

Células CAR T

Harold Alvarez, MD

- Director Medico Laboratorio de Terapia Celular e Inmunoterapia, Medicina Transfusional y Aféresis del Miami Cancer Institute



Miami Cancer Institute

BAPTIST HEALTH SOUTH FLORIDA

Células CAR T



Introducción

- Que son
- Colección
- Como se manufacturan en el Lab
- Indicaciones
- Efectos secundarios
- Otras terapias celulares



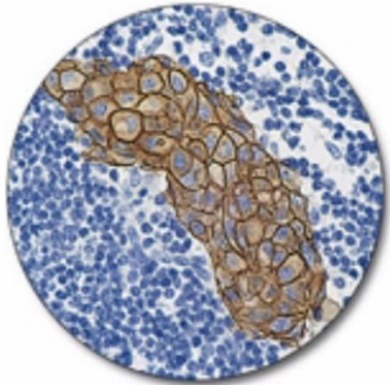
Tratamiento para el Cáncer

- Cirugía
- Quimioterapia
- Radioterapia
- **Inmunoterapia**
 - Terapias contra el Blanco (anticuerpos monoclonales)
 - Transferencia Celular adquirida (adaptativa)
- **Terapia Genética:**
 - Transducción y editar genes (CRISPR-Cas-9)

Células CAR T



Terapia contra el blanco

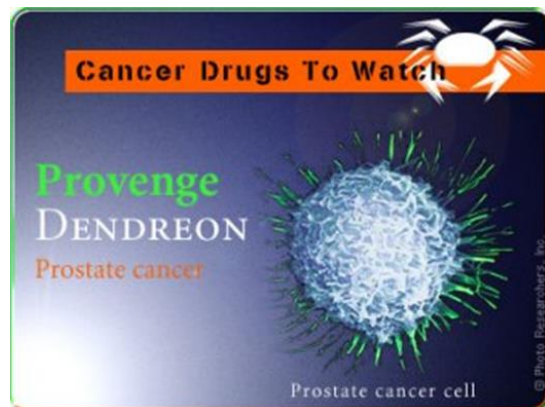


Trastuzumab es un anticuerpo monoclonal contra el cáncer de seno que expresa HER-2 (1988)

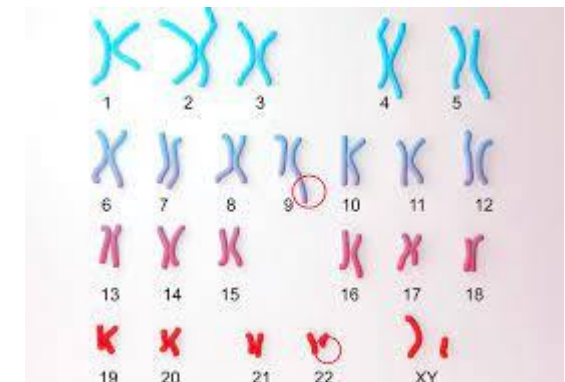


Imatinib: Inhibe la enzima que codifica el cromosoma de filadelfia (Bcr-Abl)

Leucemia mielogenica crónica
Leucemia B linfoblastica Aguda
2001



Terapia celular adaptativa
2010 Inmunoterapia donde se mezcla las células del paciente (linfocitos y monocitos con un antígeno proveniente de la próstata (fosfatasa acida de próstata))



Células CAR T

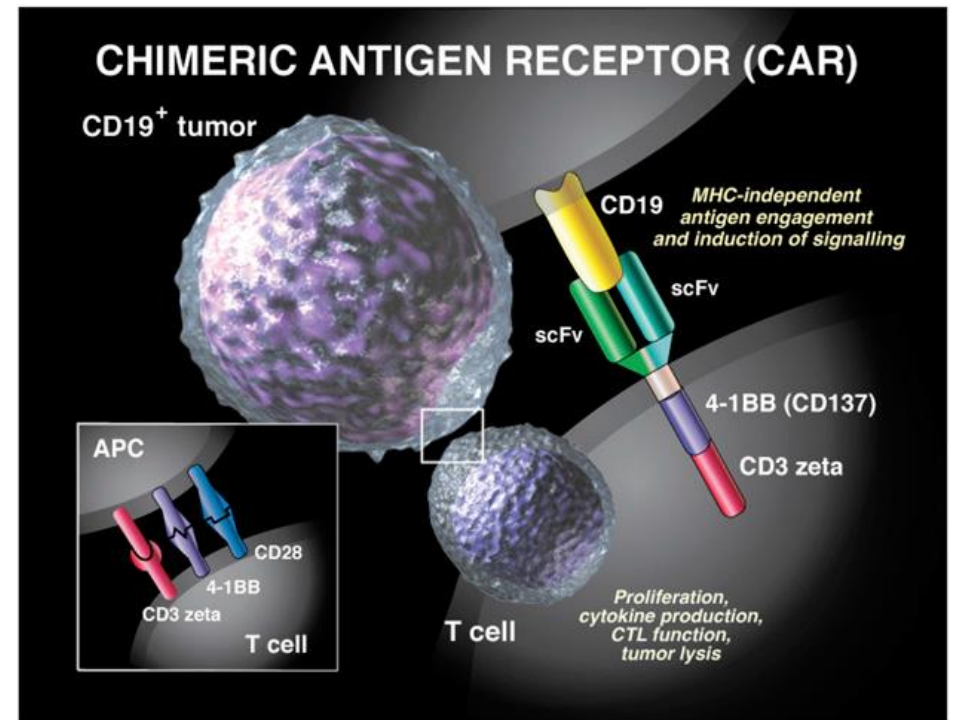


- **Inmunidad innata**
 - Granulocitos, macrófagos, complemento, células asesinas naturales a
- **Inmunidad adquirida (adaptativa)**
 - Linfocitos B: anticuerpos
 - Linfocitos T: citoquinas: modular respuesta inmune

