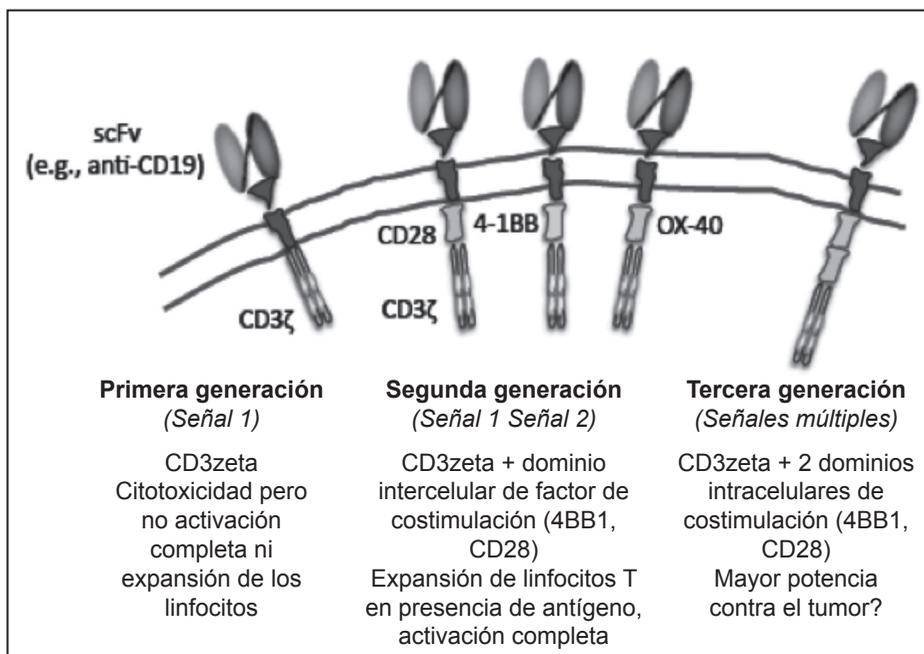


Figura 2: Los receptores quiméricos antigénicos (CARs) están ya en su tercera generación. Los CAR de primera generación no logran activar suficientemente al linfocito porque no proveen la segunda señal requerida. Los de segunda y tercera generación logran esto, y muchos de ellos están siendo aplicados en terapias celulares en pacientes.

Inhibidores de los Puntos de Control Inmune (“Immune Checkpoint Inhibitors”)

Ana Lisa Basquiera

Un nuevo paradigma en el tratamiento del cáncer es la potenciación del sistema inmunitario. En condiciones fisiológicas, el sistema inmunitario se autorregula a través de señales inhibitorias denominadas puntos de control inmune o “immune checkpoints”⁽¹⁾ Estas señales inhibitorias nos protegen contra la autoinmunidad y previenen la hiperactividad de las células T⁽²⁾. Hay dos proteínas que funcionan como puntos de control: el antígeno 4 asociado a linfocito T citotóxicos (CTLA-4) y la proteína 1 de la vía de la muerte celular programada (PD-1)⁽¹⁾. CTLA-4 y PD-1 se expresan en la membrana del linfocito T luego de su activación, y luego de unión a sus respectivos ligandos, atenúan la respuesta inmunitaria⁽²⁾. Entonces, la inhibición farmacológica de CTLA-4 y PD-1 permite mantener la activación del linfocito T (**Figura 3**)⁽²⁾. Algunas células tumorales sobreexpresan ligandos de PD-1 y entonces usan el mecanismo de unión a PD-1 para evadir la respuesta inmunitaria⁽²⁾.

