

CON EL PATROCINIO DE



MÁS SUBTIPOS DE
LINFOMAS SUMAN
INDICACIONES DE
LAS CAR-T

PÁG. 4

RESULTADOS DE
DOS AÑOS DE LA
TERAPIA CAR
EN ESPAÑA

PÁG. 6

ENTREVISTA A
SÓNIA GUEDAN,
CIENTÍFICA DEL
IDIBAPS

PÁG. 7

EL 'CORTE' CRISPR DISEÑA LAS CAR-T

LA REVISTA DE LAS TERAPIAS AVANZADAS, ENERO 2021

DIANA

UNA TECNOLOGÍA DE NOBEL SE ALIA CON LAS

CAR-T

Parece un trabalenguas, pero era cuestión de tiempo que la técnica de edición genética CRISPR y la terapia con células CAR-T trabajaran juntas. Ambas han marcado la medicina del siglo XXI y ahora pueden firmar una generación de CAR-T más específicas y eficientes

POR SONIA MORENO MADRID

TRAS REVOLUCIONAR LOS LABORATORIOS DE bioingeniería de todo el mundo, la herramienta de edición genética CRISPR/Cas9 ya tiene un Premio Nobel (Química de 2020, a las científicas Jennifer Doudna y Emmanuelle Charpentier). Mientras, la terapia celular con linfocitos CAR-T ha llevado la esperanza a muchas personas afectadas por enfermedades hematológicas que antes de su llegada no tenían ninguna opción terapéutica.

La alianza es beneficiosa por partida doble. Por un lado, la tecnología CRISPR puede ayudar a optimizar a los linfocitos T autólogos con CAR que, si bien obtienen muy buenos resultados en ciertos cánceres de sangre, no son eficaces en todos los pacientes. Por otro lado, la preparación *ex vivo* de los linfocitos permite ensayar este corte genético sin los riesgos que plantea, por el momento, su uso directamente en el enfermo. Así parece reflejarlo la plataforma internacional de ensayos *clinical-trials.gov*, donde, de los más de 40 estudios clínicos con tecnología CRISPR registrados, casi la mitad utilizan esta herramienta para editar de alguna forma a los linfocitos T como tratamiento en diver-

sos tipos de cáncer. La modificación de las células T mediante la edición del genoma se ha explotado con varios propósitos en el campo de la terapia celular adoptiva.

El objetivo es conseguir –mediante la supresión de genes– una nueva generación de células CAR-T más potentes o bien productos universales, evitando así la enfermedad de injerto contra receptor y dando el salto al uso *off-the-shelf*: células listas para administrar en cualquier paciente. “La alta eficiencia de la edición de genes y la flexibilidad general del sistema CRISPR/Cas9 lo convierten en la herramienta más relevante para editar con precisión y rapidez un gran número de células T que se utilizarán en terapia celular adoptiva”, se expone en una revisión reciente en *Frontiers in Immunology* realizada por investigadores del Hospital Universitario de San Rafael, en Milán.

Entre los enfoques actuales para mejorar la terapia CAR-T, destacan los dirigidos a modificar algunas moléculas que les frenan para evitar su sobreactuación y garantizar la seguridad. Es el caso de la proteína 1 de muerte celular

programada (PD-1) y su ligando PD-L1, apunta Sandra Rodríguez, jefa de la Unidad de Citogenética Molecular del Centro Nacional de Investigaciones Oncológicas (CNIO). El equipo de esta científica investiga en aplicar la técnica CRISPR para destruir las células tumorales eliminando sus genes de fusión. Según explica de forma sencilla sobre el eje PD-1/PD-L1, “el tumor puede aprovechar esos frenos para esconderse de la célula inmune. De ahí que al eliminarlos de la célula T, se logre una célula más eficiente”. Si, además, se elimina la expresión del receptor endógeno de las células T (TCR), se evita la potencial competencia entre este y el receptor transgénico CAR. “Al borrar los rasgos propios del linfocito T, los elementos introducidos están representados al máximo, de forma que se logra una célula CAR-T más específica a la hora de dirigirse al tumor”. Esta es la estrategia planteada por el grupo de Carl June, de la Universidad de Pensilvania, y publicada en *Science*, con la que realizaron tres cortes concretos en los linfocitos T: los genes que codifican PD-1 y las cadenas alfa y beta del TCR. Los linfocitos T modificados con



TAMBIÉN EN ANEMIAS HEREDITARIAS

La edición CRISPR-Cas9 se está utilizando en el tratamiento de otras enfermedades hematológicas. En la reunión anual de la Sociedad Americana de Hematología (ASH), celebrada en formato telemático, y coincidiendo con la publicación en *The New England Journal of Medicine*, se aportaron los resultados de seguimiento de varios pacientes con beta-talasia y anemia de células falciformes. El tratamiento administrado también consistió en la edición con CRISPR/Cas9 *ex vivo* de la región potenciadora eritroide de BCL11A en células madre y progenitores hematopoyéticos. Como resultado, aumentó en los pacientes la hemoglobina fetal, supliendo así el déficit de esta proteína.

Antes del tratamiento, los pacientes con beta-talasia necesitaban transfusiones cada mes y los pacientes con anemia drepanocítica sufrían crisis vasculares con dolor intenso también con regularidad. Después del tratamiento, ninguno de los pacientes con talasemia ha necesitado transfusiones, ni los pacientes con anemia falciforme han experimentado crisis.

Otra posibilidad que se indaga, esta vez de la mano del grupo de Michel Sadelain en el Centro del Cáncer Memorial Sloan Kettering, en Nueva York, consiste en servirse de la precisión de CRISPR para insertar el CAR en el lugar deseado. Al mismo tiempo que CRISPR corta genes específicos del linfocito, se puede administrar el fragmento de ADN que tenga homología con la secuencia cortada e insertarla en esa posición. Con esa premisa, estos investigadores eliminaron el gen del receptor endógeno de las células T y en ese sitio situaron el CAR, mediante un virus adeno-asociado que no se integra (aunque podría hacerse mediante otro vector, como un plásmido). De esta forma, se consigue que todas las células T expresen el CAR bajo el promotor del TCR. Es una inserción dirigida del CAR, un concepto que, quizá, seguirá desarrollándose en los próximos años.