Células CAR T



- **Que son las células CAR T**
- Linfocitos T reprogramados genéticamente
 - Receptor en la superficie celular:
Receptor Quimérico Antigénico (CAR T)

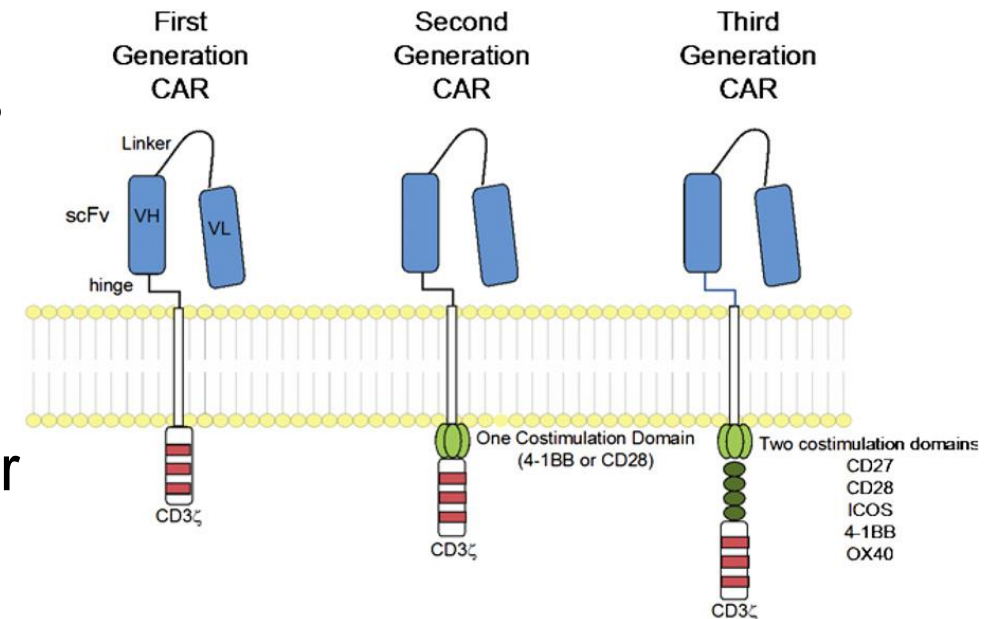


Células CAR T



Receptor de Antígeno Quimérico (CAR T)

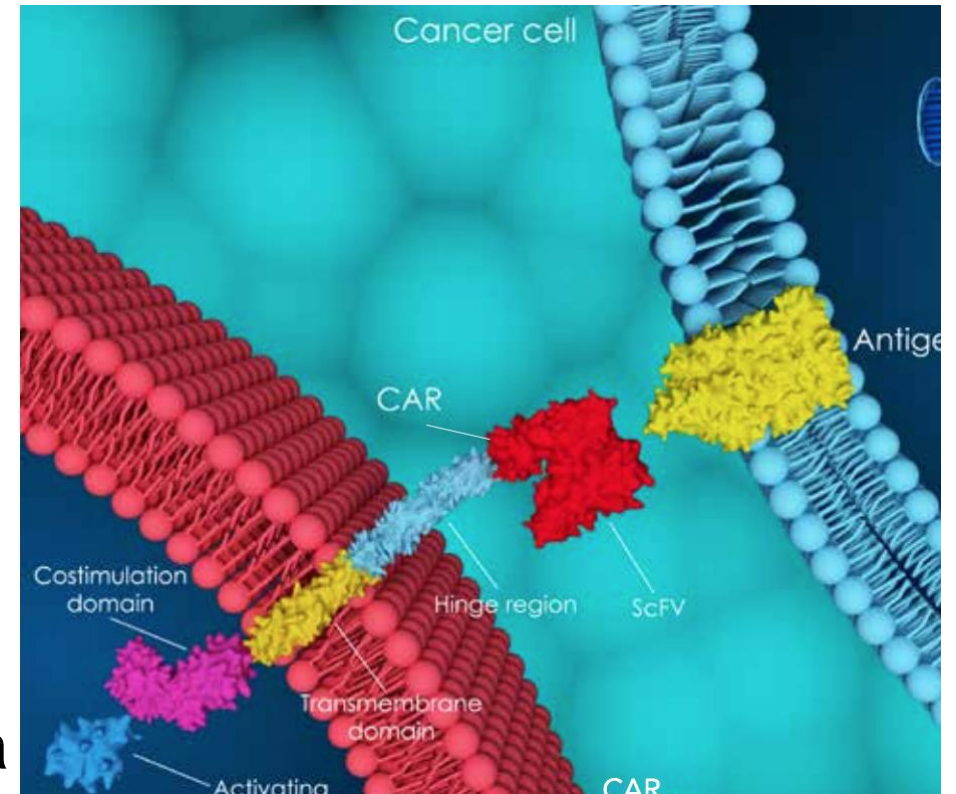
- Moléculas sintéticas, no existen naturalmente
- Reconoce antígenos en las células cancerosas
 - Antígeno asociado al tumor
 - Antígeno específico del tumor
- 3 dominios
 - Extracelular, transmembranoso y intracelular



Células CAR T



- **Dominio extracelular:**
 - Fragmento variable de cadena unica anticuerpo (scfv)
- **Dominio transmembranoso**
 - Une la parte extracelular del receptor con la parte intracelular
- **Dominio Intracelular**
 - Activa la célula
 - Estimulación para expansión o replicación celular en VIVO (una droga viva)