Se han desarrollado anticuerpos monoclonales que actúan como inhibidores de CTLA-4 (ipilimumab) y PD-1 (nivolumab, pembrolizumab, pidilizumab). Todos ellos tienen como objetivo aumentar la actividad anti-tumoral del linfocito T.¹ Si bien actualmente sólo están aprobados para uso clínico en pacientes con melanoma, hay evidencia creciente de su rol en otros tumores incluyendo malignidades hematológicas⁽¹⁾. El linfoma Hodgkin parece ser particularmen-

te sensible a estas terapias⁽³⁾. En un estudio de Fase I publicado en enero de este año, 23 pacientes (78% con trasplante autólogo previo, 78% con brentuximab previo y 83% con radioterapia previa) recibieron nivolumab. Se objetivó un 87% de respuestas globales incluyendo 17% de respuestas completas. La supervivencia libre de progresión fue 86% a dos años. Por técnica de inmunohistoquímica se demostró que las células de Reed-Sternberg sobreexpresaron ligandos PD-1 (PDL-1 y PDL-2)⁽³⁾. Resultados similares fueron observados con pembrolizumab en Linfoma Hodgkin⁽⁴⁾. En otras malignidades hematológicas las respuestas han sido variables (**Tabla 2**), por lo que parecería ser que no todos, sino un grupo de pacientes, se benefician de este tipo de tratamientos, y el hallazgo de predictores de respuesta es el desafío por venir⁽⁵⁻⁸⁾. En general, los efectos adversos son leves (sólo 20% tienen toxicidad G3 y 5% de toxicidad G4) y de tipo inflamatorio (“itis”) como dermatitis, hepatitis, colitis, etc⁽⁹⁾.

Este nuevo paradigma de tratamiento plantea nuevos desafíos en la práctica clínica. Por ejemplo, la cinética de respuesta al tratamiento podría ser variable, puede haber una pseudoprogresión inicial (por aumento de la respuesta inflamatoria) y el PET podría no ser tan específico para evaluar la respuesta (¿falsos positivos?). Por otro lado, estos inhibidores se podrían combinar con quimioterapia, radioterapia y/o con otros anticuerpos monoclonales.¹⁰

Tabla 2. Experiencia con Inhibidores de los Puntos de Control Inmune en Malignidades Hematológicas

Autor/año	Malignidad	Fase	Anticuerpo	Respuestas globales %
Ansell/2009 ⁵	Linfoma B	I	Ipilimumab	11
Armand/2013 ⁶	Linfoma Difuso	II	Pidilizumab	51 (RC: 34)
Westin/2014 ⁷	Linfoma Folicular	II	Pidilizumab + Rituximab	66 (RC: 52)
Lesokhin/2014 ⁸	Linfoma T Mieloma	I	Nivolumab	17 0