Sin duda, una aplicación de la edición genética con CRISPR que podría dar un vuelco al campo sería poder fabricar células CAR-T

Siguiendo esa línea de investigación, en el último congreso de la Sociedad Americana de Hematología (ASH), Marco Ruell, del grupo de Pensilvania, presentó resultados de un experimento en el que eliminaron con CRISPR/Cas9 el gen CD5 –codificador de la proteína homónima de la superficie de los linfocitos T, y una de las moléculas que puede inhibir su activación– de las células CAR-T. Las células resultantes exhibieron una mayor proliferación en sangre periférica y una mayor reducción del tamaño del tumor, así como más supervivencia en modelo experimental de leucemia y linfoma. Esta vez los resultados se obtuvieron con ratones, pero este equipo espera iniciar pronto un ensayo clínico en esta dirección.

CRISPR se emplearon en tres pacientes que tenían cáncer metastásico refractario avanzado (uno de ellos había recibido ocho líneas previas de quimioterapia y tres, trasplantes de médula ósea), y se obtuvo respuesta en dos.

Raúl Torres, investigador en la Unidad de Citogenética Molecular, destaca que, “además de aumentar la especificidad, se consigue hacer crecer la vida media de los linfocitos”. Torres recuerda que, en concreto, en este estudio se recuperaron linfocitos en la sangre de los pacientes meses después de haberlos introducido.

alógicas. “A menudo los pacientes que van a recibir terapia CAR-T han sido tratados y tienen poca cantidad de linfocitos T o estos son de baja calidad, por lo que no pueden utilizarse para producir células CAR-T a partir de ellos. Una posible solución es utilizar linfocitos T alogénicos de un donante sano. El problema de utilizar esos linfocitos es que podrían reconocer los tejidos del paciente como “extraños” y atacarlos (reacciones de injerto contra receptor); para evitar esto es necesario inhibir el TCR de los linfocitos T que infundes, ya que el reconocimiento de los antígenos se hace a través de este receptor. Una de las técnicas para eliminar el TCR es, efectivamente, editar su expresión génica con CRISPR”, comenta Lucía Fernández, de la Unidad de Investigación Clínica de Tumores Hematológicos H120-CNIO.

Esta investigadora apunta otra posibilidad en la que están trabajando: “Utilizar otra fuente de células inmunes con capacidad citotóxica que no sean alorreactivas, es decir, que sin capacidad de reconocer como extraños los tejidos del receptor, como pueden ser las NK o el uso de linfocitos T de memoria (CD45RA-), como hacemos en el laboratorio, o linfocitos T específicos de virus”. La estrategia, además de facilitar el acceso de la terapia a más pacientes, topa con algunas peculiaridades. “En la terapia alogénica, una vez recuperada la inmunidad del receptor, lo más probable es que los linfocitos T alogénicos se “pierdan”, porque los linfocitos T autólogos los reconocerán como extraños. Las NK también han mostrado poca capacidad de expandirse *in vivo* una vez infundidas. Este agotamiento puede ser perjudicial si ocurre demasiado rápido y no da tiempo a eliminar el tumor, pero por otro lado, puede ser beneficioso por el hecho de que puede evitar toxicidad. En caso de que la terapia CAR-T o CAR NK se agote demasiado rápido, la posible solución pasaría por hacer infusiones periódicas de la terapia celular”, considera Fernández.

Para que CRISPR llegue a la clínica, de una u otra forma, habrá que acreditar la seguridad. A pesar de su alta precisión, esta técnica no está exenta de generar cortes inespecíficos que pueden conducir a la activación de genes promotores de cáncer o, al contrario, eliminar genes que lo suprimen. Como recuerda Rodríguez, “con el lentivirus [el vector que se utiliza para insertar el CAR en la célula] no se ha visto en ningún linfocito T que haya habido una integración inadecuada. Pero con el CRISPR haces cortes y puede que aparezca alguno *off target*. Todavía hay que andar el camino de la seguridad antes de que se extienda este uso en la clínica”.

LOS LINFOCITOS CAR-T DAN EL SALTO A MÁS LINFOMAS

La disponibilidad de los dos primeros fármacos con CAR-T para tratar el linfoma difuso de célula grande en recaída ha elevado la supervivencia en estos pacientes. Los datos de seguimiento a largo plazo, actualizados en la última reunión de la Sociedad Americana de Hematología (ASH), clarifican su alcance y seguridad en los enfermos. Además, otros tipos de linfoma, como el de célula del manto, se van a beneficiar de esta terapia avanzada de linfocitos CAR-T dirigidos contra el antígeno CD19

POR S. MORENO
ILUSTRACIÓN MIRYAM VEROS

LOS LINFOCITOS T QUE INCORPORAN un receptor de antígeno quimérico (CAR) dirigidos a CD19 han revolucionado el tratamiento del linfoma más frecuente, aumentando la tasa de curación de este cáncer de un 10 al 40%. Pero además de en linfoma B difuso de célula grande, otros tipos de este cáncer hematológico que se van a beneficiar de las CAR-T son el linfoma de célula del manto y el linfoma de célula B indolente. Mientras la terapia avanzada alcanza a más subtipos de linfoma, se van conociendo cada vez más datos sobre la efectividad en vida real y la seguridad de estos tratamientos en sus indicaciones ya aprobadas.

La primera gran indicación, dentro de los linfomas, de las CAR-T es el linfoma B difuso de célula grande, para el que hay dos productos con indicación aceptada y financiada en nuestro país: tisagenlecleucel (tisa-cel) y axicabtagén ciloleucel (axi-cel), este último también está indicado en linfoma B primario mediastínico de células grandes. "Son fármacos que se están situando en todos los algoritmos terapéuticos de este linfoma refractario a dos líneas de tratamiento", apunta María José Terol, jefa de Sección del Área de Síndrome Linfoproliferativo del Servicio de Hematología del Hospital Clínico Universitario de Valencia. Su administración debe realizarse tras la aprobación específica de un comité científico y

en los centros acreditados para este fin.