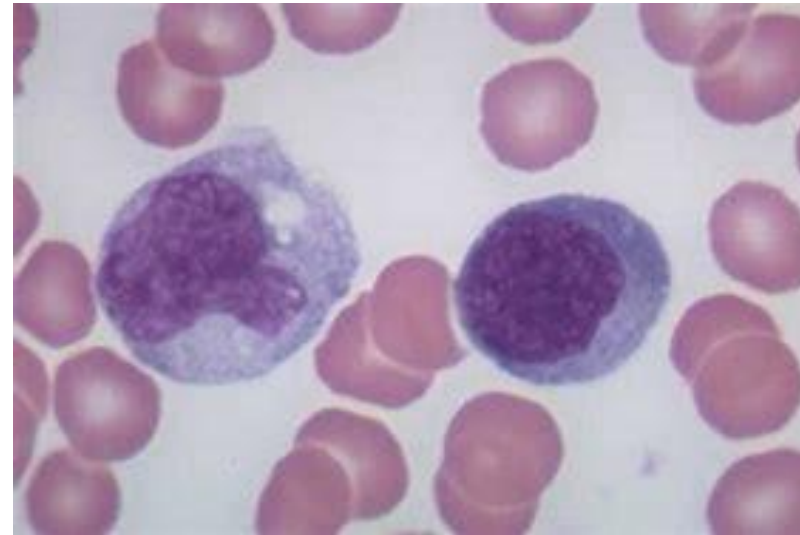
Células CAR T



- Leucoferesis



- Células mononucleares



Células CAR T



Colección de los linfocitos

- Catéter venoso central
- Pacientes con pesos corporales de < 20kg se prepara con una unidad de GRs leucoreducida e irradiada
- Hb > 8g/dl
- Plaquetas > 50 x 10³/uL
- La meta de los CD3;
 - % bajo de CD3.
 - Baja eficiencia en la transducción y expansión
 - 0.6 x 10⁹ mínimo
 - 2 x 10⁹ meta ideal, permite congelar células extras.
- Generalmente se procesa
 - 12 a 15 litros del paciente (3 veces el volumen sanguíneo)
 - Aproximadamente 5-10⁹ células mononucleares
 - 30 litros (hasta 6 veces el volumen total)
 - Linfocitos son < de 1.5x 10³/uL
- Fresco o criopreservado

Células CAR T



- **Indicaciones**

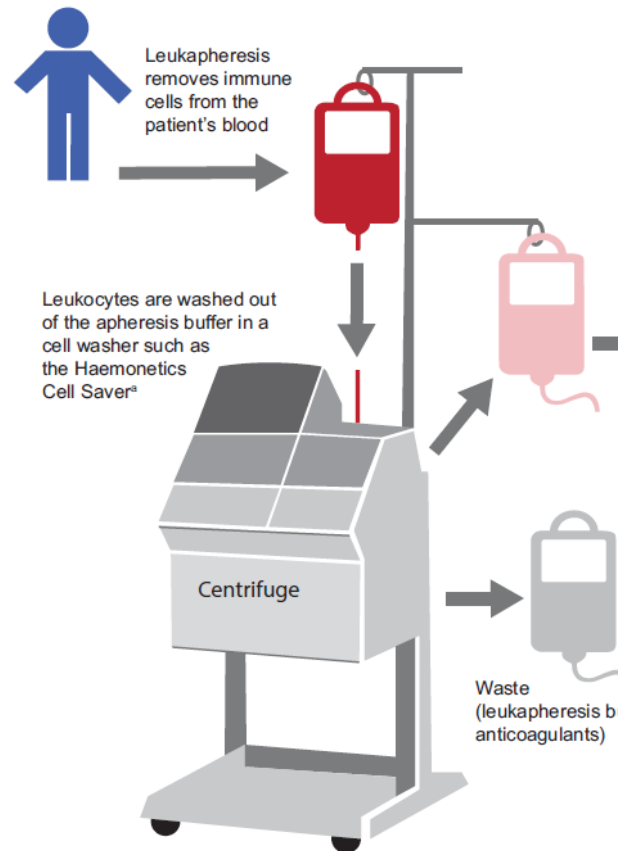
- La FDA aprobó en agosto del 2017 la primera terapia de células CAR T contra la leucemia linfoblástica aguda de linfocitos B para pacientes menores de 25 años: Tisagenlecleucel, **Kymriah**
- La FDA aprobó en octubre del 2017 el segundo tratamiento de células CAR T para tratar pacientes adultos con linfoma difuso de células B grandes con recaídas o resistente al tratamiento después de 2 o más tratamientos sistémicos fallidos: Axicabtagene ciloleucel, **Yescarta**

- **El blanco de las células CAR T son el antígeno CD19**

Células CAR T



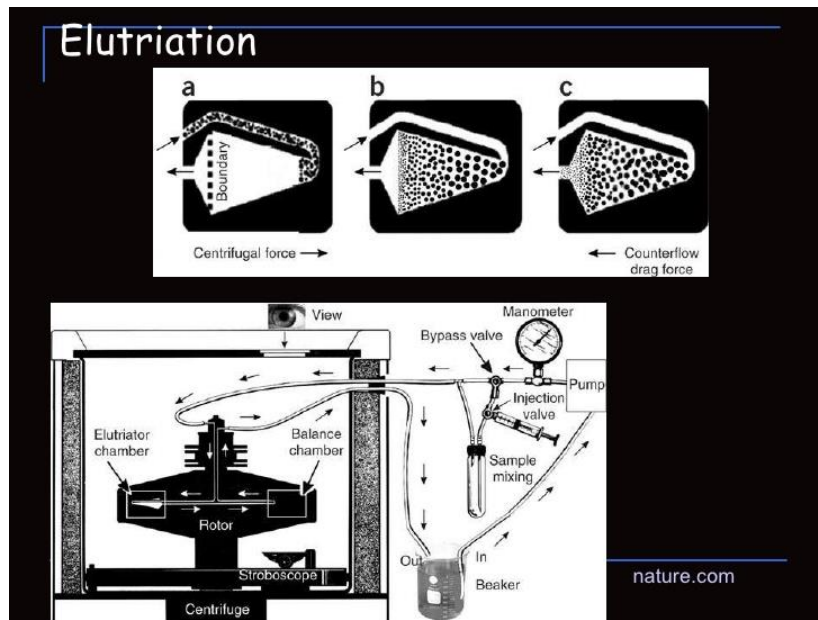
- Como se manufacturan las células CAR T