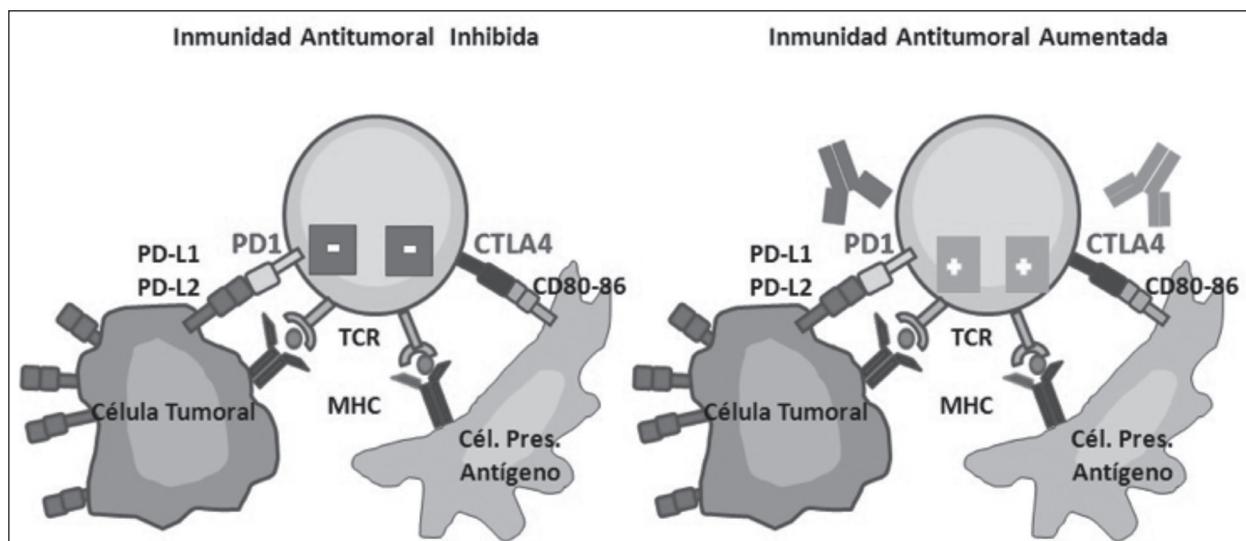


Figura 3. Esquema que representa la función de los puntos de control inmunes y el mecanismo de acción de los anticuerpos monoclonales inhibidores. Modificado de Eyre et al.⁽¹⁾ y Wolchok et al.⁽²⁾

Células T modificadas con receptores quiméricos antigénicos (CAR-T). Estado actual y ensayos clínicos.
Flavio Albarracín

La naturaleza sintética del receptor quimérico antigénico en células T (CAR-T) permite elegir una serie de blancos en variados tipos de cáncer, simplemente sustituyendo algunos dominios de unión al antígeno codificados en fragmentos variables de cadena simple (scFv)⁽¹⁾. De todos los antígenos estudiados, el CD19 es uno de los que más desarrollo de trabajos ha alcanzado dado su expresión en casi la mayoría de las neoplasias de células B, su limitada expresión en células B normales y su ausencia en células progenitoras de médula ósea. Dado estas características no cabrían de esperarse otros efectos por fuera del blanco elegido (especificidad antigénica).

Un estudio realizado recientemente en el Memorial Sloan Kettering sobre 16 pacientes con Leucemia Linfoblástica Aguda B (LLA-B) en recaída o refractaria, utilizó células CAR-T dirigidas al antígeno CD19 de 2ª generación (vector: retrovirus, dominio coestimulador: CD28). Los pacientes luego de la leucoaféresis para la producción de células CAR-T, eran tratados con quimioterapia citoreductora según criterio de cada médico tratante. Luego de recibir Ciclofosfamida a la dosis de 1,5-3 g/m² recibían la infusión de células CAR-T a la dosis de 3 x 10⁶/kg y según la evaluación de respuesta, si obtenían remisión completa (RC), iban a trasplante alogéneo. De los 16 pacientes, 14 lograron la RC y de ellos 12 la remisión molecular de su enfermedad luego de la terapia con células CAR-T. Además, entre los pa-

cientes que lograron RC, 7 sobre 9 tenían enfermedad residual morfológica previa a la terapia. En total 10 de los 14 pacientes que lograron la RC eran elegibles para trasplante alogéneo, el cual fue efectuado en 7 de ellos como terapia de consolidación (Tabla 3). Con respecto a las toxicidades asociadas al uso de células CAR-T, se determinó que 4 de los 16 pacientes experimentaron episodios severos relacionados al “Síndrome de liberación de citoquinas” (SLCs), por lo cual requirieron terapia con corticoides, inotrópicos, terapia con tocilizumab y hasta incluso ayuda respiratoria mecánica⁽²⁾.

Dos trabajos de reciente publicación evaluaron el rol de las células CAR-T de 2ª generación sobre el antígeno CD19 en linfomas B indolentes.

Investigadores del Instituto Nacional del Cáncer evaluaron a 8 pacientes (3 con linfoma folicular, 4 con leucemia linfática crónica (LLC) y 1 con linfoma esplénico), utilizando la molécula coestimuladora CD28.