"En estos linfomas, con el tratamiento convencional podemos curar las dos terceras partes de los casos, pero cuando el paciente no responde o recae al tratamiento de inmuno-quimioterapia, ni tampoco a una quimioterapia de rescate, estaría indicada la terapia con CAR-T", detalla Armando López-Guillermo, consultor sénior de Hematología en el Hospital Clínico de Barcelona. Ambos especialistas destacan que los pacientes donde se indica el tratamiento presentaban, antes de la llegada de la terapia CAR, una supervivencia del 10%.

CUATRO AÑOS. Los últimos datos de seguimiento de estos tratamientos, que se han actualizado en la reciente reunión de la Sociedad Americana de Hematología (ASH), el encuentro más importante de la Hematología mundial, indican que el tratamiento con axi-cel, que es el fármaco que más tiempo tiene de introducción en el mercado con esta indicación, consigue una tasa del 44% de pacientes vivos y libres de enfermedad a los cuatro años, y la administración de tisa-cel, una tasa de alrededor del 36% a tres años, "cifras que suponen una ganancia muy importante en estos pacientes, que con las terapias previas a las células CAR-T vivían una mediana de seis meses", recuerda Terol.

El manejo de la toxicidad de estos tratamientos también se va perfilando con la experiencia. Los principales efectos no deseados son el síndrome de liberación de citocinas y la neurotoxicidad, "que

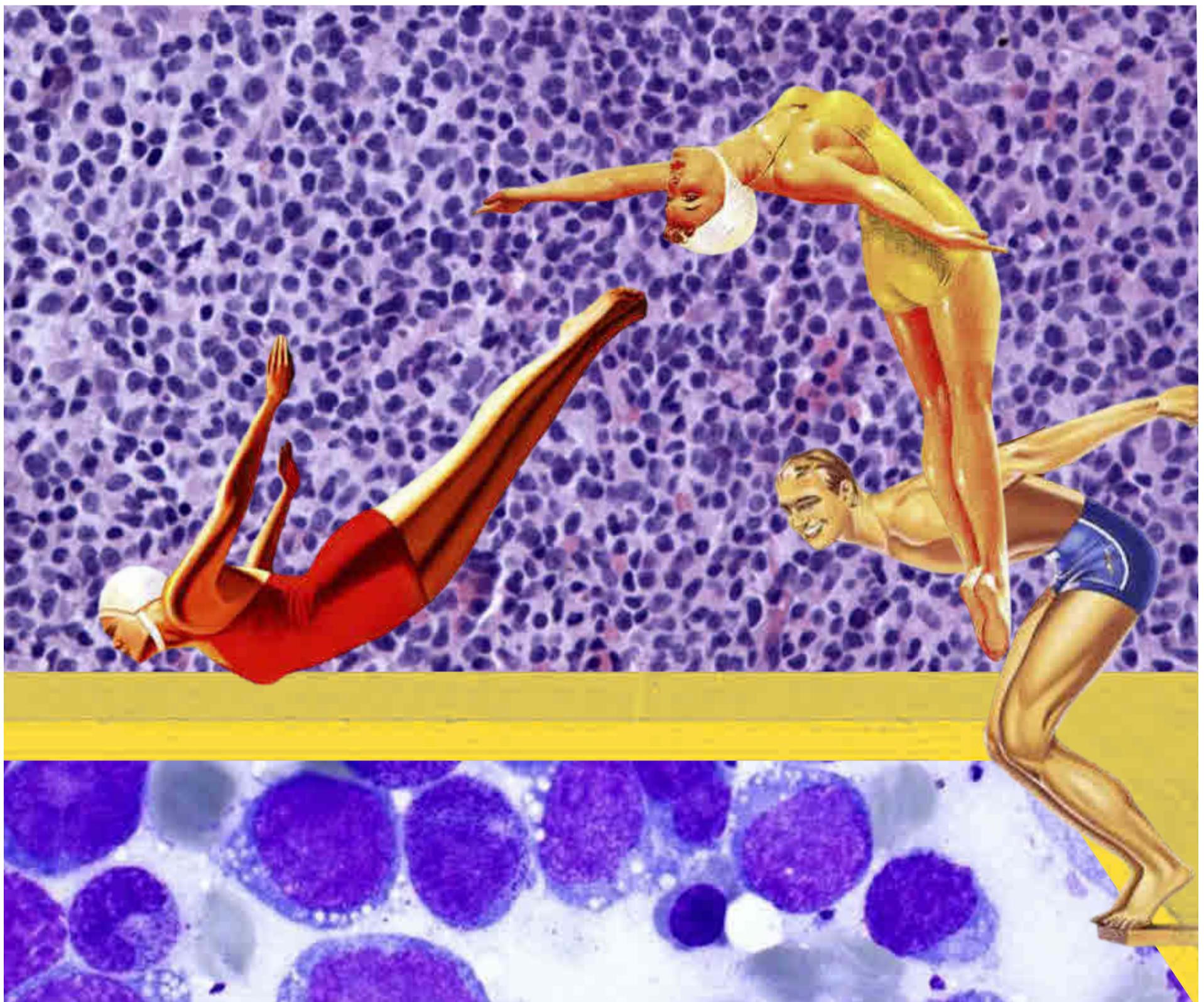
pueden ser graves y, de hecho, existe un pequeña mortalidad asociada, pero no es comparable a la toxicidad que puede generarse con un trasplante hematopoyético alogénico. Las células CAR-T se toleran mucho mejor, y sus toxicidades son agudas, se pueden resolver en días", comenta el también vicepresidente de la Sociedad Española de Hematología y Hemoterapia (SEHH) López-Guillermo. Con todo, si bien la edad en sí misma no es un factor que excluya la inmunoterapia, es fundamental el estado general del paciente al recibir las CAR-T, y que no tenga ninguna comorbilidad limitante.