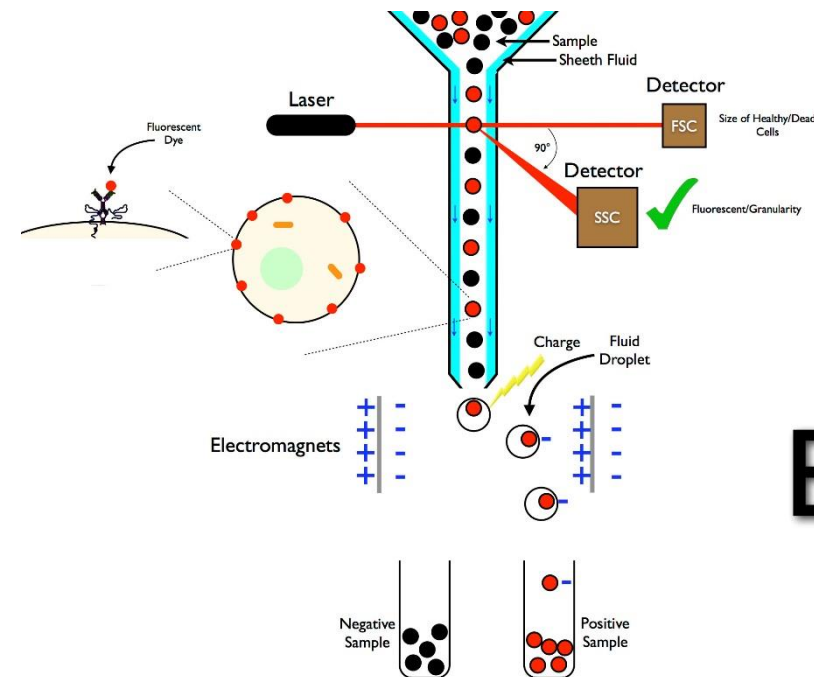
Células CAR T



- **Separación de las células**
 - Elutriación: por tamaño y densidad



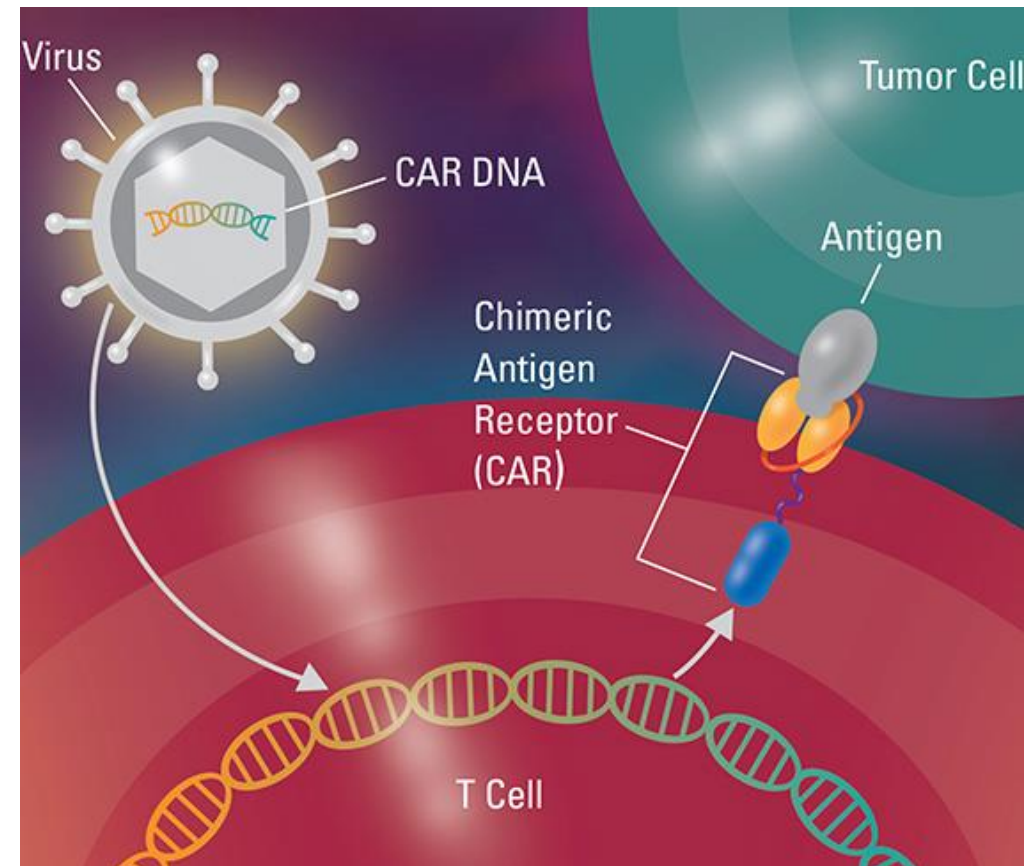
- **Selección positiva**
 - CD3/CD28: células T con células presentadora de antígeno (APCs)