Todos recibieron previamente terapia citoreductora/linfodepletores con Ciclofosfamida 60 mg/kg por 2 días y Fludarabina 25 mg/kg por 5 días. Además recibieron terapia con Interleuquina-2 a la dosis de 720.000 UI/kg cada 12 hs por 8 días luego de recibir la infusión de células CAR-T. Sólo un paciente logró RC y la gran mayoría remisiones parciales. Entre las posibles explicaciones de la limitada eficacia teorizan sobre: limitada persistencia de CAR-T en LLC,

el microambiente inmunoinhibitorio de LLC, la naturaleza más basalmente en médula ósea de la célula de la LLA-B versus en ganglio de la LLC, menor volumen tumoral al momento del tratamiento en LLA-B. Hubo variabilidad entre los niveles de expansión de las células CAR-T medidas por técnicas de qPCR, así como en los niveles de persistencia en sangre periférica entre los pacientes (sólo 2 superaron los 180 días). La toxicidad más frecuente fue la depleción de linfocitos B con hipogamaglobulinemia (80%). La aparición de eventos adversos (EA) fue máxima al día +8 post infusión. Los pacientes con niveles más elevados de INF γ y TNF tuvieron mayor prevalencia de EA y de SLCs (p: 0,016) ⁽³⁾. Otro estudio llevado adelante por investigadores de la Universidad de Pensilvania evaluó a 3 pacien-

tes con LLC recaída/refractaria utilizando células CAR-T pero usando el co-dominio 4-1BB. Dos de los 3 pacientes experimentaron remisiones completas, mientras que el 3er paciente tuvo una respuesta parcial por 8 meses. Este estudio marcó un hito histórico dado que fue el primero en demostrar el potencial curativo de las células CAR-T. El estudio reportó además que las células T infundidas eran capaces de expandirse más de 1000 veces, infiltrar la médula ósea y permanecer detectable más de 6 meses post-infusión (**Figura 4**). Más aún, cada célula T infundida se calculó que era responsable de la eliminación de más de 1000 células LLC, indicando la capacidad citotóxica expansiva de las células CAR-T ⁽⁴⁾.

Tabla 3. El tiempo en lograr RC posterior a la infusión de células CAR-T fue de 24,5 días y el pico plasmático fue alcanzado al día 10². (EMR: enfermedad mínima residual, QT: quimioterapia)

Características	Nº de pacientes (n: 16)	%
Edad (años)	50	
Citogenético	7: complejo 4: Phi + 9: Intermedio	44 25 56
Allo-TCPH previo	4	25
Enf. Extramedular	2: SNC 1: piel 13: no	12 6 81
Duración de RC1 (meses)	8	
Líneas de tto	1: 9 2: 4 ≥3: 3	59 25 19
Refractarios al último tto	14	88
Estado de enfermedad antes de infusión de CAR-T	2: EMR - 5: EMR + 3: <50% blastos 6: ≥ 50% blastos	13 33 13 40
Dosis de CAR-T 3 x 10 ⁶ /kg	15	94
Respuesta Clínica	Nº de pacientes (n: 16)	%
RC luego de QT de salvataje	7	44
RC luego de CAR-T	14	88
RC en pt con leucemia residual morfológica (n: 9)	7	78
RC molecular	12	75

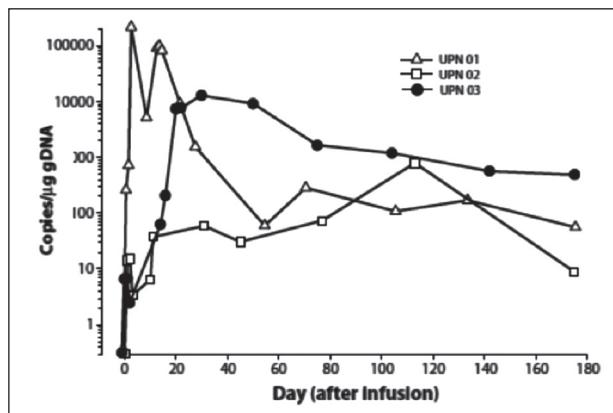


Figura 4. Expansión y persistencia de células CAR-T por más de 6 meses⁴.