Terol apunta que en la reunión de ASH también se han presentado datos sobre la introducción más precoz de estas terapias. "En el estudio ZUMA-12 se administra axi-cel prácticamente en primera línea para linfoma B de alto grado o difuso de célula grande muy agresivos, en un nicho de pacientes con peor pronóstico, obteniendo un elevado porcentaje de respuestas completas. Además, este trabajo muestra que las características del producto son mejores, pues los linfocitos T se han recogido en un momento de la enfermedad en que la inmunidad no está muy alterada. Todo sugiere que al introducir estas terapias antes, mejorará la eficacia".

Para la especialista, la información aportada por este tipo de estudios ayuda a completar el puzzle de esta terapia avanzada, que recoge el concepto de la terapia génica, la celular y la inmunoterapia. "Empezamos a conocer qué factores se asocian a que un pa-

Todo sugiere que adelantar esta línea terapéutica obtendría aún mejores resultados

En pacientes con linfoma del manto refractarios, la terapia CAR-T está aumentando la supervivencia



ciente se cure con las CAR-T", afirma Terol. Un factor que puede tenerse en cuenta es poder detectar en sangre al linfocito con CAR a largo plazo. "Pensamos que el hecho de que el linfocito no termine de desaparecer parece estar relacionado con el estado basal del paciente. Si la recogida de los linfocitos se produce cuando el enfermo ya ha pasado por varias líneas de tratamiento, estas células han perdido capacidad de proliferar y de funcionar. Es otro argumento para introducir la terapia antes".

OTRAS HISTOLOGÍAS. Todo apunta a que las CAR-T se empezarán a administrar en nuestro medio en otras histologías del linfoma. El caso más evidente es el linfoma de células del manto, que ya ha recibido una autorización de comercialización condicional de la Comisión Europea. El linfoma

de célula del manto supone un 6-10% del total de los linfomas, repasa López-Guillermo, "pero aunque conseguimos respuesta con los tratamientos actuales, con bastante frecuencia el paciente recae y acaba falleciendo. Incluso empezando por el tratamiento más intensivo (basado en quimioterapia y autotrasplante), existe un elevado riesgo de recaída, con lo que ello supone de limitación de las opciones terapéuticas. En la última reunión de la ASH se ha mostrado que una terapia CAR-T anti-CD19 en estos pacientes consigue tasas de respuesta muy elevadas. Esto no equivale a la curación, pues aún hace falta más seguimiento para determinarlo, pero son datos esperanzadores".

Para Terol es destacable que en pacientes resistentes a dos líneas de tratamiento—incluida la administración de un inhibidor de tirosina cinasa de Bruton (BTK)— se

alcance una supervivencia de más del 50% al año y medio, "cuando con otros tratamientos la mortalidad llega a la mitad a los nueve meses". Con todo, estos especialistas puntualizan que, dada la novedad de esta indicación, aún hay que esperar a tener datos de seguimiento más largo.

Otro tipo de linfoma donde también se va a colocar la terapia CAR es el indolente, que agrupa el linfoma folicular y el linfoma de la zona marginal. "Un estudio ha mostrado un 76% de respuestas completas, lo que indica que desaparece el tumor y que se suele correlacionar con supervivencia. También se ha constatado que el perfil de seguridad es algo más favorable que en el linfoma difuso de células grande", resume la hematóloga.

También a los dos fármacos ya aprobados en linfoma es de esperar que se sume un tercer produc-

Entre las siguientes indicaciones de la terapia CAR en llegar puede estar el linfoma indolente

to, lisocabtagene maraleucel (lisocel), un CAR-T anti-CD19 también para linfoma difuso de célula grande y, probablemente, linfoma folicular. A ello se añade, además, las posibilidades que ofrecen los llamados CAR-T académicos, resalta López-Guillermo. "En el Clínic, contamos con un CAR-T frente al antígeno CD19 que se emplea, como uso compasivo, en los casos que ahora quedan fuera de la indicación de los aprobados comercialmente, como la leucemia linfoblástica aguda en personas mayores de 25 años, o en el linfoma del manto". De cara al futuro, el especialista confía en que las nuevas generaciones de CAR-T no dependan de las células del paciente para su fabricación, algo que complica y encarece todo ese proceso. "A medio plazo, seguramente se dispondrá de CAR-T alogénico, lo que sin duda favorecerá su acceso a más pacientes.

ESTUDIOS EN CURSO

DOS AÑOS DE CAR-T

RESULTADOS

Un tercio de los pacientes tratados con CAR-T habría obtenido respuesta completa según el censo de casos analizados tras dos años del plan

EL MINISTERIO DE SANIDAD HA aprobado el segundo balance del Plan para el abordaje de las terapias avanzadas en el Sistema Nacional de Salud, que cumple ya dos años.

Tras los resultados muy preliminares incluidos en el balance anterior, de mayo de 2020, el nuevo estudio fechado a 1 de diciembre contempla ya los resultados clínicos obtenidos en casi un centenar de pacientes tratados con CAR-T.

Concretamente, se ha estudiado la respuesta en 96 pacientes a los que se administraron CAR-T y según el balance ministerial un tercio de ellos obtuvo una respuesta positiva. Más en detalle, de los 96 pacientes estudiados, 37 de ellos fallecieron pese al tratamiento (24 de ellos a los tres meses o antes y 13 antes de los 18 meses desde la administración) y 21 progresaron precozmente (14 antes de los 3 meses). Sin embargo, 31 de los 96 pacientes tratados con CAR-T presentaron una respuesta comple-

ta (23 a los 3 meses o antes, 4 antes de un año y el resto antes de 18 meses), 3 tuvieron respuesta completa con recuperación hematológica incompleta y otros 4 tuvieron respuesta parcial.

Analizando los resultados por patologías puede observarse que en el caso de pacientes con linfoma B difuso de célula grande (LBDCG), el 68% (45 pacientes) fallecieron o progresaron tras la administración del tratamiento con CAR-T. En el caso de los pacientes con linfoma primario mediastínico (LPM), el 22% fallecieron o progresaron tras la administración de la terapia. Finalmente, el 52% de aquellos con leucemia linfoblástica aguda de células B (LLA-B) que fueron tratados con las terapias avanzadas fallecieron o progresaron precozmente.