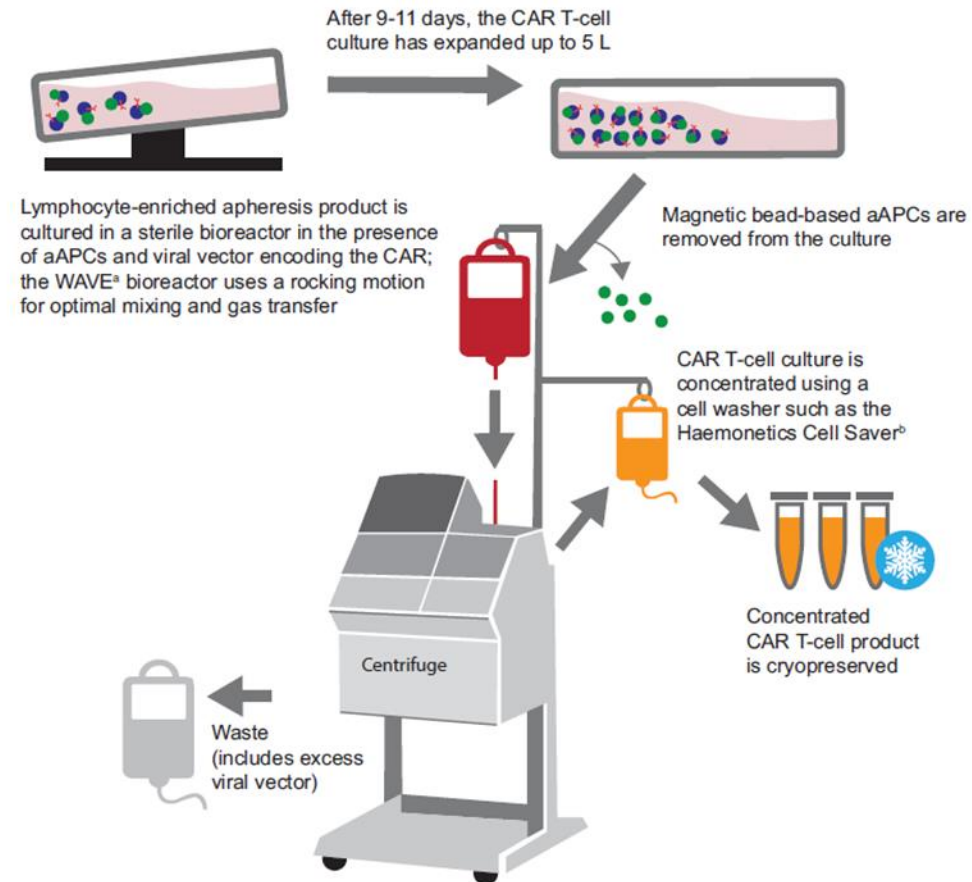
Células CAR T



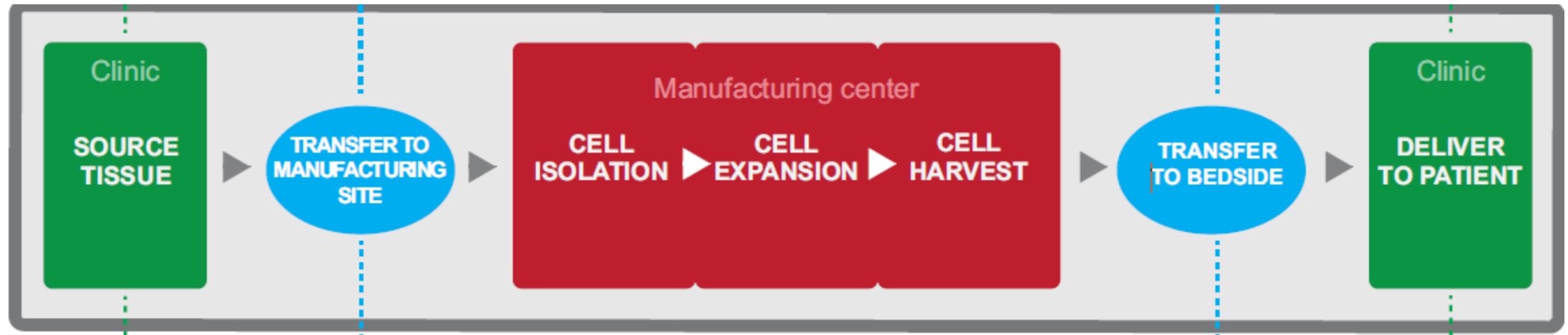
- Linfocitos T, APCs y un vector viral son incubados en un biorreactor
- Vector viral (lentovirus: VIH); material genético para codificar el CAR
- Adhiere y penetra el linfocito
- Introduce su material genético en forma de ARN
- Transcriptasa reversa lo convierte en DNA
- Integra al DNA del linfocito (transducción)
- La célula lo empieza a producir el CAR



Células CAR T



Células CAR T





Enfermedades

Las leucemias linfoblásticas agudas

- Es el cáncer mas común en la niñez
- Representan el 80% de todas las leucemias.
- 85% de las leucemias linfoblásticas son de células B. 15% son de células T
- Alrededor del 80 % al 90% responden al tratamiento (quimioterapia y trasplante de células madre hematopoyéticas)
- Recurrente o no responde al tratamiento, la sobrevida es cerca del 0%