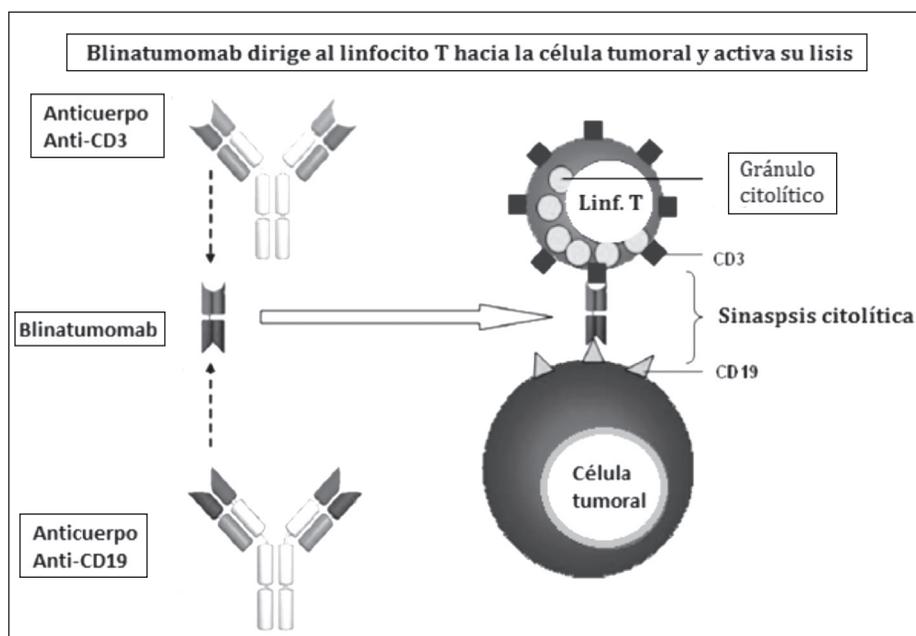
Anticuerpos Monoclonales bi-específicos. Experiencia clínica con Blinatumomab.

Nicolás Cazap

El Blinatumomab es un anticuerpo de cadena única bi-específico “que compromete” a los linfocitos T hacia un antígeno predeterminado, en este caso

CD19 (célula neoplásica y normal). Involucra a linfocitos T CD4 y CD8 y a los linfocitos T de memoria efectoras. Se produce una activación del LT con proliferación, liberación de citoquinas y lisis directa de la célula tumoral. Estos hechos se dan de forma independiente de la especificidad del receptor T, de la coestimulación y de la presentación de péptidos antigénicos. Es efectivo sobre células en división y quiescentes.

La leucemia linfoblástica aguda (LLA) del adulto es una enfermedad con resultados insatisfactorios para la cual son necesarios nuevos tratamientos que permitan obtener la desaparición de la enfermedad mínima residual + (EMR) y en casos de recaída/refractoriedad obtener resultados que permitan llegar al TCPH alogénico. La sobrevida a 5 años es de 38%. La presencia EMR determina la recaída hematológica en un 90-95% de los casos dentro de los 4 meses. En los pacientes recaídos/refractorios, la sobrevida a 5 años es de sólo el 7%². El 80% de las LLA del adulto son precursor B, y el CD19 está presente en >90-95% de los casos.



Experiencia clínica. Estudios y resultados.

Uso en pacientes con EMR positiva

En 21 pacientes con LLA-B con recaída o refractoriedad molecular se utilizó blinatumomab 15 mcg/m²/día endovenoso continuo por 28 días por 2 ciclos. Se logró un 80% de EMR negativa (la mayoría al final del 1er ciclo). Los eventos adversos (EA) más frecuentes fueron fiebre, escalofríos y descenso de las inmunoglobulinas. Un 33% de los pacientes sufrieron EA grado 3/4⁽³⁾.