OBJETIVO: SEGUIR MEJORANDO LOS TIEMPOS DESDE LA SOLICITUD HASTA LA ADMINISTRACIÓN DEL TRATAMIENTO CAR-T

El segundo balance del Plan de Terapias Avanzadas del SNS dedica buena parte del esfuerzo de análisis a los tiempos que han transcurrido desde la solicitud de los tratamientos y hasta la

Junto a estos primeros datos de resultados clínicos en el uso real de terapias avanzadas, el balance ministerial sobre los dos primeros años del plan analiza también la evolución de las solicitudes de tratamiento con CAR-T y los plazos administrativos para su autorización.

Los datos muestran que en casi dos años, hasta el 31 de octubre, se han realizado 386 solicitudes para el tratamiento de pacientes con CAR-T.

Estas solicitudes preceden de las 17 comunidades autónomas y habrían sido instadas por un centenar de hospitales diferentes (104 hospitales en concreto).

El mayor número de solicitudes de tratamiento con CAR-T se habría producido en Cataluña (18%), seguida de Andalucía (17%), Madrid (16%), Valencia

(10%), Castilla y León (6%), Galicia (5,7%) y Castilla-La Mancha (5%).

De todas estas solicitudes, el grueso (81%) fueron pacientes con linfoma. Las solicitudes de tratamiento con CAR-T se produjeron en situación de urgencia vital en casi el 45% de los casos de LLA-B y en casi el 30% de los casos de linfoma. En ambos casos el 87% de las solicitudes obtuvieron un resultado favorable al tratamiento con CAR-T.

Concretamente, de las 386 solicitudes, 313 fueron susceptibles de aféresis aun cuando sólo se tienen datos de 239 realmente realizadas. El informe cifra finalmente en 182 las administraciones de tratamiento de medicamentos CART (el 89% de los casos susceptibles de tratamiento), 36 pacientes con LLA-B y 146 pacientes con linfoma.

administración real de éstos en los pacientes, una cuestión fundamental teniendo en cuenta que más de un tercio de los casos son por urgencia vital. En concreto, se ha estimado una media de $19,25 \pm 12,95$ días (media de días \pm DE) desde la solicitud del tratamiento con CAR-T hasta la aféresis en las 239 aféresis de las que se tiene conocimiento. Desde esa aféresis al tratamiento transcurren además de media

otros $52,47 \pm 20,87$ días en los 182 tratamientos realmente administrados sobre los que hay datos. En conjunto, desde la solicitud de un tratamiento hasta que realmente se ha administrado se tardan una mediana de 67 días (40-250) y una media de días (\pm DE) de $70,24 \pm 23,11$. El informe no ha detectado diferencias en esos tiempos en función de si se trata de pacientes derivados o tratados en su propio hospital.

UN GEN DEL

RELOJ

INTERNO CONTRA EL CÁNCER

ALGUNOS ESTUDIOS HAN RELACIONADO la alteración de nuestro ritmo circadiano por privación de sueño con una mayor incidencia de algunos tipos de cáncer, incluido el de próstata. Un equipo de investigadores encabezado por Karen Knudsen, del Centro del Cáncer Sidney

Kimmel (SKCC), ha explorado los genes implicados en ese reloj interno del organismo hasta dar con uno que tiene un papel inesperado en la progresión del cáncer. Se trata del gen *CRY-1*, que según publican en *Nature Communications*, puede tener un papel en el aumento del tumor de próstata en estadios avanzados, además de asociarse a malos resultados.

Estos investigadores probaron el potencial papel de *CRY-1* en la reparación del ADN en células en cultivo, así como en modelos animales y en tejido extraído de pacientes con cáncer de próstata. Primero indu-

jeron daño en el ADN y encontraron que los niveles de *CRY-1* se elevaron, lo que indica que estaba respondiendo a este tipo de lesión. También encontraron que el gen regula directamente la disponibilidad de factores esenciales para el proceso de reparación del ADN y altera los medios por los cuales las células tumorales responden al daño del ADN. Los hallazgos sugieren que *CRY-1* puede ofrecer un efecto protector en ese proceso.

Por ello, concluyen que el hecho de que *CRY-1* esté elevado en el cáncer de próstata en etapa avanzada puede explicar por qué los tratamientos

dirigidos a andrógenos se vuelven ineficaces en estadios posteriores. También, apuntan que si un tumor tiene altos niveles de *CRY-1*, los tratamientos dirigidos a la reparación del ADN pueden ser menos efectivos.

Al margen de las líneas de investigación que este estudio abre para analizar el vínculo entre el reloj circadiano y el cáncer, el equipo planea explorar la mejor forma de atacar y bloquear al gen *CRY-1* y qué otras terapias existentes pueden funcionar de manera sinérgica para dificultar la reparación del ADN en las células del cáncer de próstata.

REFORZAR LAS

SEÑALES

INMUNES

¿QUE AYUDA A LAS CÉLULAS TUMORALES a sobrevivir? En parte, la respuesta puede estar en una molécula situada en el exterior de las células del cáncer, que destruye las señales de advertencia dirigidas al sistema inmunitario. Esta explicación se desprende de un trabajo del laboratorio de Samuel Bakhoum, en el Centro del Cáncer Memorial Sloan Kettering, presentado en *Cancer Discovery*. Ayudaría a explicar por qué algunos tumores no responden a la inmunoterapia, además de sugerir formas de sensibilizar los tumores a esta forma de tratamiento.

La molécula en cuestión recibe el nombre de cGAS-STING: cuando el ADN de un virus (o un cromosoma tumoral inestable) aterriza en el citoplasma de una célula, cGAS se une a esta molécula y forma otra llamada cGAMP, que sirve como señal de advertencia. Dentro de la célula, esa señal de advertencia activa a su vez una respuesta inmune (STING), que aborda el potencial invasor vírico. Además, gran parte del cGAMP viaja fuera de la célula, donde sirve como señal de advertencia para las células inmunes vecinas, desatando un ataque inmunológico contra la infección por virus.

La investigación muestra cómo las células tumorales hacen frente a las señales de advertencia que activaron las liberaciones de cGAS-STING en el microambiente, donde una proteína (ENPP1) destruye las señales evitando que lleguen a las células inmunes.