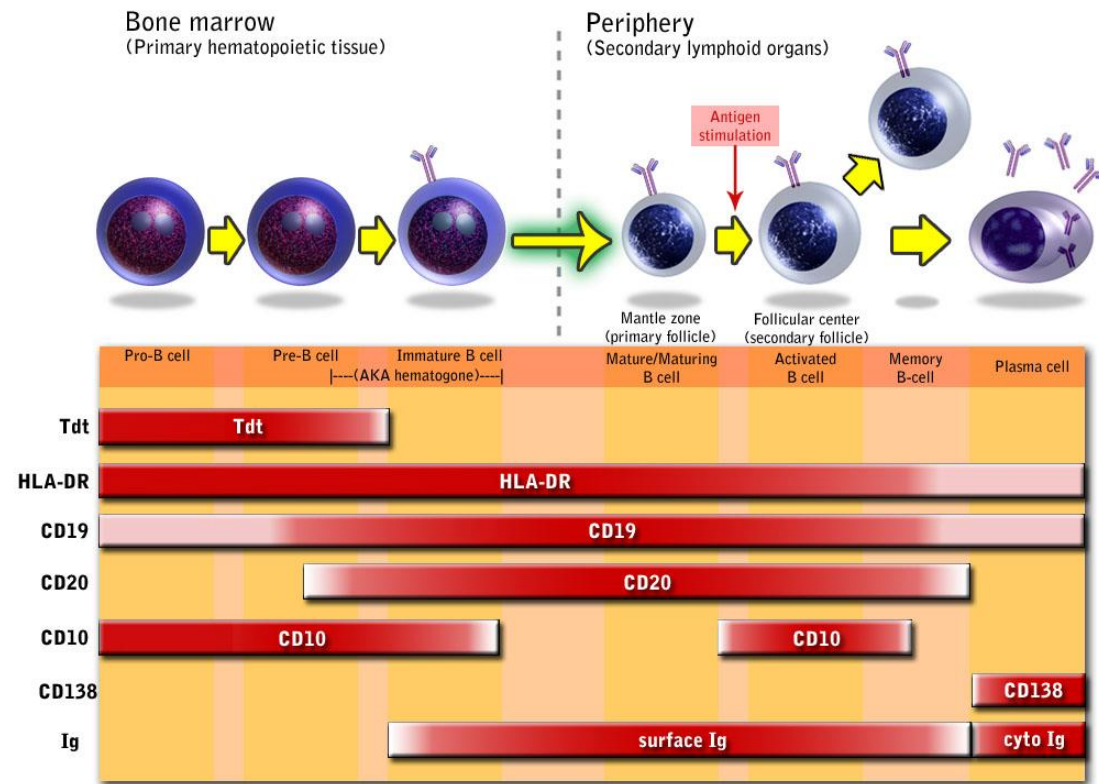
Linfoma B de células grande difuso (DLBCL)

- Es el linfoma no-Hodgkin mas común entre los adultos
- Incidencia de 7 a 8 casos por 100000 personas en USA y Reino Unido
- Una tercera parte de los pacientes el linfoma recurre o es refractario al tratamiento

Células CAR T

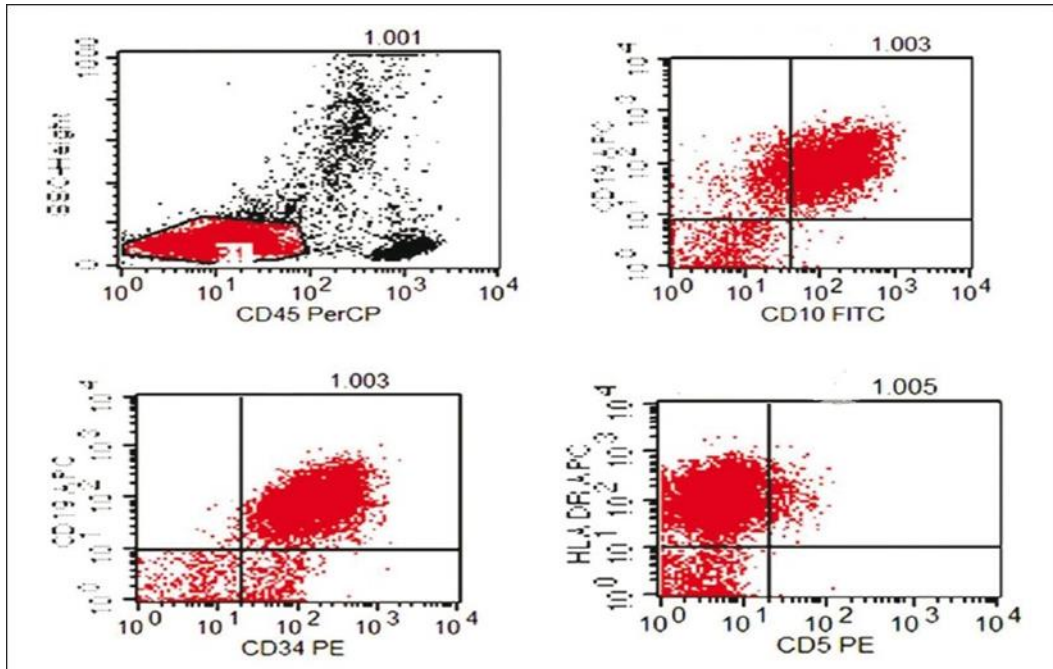


- Biología

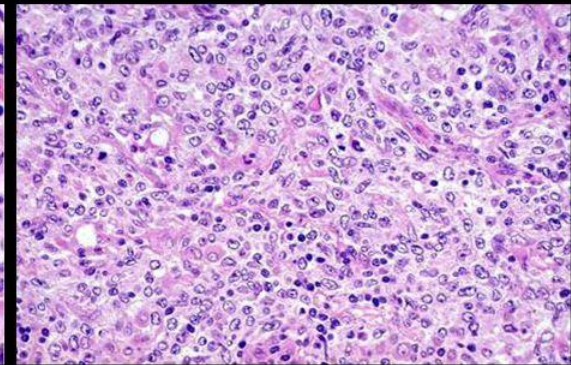
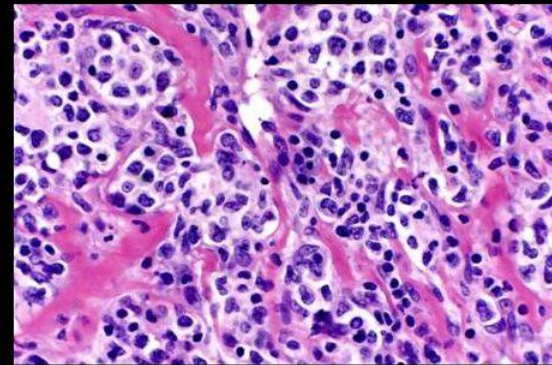
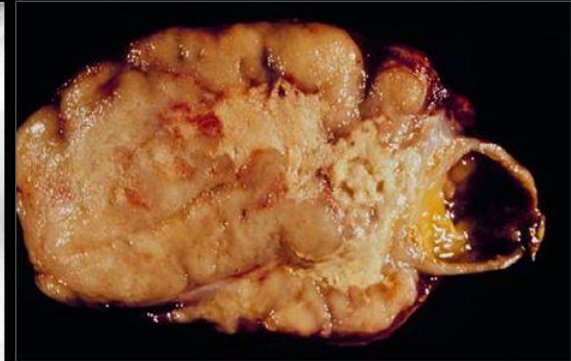
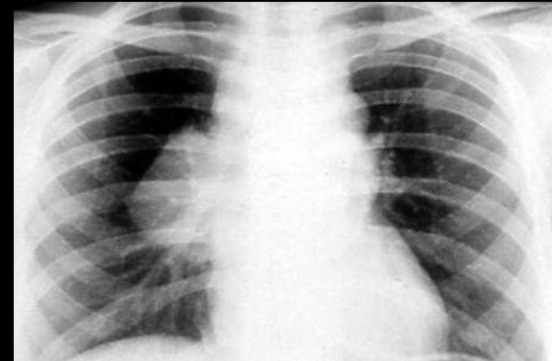