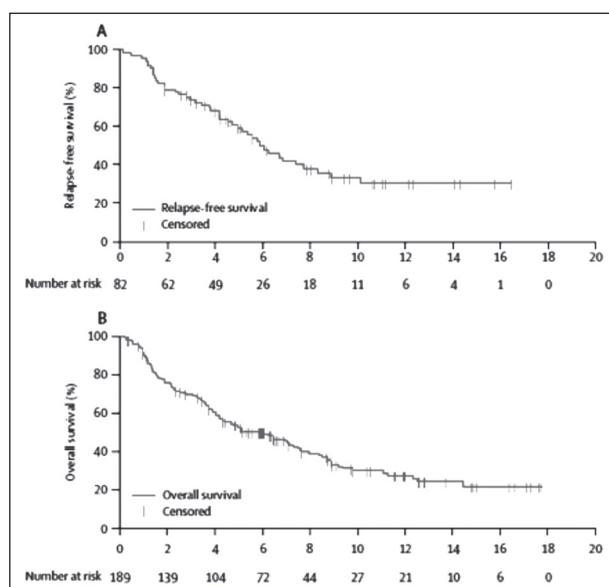
Con una mediana de seguimiento de 33 meses. La sobrevida libre de recaída (SLR) fue del 61%. Seis de 9 pacientes que progresaron a TCPH alogénico continúan en RC (SLR 65%). Seis de 11 pacientes que no progresaron a TCPH alogénico continúan en RC (SLR 60%). Estos resultados se comparan favorablemente con controles históricos. De los 4 pacientes recaídos, 2 lo hicieron en SNC y en testículo y 2 presentaban CD19 negativo⁽⁴⁾.

Uso en pacientes con recaída y refractariedad

En 189 adultos con LLA B (Phi-) recaída/refractaria de alto riesgo y pesadamente tratados se utilizó blinatumomab 28 mcg/día endovenoso continuo por 28 días cada 6 semanas hasta 5 ciclos. Se utilizó una prefase con dexametasona y una dosis de 9

mcg/día durante la primera semana para disminuir el síndrome de “leak” capilar. Los objetivos primarios fueron la remisión completa (RC) o RC con recuperación hematológica parcial de recuentos periféricos (CRh) en los primeros 2 ciclos⁽⁵⁾.

	Pacientes	Proporción
RC ó RCh	81/189	43%
Sin respuesta	90/189	48%
Trasplante alogénico posible	32/81	40%
Mortalidad a 100 día post Tallo	---	11%
ERM- después de 2 ciclos (pts con RC ó RCh)	60/73	82%



Los pacientes que alcanzaron el objetivo primario fueron el 43%, que compara favorablemente con la tasa conocida de 20-30% en este grupo de pacientes.⁽⁵⁾ Blinatumomab como agente único mostró actividad antileucémica en pacientes adultos con leucemia linfoblástica aguda de células B precursoras Phi- en recaída o refractariedad, caracterizada por factores pronósticos negativos. En estos términos, la FDA ha aprobado su uso clínico⁽⁷⁾.

Conclusión

Juan Dupont

Los conocimientos inmunológicos actuales han permitido desarrollar terapéuticas inmunes dirigidas a procesos de reconocimiento antigénico de las células neoplásicas por parte de los linfocitos T. Además facilitan su función citotóxica directa, logrando regularmente control de la enfermedad rápidamente y con una cohorte de efectos adversos dependientes

de citoquinas que son habitualmente intensos. En el futuro, la identificación de elementos de pronóstico podrá ubicar a estos recursos inmunológicos en estadios más tempranos de la enfermedad y en combinación con otros recursos terapéuticos.