Mediante una serie de experimentos llevados a cabo en modelos experimentales y celulares de cáncer de mama, pulmón y colorrectal, estos científicos han demostrado que ENPP1 actúa como un interruptor de control para la supresión inmunológica y la metástasis. Encenderlo suprime las respuestas inmunes y aumenta la metástasis; apagarlo habilita las respuestas inmunes y reduce la metástasis.

Varias compañías ya están interesadas en desarrollar inhibidores de ENPP1, que podrían aumentar la sensibilidad en algunos cánceres a la inmunoterapia con bloqueo de puntos de control.

Sònia Guedan investiga en la aplicación de la terapia CAR-T en tumores sólidos en el Idibaps.



Sònia Guedan contribuyó a crear el virus oncolítico que ya ha curado el cáncer de retina en un niño. Además, esta científica aprendió a construir células CAR-T de la mano de sus pioneros. Ahora planea el siguiente *asalto* de las CAR: los tumores sólidos

POR SONIA MORENO FOTO JAUME COSIALLS

DESDE EL GRUPO DE GENÓMICA traslacional y terapias dirigidas en tumores sólidos, del Instituto de Investigaciones Biomédicas August Pi i Sunyer (Idibaps), Sònia Guedan trabaja para que uno de los medicamentos de vanguardia, los linfocitos CAR-T, pueda beneficiar a más pacientes más allá del cáncer hematológico. **PREGUNTA:** ¿Cómo llega a la investigación en terapia CAR-T? **RESPUESTA:** Estudié Farmacia porque me gustaban los medicamentos, pero enseguida vi que en lugar de a la farmacología clásica, quería trabajar en nuevos tratamientos con ingeniería genética. Durante mi tesis, dirigida por Ramón Alemany (del Instituto Catalán de Oncología, ICO), construimos un virus oncolítico –modificado genéticamente para eliminar cáncer– que, por cierto, se acaba de usar con éxito para curar el retinoblastoma en un niño. Después, me uní al grupo de Carl June, en la Universidad de Pensil-

vania, donde estaban poniendo a punto un tratamiento con linfocitos T modificados para expresar un antígeno quimérico (CAR), una forma de inmunoterapia contra el cáncer. La verdad es que he tenido dos mentores de lujo. **P:** En Pensilvania habrá vivido cómo despuntaron las CAR-T. **R:** Cuando llegué, en 2010, el laboratorio de June ya tenía puesto a punto el CAR anti-CD19, y a los tres meses trataron al primer paciente con leucemia linfocítica crónica consiguiendo una respuesta completa. Y ahí empezó el *boom*. Desde el principio, yo me uní a la investigación en CAR-T para tumores sólidos, y durante los dos últimos años llevé el grupo, hasta 2017. Sobre todo hacíamos CAR contra mesotelina, que se expresa en mesotelioma y otros tipos de cáncer (pulmón, ovario, páncreas). También tratábamos de entender el funcionamiento básico de los CAR, en especial los dominios de coestimulación, que son clave para la activación del

linfocito T, y la principal diferencia entre las CAR-T actuales.

P: Ahora en el Idibaps, ¿cuál es su objetivo?

R: El Hospital Clínic ha hecho una apuesta decidida por la terapia con CAR-T. En mi grupo estamos centrados en el cáncer de mama, con HER2 como antígeno, también en mesotelina, y en otros antígenos nuevos. Además, buscamos estrategias para mejorar la seguridad y eficacia de las CAR-T. En concreto, con modificaciones en los dominios de coestimulación para aumentar la persistencia celular.

P: ¿Es la determinación de antígenos válidos el principal obstáculo para que las CAR-T lleguen al tumor sólido?

R: Es una de las principales limitaciones, porque muchos de los antígenos de superficie que estudiamos se expresan en un nivel elevado en el tumor, pero también pueden hacerlo, en un nivel más bajo, en el tejido sano. Las células CAR-T son muy potentes y pueden generar toxicidades; por ello tenemos que encontrar la ventana terapéutica para extraer su eficacia con toxicidades controlables.

P: Otro escollo es la densidad de los tumores, ¿cómo superarlo?

R: Para modular ese microambiente del tumor, en el que hay diferentes tipos celulares como fibroblastos y células inmunosupreso-



LOS TUMORES QUE EXPRESAN MESOTELINA PUEDEN SER LOS PRIMEROS EN TENER UN TRATAMIENTO CON CAR-T ”



COMBINAR CÉLULAS CAR-T CON VIRUS ONCOLÍTICO PARECE UNA ESTRATEGIA ÚTIL EN TUMORES SÓLIDOS”



PARA AUMENTAR LA EFICACIA DE LAS CAR-T, BUSCAMOS MEJORAS EN LOS DOMINIOS DE COESTIMULACIÓN”

ras que pueden entorpecer la acción de las CAR-T, una estrategia que propusimos en Pensilvania fue combinar CAR-T con el virus oncolítico. Nuestro sistema inmunitario no está *acostumbrado* a reconocer al cáncer como algo extraño, pero sí a un virus, por lo que al introducirlo en el tumor cambia el microambiente y favorece la actividad de las CAR-T. Es de esperar que pronto empiecen un ensayo clínico con esta estrategia de combinación, que es una de las que investigamos para modular el microambiente tumoral.

P: ¿A qué tumores cree que pueden llegar las primeras CAR-T?

R: La investigación en los tumores que expresan mesotelina y en glioblastoma está muy avanzada; en algunos casos se ha conseguido una respuesta completa. También parecen próximas las CAR-T dirigidas a HER2 en rhabdomyosarcoma, y nosotros confiamos en que en un futuro próximo las ensayemos en cáncer de mama.

P: ¿Cómo ve esta terapia en diez años?

R: Puede ser tan diversa como los tumores. La ingeniería genética permitirá abarcar varios receptores, elevar seguridad y eficacia, y en ello, CRISPR será fundamental. Puede que las CAR-T futuras no sean como las conocemos ahora, pero estoy convencida de que tendrán utilidad en tumores sólidos.