ANTIGEN EXPRESSION OF NORMAL B-CELL DEVELOPMENT

Células CAR T



Mediastinal Large B Cell Lymphoma



Células CAR T



The NEW ENGLAND JOURNAL of MEDICINE

ORIGINAL ARTICLE

Chimeric Antigen Receptor T Cells for Sustained Remissions in Leukemia

RESULTS

A total of 30 children and adults received CTL019. Complete remission was achieved in 27 patients (90%), including 2 patients with blinatumomab-refractory disease and 15 who had undergone stem-cell transplantation. CTL019 cells proliferated in vivo and were detectable in the blood, bone marrow, and cerebrospinal fluid of patients who had a response. Sustained remission was achieved with a 6-month event-free survival rate of 67% (95% confidence interval [CI], 51 to 88) and an overall survival rate of 78% (95% CI, 65 to 95). At 6 months, the probability that a patient would have persistence of CTL019 was 68% (95% CI, 50 to 92)

Resultados

- 30 niños
- Remisión completa 27 niños (90%)
- 2 niños con enfermedad refractaria al blinatumomab
- 15 niños con historia de trasplante allogénico
- Las células proliferaron en vivo, detectadas in sangre, médula ósea y líquido cefalorraquídeo
- 68% de probabilidad que los pacientes tuviese células CAR T a los 6 meses

Células CAR T



The NEW ENGLAND JOURNAL of MEDICINE

N Engl J Med 2017; 377:2545-2554 [December 28, 2017](#) DOI: 10.1056/NEJMoa1708566

ORIGINAL ARTICLE

Chimeric Antigen Receptor T Cells in Refractory B-Cell Lymphomas

Results

A total of 28 adult patients with lymphoma received CTL019 cells, and 18 of 28 had a response (64%; 95% confidence interval [CI], 44 to 81). Complete remission occurred in 6 of 14 patients with diffuse large B-cell lymphoma (43%; 95% CI, 18 to 71) and 10 of 14 patients with follicular lymphoma (71%; 95% CI, 42 to 92). CTL019 cells proliferated in vivo and were detectable in the blood and bone marrow of patients who had a response and patients who did not have a response. Sustained remissions were achieved, and at a median follow-up of 28.6 months, 86% of patients with diffuse large B-cell lymphoma who had a response (95% CI, 33 to 98) and 89% of patients with follicular lymphoma who had a response (95% CI, 43 to 98) had maintained the response

Resultados

- 28 pacientes con linfoma 18 respondieron al tratamiento (64%)
- Remisión completa ocurrió en 6 de los 14 con DLBCL y 10 de los 14 con linfoma folicular (71%)
- Proliferación en vivo; sangre y médula ósea, para pacientes que respondieron y no respondieron
- Remisión sostenida fue alcanzada en el 86% (con una media de seguimiento de 28.6 meses) de los pacientes con DLBCL y 89% de los pacientes con LF que respondieron inicialmente al tratamiento

Células CAR T



- **ABECMA®** (idecabtagene vicleucel)
 - Myeloma múltiple refractario o con recaída después de 4 o mas líneas de terapia (agente inmunomodulador, un inhibidor del proteasoma un anticuerpo monoclonal CD38)
 - CAR T en contra el antígeno de maduración de las células B (BCMA)
- **BREYANZI®** (lisocabtagene maraleucel)
 - Linfoma de células B grande difuso
 - Linfoma de células B de alto grado
 - Linfoma primario del mediastino de células B grande
 - Linfoma folicular grado 3B
 - CAR T en contra el antígeno de CD19 antígeno
- **TECARTUS** (brexucabtagene autoleucel)
 - Linfoma del manto refractario o con recaída
 - CAR T en contra el antígeno de CD19 antígeno



Efectos secundarios

- **Síndrome de liberación de citoquinas**
 - Respuesta inflamatoria sistémica
 - Niveles altos de citoquinas (IL-6) asociados a la activación y proliferación de los linfocitos T
 - Síntomas, leves hasta severos: fiebre, mialgias, hipotensión, coagulopatía, citopenias, falla renal y respiratoria
 - La severidad asociada con el grado de la neoplasia.
 - 1 día después de la infusión
 - Lab: proteína C reactiva, ferritina, IL-6, Interferón Gamma
 - Tratamiento: esteroides y Tocilizumab, anticuerpo monoclonal, bloquea los receptores de la IL-6