Declaración de conflictos de interés:

Los autores declaran no poseer conflictos de interés

Bibliografía

La respuesta inmune.

Irene Jarchum

- Huppa, J.B. and Davis, M.M. T-cell-antigen recognition and the immunological synapse. *Nat Rev Immunol.* 2003 Dec;3(12):973-83.
- Mellman, I., Coukos, G. and Dranoff, G. Cancer immunotherapy comes of age. *Nature.* 2011 Dec 21;480(7378):480-9. doi: 10.1038/nature10673.
- Egen, G.J., Kunhs, M.S. and Allison, J.P. CTLA-4: new insights into its biological function and use in tumor immunotherapy. *Nat Immunol.* 2002 Jul;3(7):611-8.
- Snyder, A. et al. Genetic Basis for Clinical Response to CTLA-4 Blockade in Melanoma. *N Engl J Med.* 2014 Dec 4;371(23):2189-99
- Gubin, M.M., et al. Checkpoint blockade cancer immunotherapy targets tumour-specific mutant antigens. *Nature.* 2014 Nov 27;515(7528):577-81
- Rizvi, N.A. et al. Mutational landscape determines sensitivity to PD-1 blockade in non-small cell lung cancer. *Science.* 2015 Apr 3;348(6230):124-8
- Bauerle, P.A. and Reinhardt, C. Bispecific T-cell engaging antibodies for cancer therapy. *Cancer Res.* 2009 Jun 15;69(12):4941-4

8. Rosenberg, S.A, Restifo, N.P, Yang, J.C, Morgan R.A. and Dudley M.E. Adoptive cell transfer: a clinical path to effective cancer immunotherapy. *Nat Rev Cancer*. 2008 Apr;8(4):299-308
9. Park, T.S., Rosenberg, S.A. and Morgan R.A. Treating cancer with genetically engineered T cells. *Trends Biotechnol*. 2011 Nov;29(11):550-7
10. Chodon, T. et al. Adoptive transfer of MART-1 T-cell receptor transgenic lymphocytes and dendritic cell vaccination in patients with metastatic melanoma. *Clin Cancer Res*. 2014 May 1;20(9):2457-65
11. Sadelain, M., Brentjens, R. and Riviere, I. The basic principles of chimeric antigen receptor design. *Cancer Discov*. 2013 Apr;3(4):388-98
12. Jensen, M.C. and Riddell, S.R. Designing chimeric antigen receptors to effectively and safely target tumors. *Curr Opin Immunol*. 2015 Apr;33:9-15
13. Gill, S. and June, C.H. Going viral: chimeric antigen receptor T-cell therapy for hematological malignancies. *Immunol Rev*. 2015 Jan;263(1):68-89
7. Westin JR, Chu F, Zhang M, et al. Safety and activity of PD1 blockade by pidilizumab in combination with rituximab in patients with relapsed follicular lymphoma: a single group, open-label, phase 2 trial. *Lancet Oncology* 2014;15:69-77
8. Lesokhin AM, Ansell SM, Armand P, et al. Preliminary results of a phase I study of Nivolumab (BMS-936558) in patients with relapsed or refractory lymphoid malignancies. *Blood* 2014;124:291
9. Postow MA, Callahan MK, Wolchok JD, et al. *J Clin Oncol* 2015; 33:1974-82
10. Hawkes EA, Grigg A, Chong G. Programmed cell death-1 inhibition in lymphoma. *Lancet* 2015; 16:e234-45

Inhibidores de los Puntos de Control Inmune.