IGUAL QUE EL TRASPLANTE DE MÉDULA ÓSEA GENERALIZÓ EL USO DE LA TERAPIA CELULAR Y LAS células madre, los CAR-T están llevando a cabo un papel similar en la terapia génica. Son el resultado de la modificación genética de linfocitos T tras la introducción de un constructo genético que codifica la síntesis de un receptor antigénico unido a una señal coestimuladora y de transducción. Miles de pacientes han recibido un CAR-T como parte de su tratamiento anticanceroso.

En la última reunión anual de la American Society of Hematology - ASH 2020- se presentaron resultados preliminares de ensayos en los que se da un paso más en la transformación genética de los linfocitos T. En estos ensayos los pacientes reciben CAR-T, y no sólo se les inserta el constructo genético, sino que se eliminan genes concretos con técnicas de edición génica. La motivación para hacerlo es múltiple. Nos centraremos en los ensayos clínicos que emplean técnicas de edición génica para conseguir que CAR-T obtenidos de linfocitos T de personas sanas puedan utilizarse en cualquier paciente (CAR-T alogénicos), sin que se genere reactividad de éstos contra el receptor, ni éste los rechace.

Las dos técnicas más usadas de edición génica son *Talen* y *CRISPR-Cas9*. Se basan en el uso de unas proteínas (nucleasas) que actúan como tijeras para cortar el ADN, y en la característica intrínseca del ADN de reparar sus extremos cuando se ha producido un corte. En el caso del *Talen*, la nucleasa en sí se programa para que corte en un sitio concreto del genoma (el gen que queremos eliminar o modificar). En cambio, el *CRISPR-Cas9* tiene dos componentes independientes: la proteína Cas9, que actúa como tijera, y un ARN guía que le dice a Cas9 dónde ejercer su acción. Programar un ARN es mucho más fácil que programar una proteína. Por ello, la técnica de *CRISPR-Cas9* se está imponiendo a la de *Talen*.

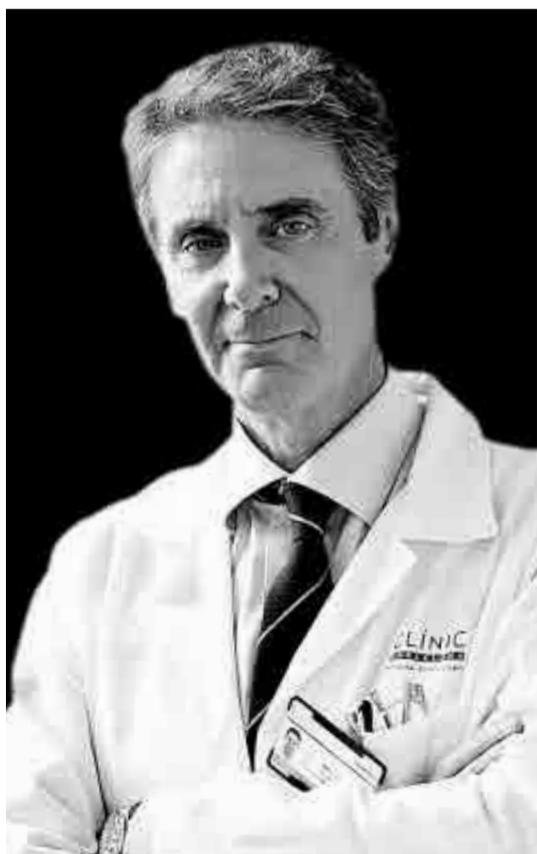
Las ventajas de los CAR-T alogénicos o universales respecto a los autólogos son notables. Entre ellas está la disposición de los CAR-T para su uso inmediato en cualquier paciente, la preparación más estandarizada y homogénea, los costes inferiores al manufacturar los CAR-T a gran escala, y la administración repetida del CAR-T si se considerara necesario. Para conseguir un CAR-T alogénico, se elimina de éste el gen que codificará las cadenas alfa y beta del receptor de células T (TcR $\alpha\beta$). Así, se evita el efecto nocivo del CAR-T contra los tejidos del receptor. Al tratarse de células alogénicas, hay un alto riesgo de que el sistema inmune del paciente las rechace y, por tanto, de que el CAR-T persista muy poco tiempo en el paciente.

Para evitar su rechazo precoz, se le administra al paciente un potente inmunosupresor, en concreto el *AcMo anti-CD52* (como el alentuzumab). Pero el anti-CD52 eliminaría también el CAR-T (los linfocitos T son CD52+). Para evitarlo, también se elimina del CAR-T el gen que codifica para CD52. En resumen, mediante edición génica se eliminan del CAR-T el TcR $\alpha\beta$, para que no ataque los tejidos del paciente, y el CD52, para poder administrar al paciente un anti-CD52 y evitar el rechazo del CAR-T.

Hay que destacar cuatro estudios presentados en ASH 2020 en los que se administran CAR-T alogénicos. Los dos primeros, el *BALLI-01*, que emplea un CAR-T universal anti CD22, y el *CTA 101*, con un CAR-T alogénico anti CD19/CD22, incluyeron pacientes con leucemia aguda linfoblástica de adulto en recaída o refractarios. En los otros dos se administran CAR-T alogénicos anti-BCMA en pacientes con mieloma múltiple en fase muy avanzada. Los cuatro tienen en común que sus resultados clínicos son preliminares, que no se observa reacción del CAR-T contra los tejidos del paciente, que los CAR-T se expanden en el paciente tras su administración, que la persistencia del CAR-T parece ser inferior a un CAR-T autólogo, que son eficaces -ya que se obtienen respuestas clínicas-, pero aparentemente tienen menor eficacia que un CAR-T autólogo, y que el seguimiento es escaso y el número de pacientes pequeño. Pero se puede extraer la conclusión de que los CAR-T alogénicos consiguen el objetivo para el que fueron diseñados. En los próximos años veremos un gran número de ensayos que los emplean, probablemente incorporando mejoras a los presentados en ASH 2020.