Células CAR T



- **Encefalopatía**
 - Temporal, dura aproximadamente 2 a 3 días
 - Fiebre alta, delirium, confusión, alucinaciones, afasia
 - Auto-limitado y no secuelas
 - Tratamiento de soporte
- **Aplasia de células B**
 - Todos los pacientes que responden al tratamiento
 - Off the target: fuera del blanco
 - Puede persistir hasta un año
 - Tratamiento Inmunoglobulinas, IgG >500 mg/dl

Células CAR T



Transferencia celular adaptativa (ACT)

- Manipulación de Células hematopoyéticas progenitoras
 - HPc con células T disminuidas
 - HPc con células T alfa/beta disminuidos
- CAR NK
- CAR Monocitos
- Células citotóxicas específicas para virus
- Linfocitos infiltrantes contra el tumor (TILs)

Células CAR T

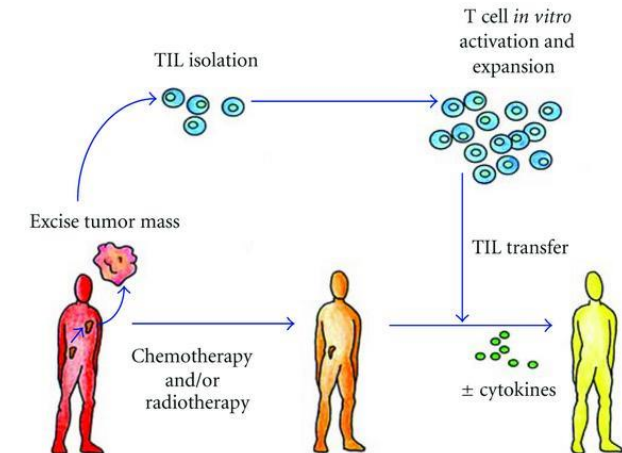
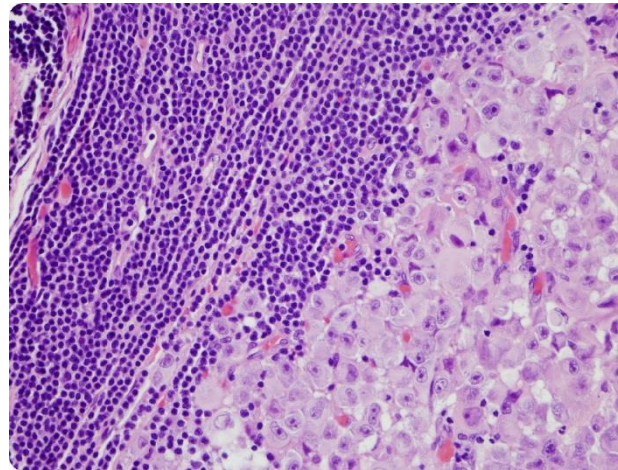


- Otras terapias de transferencia adaptativa

Linfocitos infiltrantes de tumor (TILs)

Mejor respuesta clínica

- Melanomas
- Colon-rectal carcinomas
- Cáncer de ovario

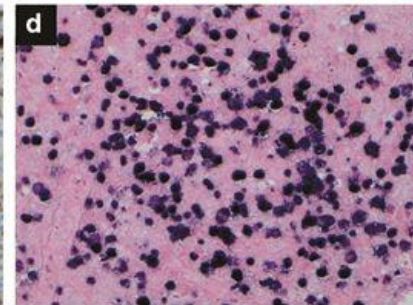
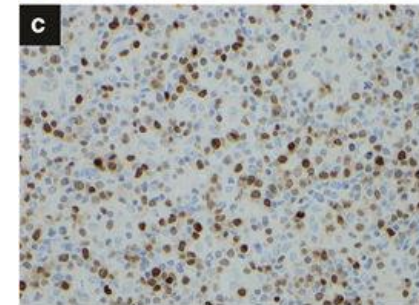
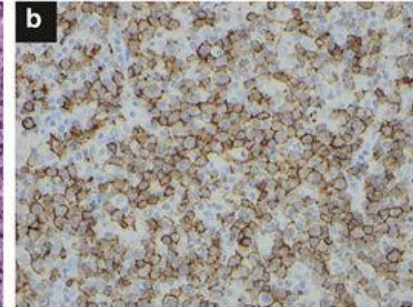
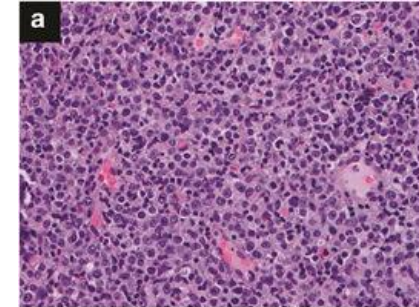
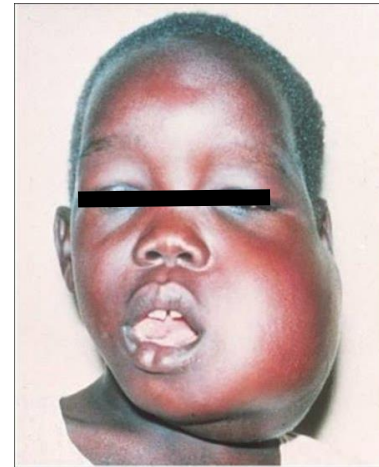


Células CAR T



Células T citotóxicas contra Epstein Bar Virus (EBV)

- Desordenes linfoproliferativos después del trasplante (PTLD)
- Hodgkin linfoma
- Linfoma de Burkitt
- Naso-faríngeal carcinoma
- Linfoma nasal de células T/NK



Células CAR T



- Células T citotóxicas
 - CMV
 - Adenovirus
 - HHV6
- Otras Células CAR
 - Monocitos
 - Asesinas Naturales

Células CAR T



Prodigy Clinimacs

- Separación de células
- Células T citotóxicas
- Expansión
- Transducción
- Car T cells