Ana Lisa Basquiera

1. Eyre TA, Collins GP. Immune checkpoint inhibition in lymphoid disease. *Br J Haematol* 2015; doi: 10.1111/bjh.13397. [Epub ahead of print]
2. Wolchok J, Chan TA. Cancer: Antitumour immunity gets a boost. *Nature* 2014; 515: 496-8
3. Ansell S, Lesokhin AM, Borrello I, et al. PD-1 blockade with nivolumab in relapsed or refractory Hodgkin's lymphoma. *New Engl Med* 2015; 372:311-9
4. Moskowitz CH, Ribrag V, Michot J-M, et al. PD-1 blockade with the monoclonal antibody pembrolizumab (MK-3475) in patients with classical Hodgkin lymphoma after brentuximab vedotin failure: preliminary results from a phase 1b study (KEYNOTE-013) [abstract]. *Blood* 2014;124(21). Abstract 290.
5. Ansell SM, Hurvitz SA, Koenig PA. Phase I Study of Ipilimumab, an Anti-CTLA-4 Monoclonal Antibody, in Patients with Relapsed and Refractory B-Cell Non-Hodgkin Lymphoma. *Cancer Cell* 2009; 15:6446-53
6. Armand P, Nagler A, Weller EA, et al. Disabling immune tolerance by programmed death-1 blockade with pidilizumab after autologous hematopoietic stem-cell transplantation for diffuse large B-cell lymphoma: results of an international phase II trial. *J Clin Oncol* 2013; 31: 4199-206

CAR-T cells.

Flavio Albarracín

1. Davila ML, Bouhassira DC, Park JH, et al. Chimeric antigen receptors for the adoptive T cell therapy of hematologic malignancies. *Int J Hematol*. 2014 Apr;99(4):361-71.
2. Davila ML, Riviere I, Wang X, et al. Efficacy and toxicity management of 19-28z CAR T cell therapy in B cell acute lymphoblastic leukemia. *Sci Transl Med*. 2014 Feb 19;6(224):224ra25.
3. Kochenderfer JN, Dudley ME, Feldman SA, et al. B-cell depletion and remissions of malignancy along with cytokine-associated toxicity in a clinical trial of anti-CD19 chimeric-antigen-receptor-transduced T cells. *Blood*. 2012 Mar 22;119(12):2709-20.
4. Kalos M, Levine BL, Porter DL, et al. T cells with chimeric antigen receptors have potent antitumor effects and can establish memory in patients with advanced leukemia. *Sci Transl Med*. 2011 Aug 10;3(95):95ra73.

Anticuerpos biespecíficos. Blinatumomab.

Nicolás Cazap

1. Baeuerle PA, Reinhardt C. Bispecific T-cell engaging antibodies for cancer therapy. *Cancer Res*. 2009 Jun 15;69(12):4941-4.
2. Fielding AK. Outcome of 609 adults after relapse of acute lymphoblastic leukemia (ALL): an MRC UKALL 12/ECOG 2993 study. *Blood* 2007.
3. Topp MS. Targeted therapy with the T-cell-engaging antibody blinatumomab of chemotherapy-refractory minimal residual disease in B-lineage acute lymphoblastic leukemia patients results in high response rate and prolonged leukemia-free survival. *J Clin Oncol*. 2011 Jun 20;29(18):2493-8

4. Topp MS. Long-term follow-up of hematologic relapse-free survival in a phase 2 study of blinatumomab in patients with MRD in B-lineage ALL. *Blood*. 2012 Dec 20;120(26):5185-7
5. Topp MS. Safety and activity of blinatumomab for adult patients with relapsed or refractory B-precursor acute lymphoblastic leukaemia: a multicentre, single-arm, phase 2 study. *Lancet Oncol*. 2015 Jan;16(1):57-66
6. Gokbuget N, Stanze D, Beck J, et al, for the German Multicenter Study Group for Adult Acute Lymphoblastic Leukemia. Outcome of relapsed adult lymphoblastic leukemia depends on response to salvage chemotherapy, prognostic factors, and performance of stem cell transplantation. *Blood* 2012; 120: 2032–41.)
7. <http://www.fda.gov/NewsEvents/Newsroom/PressAnnouncements/ucm425549.htm>