ÁLVARO URBANO-ISPIZUA. HOSPITAL CLINIC DE BARCELONA. UNIVERSIDAD DE BARCELONA

EDICIÓN GÉNICA EN LA TERAPIA CAR-T



EL PAPEL DE LOS CAR-T EN TERAPIA GÉNICA ES SIMILAR AL DE LA TERAPIA CELULAR EN TRASPLANTE DE MÉDULA

LAS TÉCNICAS MÁS USADAS DE EDICIÓN GÉNICA -TALEN Y CRISPR-CAS9- EMPLEAN NUCLEASAS PARA CORTAR ADN

EN LOS AÑOS DE UNIVERSIDAD solíamos contar chistes de "un biólogo, un físico y un químico", como aquel que decía: un biólogo, un físico y un químico van a la playa. El biólogo, atraído por la diversidad marina, se adentra en el océano a investigar y se lo traga el mar. El físico, asombrado con la dinámica de fluidos de las olas, sigue los pasos del biólogo y corre la misma suerte. Mientras, el químico anota en su cuaderno: "Los físicos y los químicos son solubles en agua".

La broma dibuja a los tres científicos como incapaces de percibir la amplitud de la realidad, limitándose tan sólo a su estrecha visión de especialistas. Se trata de una caricatura, por supuesto, pero todas las caricaturas tienen un fondo de realidad. Históricamente, la comunicación entre estas tres grandes ramas de las ciencias naturales ha sido bastante limitada. Durante las últimas décadas, sin embargo, físicos, químicos y biólogos han empezado a formar equipos interdisciplinares para atacar grandes problemas que trascienden sus respectivas especialidades.

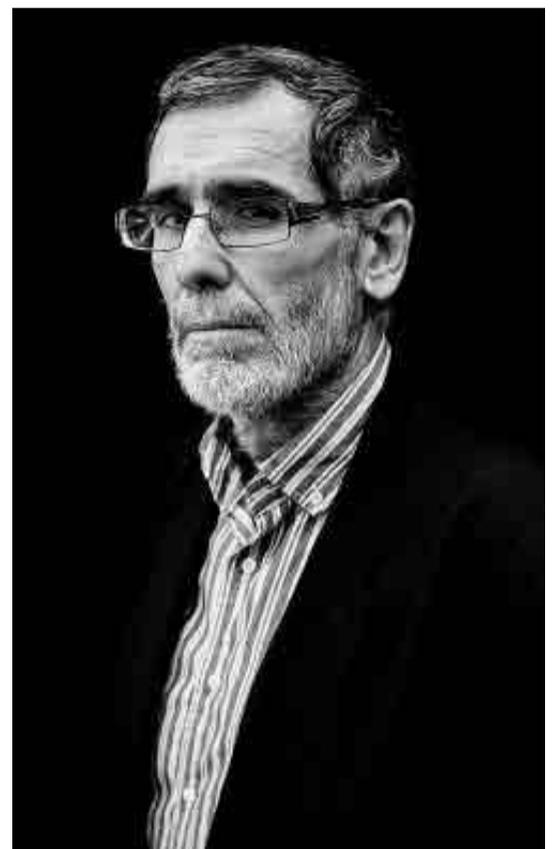
Este año, el ERC (*European Research Council*) ha concedido una de sus más prestigiosas ayudas (la llamada *Synergy Grant*), dotada con casi 10 millones de euros, a un grupo formado por un químico (F.P. Cossío, de la U. del País Vasco) y dos físicos (R. Guenette, de la U. de Harvard, y el autor de estas líneas) para desarrollar una nueva técnica de detección de átomos individuales (un detector capaz de contar átomos de uno en uno), cuyos sensores son moléculas fluorescentes, capaces de atrapar el átomo y emitir una intensa fluorescencia cuando lo hacen, avisando de la captura.

HISTÓRICAMENTE, LA COMUNICACIÓN ENTRE LAS TRES DISCIPLINAS HA SIDO MUY LIMITADA

QUÍMICOS, FÍSICOS Y BIÓLOGOS EMPIEZAN YA A FORMAR EQUIPOS MULTIDISCIPLINARES

J.J. GÓMEZ CADENAS. PROFESOR IKERBASQUE DE FÍSICA EN EL DIPC Y NOVELISTA. ACABA DE PUBLICAR 'CIUDAD SIN SUEÑO'

UN BIÓLOGO, UN FÍSICO Y UN QUÍMICO



Se trata de una caricatura, por supuesto, pero todas las caricaturas tienen un fondo de realidad. Históricamente, la comunicación entre estas tres grandes ramas de las ciencias naturales ha sido bastante limitada. Durante las últimas décadas, sin embargo, físicos, químicos y biólogos han empezado a formar equipos interdisciplinares para atacar grandes problemas que trascienden sus respectivas especialidades. Este año, el ERC (*European Research Council*) ha concedido una de sus más prestigiosas ayudas (la llamada *Synergy Grant*), dotada con casi 10 millones de euros, a un grupo formado por un químico (F.P. Cossío, de la U. del País Vasco) y dos físicos (R. Guenette, de la U. de Harvard, y el autor de estas líneas) para desarrollar una nueva técnica de detección de átomos individuales (un detector capaz de contar átomos de uno en uno), cuyos sensores son moléculas fluorescentes, capaces de atrapar el átomo y emitir una intensa fluorescencia cuando lo hacen, avisando de la captura. Se trata de ciencia fundamental, que sin embargo ha encontrado una aplicación de urgente actualidad para ayudar a combatir la pandemia que nos asola. Para ello, hemos ampliado nuestro equipo, incluyendo biólogos y médicos, con el fin de diseñar detectores físico-químicos basados en moléculas capaces de atrapar virus (una técnica similar a la que usamos para capturar átomos) y emitir, cuando las excitamos con láser, una señal fluorescente que nos permita contar esos virus de uno en uno. Para demostrar que la técnica funciona, hemos diseñado simuladores de virus, a partir de vesículas extracelulares, algo así como saquitos orgánicos vestidos con la infausta proteína de espícula que les hace parecerse al SARS-CoV-2 y nos permite utilizarlas para desarrollar nuestros sensores.

Había una vez un químico un físico y un biólogo. El químico preparó la molécula, el físico la excitó con un láser y el biólogo puso el virus. Entre los tres, ayudaron a combatir la plaga. Y esta vez no es un chiste.