



**FACULTAD DE FARMACIA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE**

**TRABAJO FIN DE GRADO
NUEVOS AVANCES EN LA TERAPIA DE LAS
LEUCEMIAS. INMUNOHEMATOLOGÍA**

Autora: Miriam Rodríguez Lozano

Fecha: 22/05/19

Tutora: Prof. Rafaela Raposo González

ÍNDICE

	Página
1.- Resumen	2
2.- Introducción y antecedentes	3
3.- Objetivo	3
4.- Material y métodos	3
5.- Resultados y discusión	
5.1.Terapia con anticuerpos monoclonales	3-9
a)Terapia con anticuerpos monoclonales “desnuda”	4-5
b)Anticuerpos que inhiben los “puntos de control”	5-8
c)Terapia de anticuerpos monoclonales conjugada	8-9
5.2 Terapia con receptores de antígenos quiméricos (T-CAR)	10-17
5.3. Vacunas terapéuticas para el cáncer	17-18
6.- Conclusiones	19
7.-Bibliografía	19-21

1.-RESUMEN

El sistema inmunitario tiene la capacidad de defensa del organismo pero existen diferentes mecanismos por los cuales las células cancerígenas evaden la respuesta inmunitaria antitumoral. De esta manera, emerge la inmunoterapia como un pilar de las nuevas terapias contra el cancer, ofreciendo un enfoque diferente de los tratamientos tradicionales (cirugía, quimioterapia, radioterapia). Es un campo terapéutico en crecimiento y consta del desarrollo de tratamientos que utilizan el sistema inmunitario del paciente para luchar contra el cáncer.

Dentro de la inmunoterapia, nos centraremos principalmente en los inhibidores de los checkpoint, los linfocitos T-CAR y las vacunas terapéuticas.

Los inhibidores de checkpoint, se basan en el bloqueo de puntos de control inmunológicos con anticuerpos monoclonales dirigidos contra receptores que normalmente inhiben el sistema inmune (CTLA-4 o PD-1).

La terapia con células T-CAR es una terapia personalizada en la que se extraen linfocitos T del paciente y se modifican genéticamente en el laboratorio lo que produce la expresión de receptores de antígenos quiméricos en su superficie con el fin de que se unan a células cancerosas provocando su destrucción.

Respecto a las vacunas terapéuticas se están abordando tres estrategias para obtenerlas: vacunas con células enteras, vacunas peptídicas y vacunas con células dendríticas. Sin embargo, las vacunas para la leucemia, el linfoma y el mieloma aún están en proceso de desarrollo, y solamente están disponibles en ensayos clínicos.

Palabras clave: inmunoterapia, checkpoint, PD-1, CTLA-4, linfocitos T-CAR, CD19, vacuna terapéutica.

2.-INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES

La inmunoterapia, también llamada “terapia biológica”, se basa en el concepto de que las células inmunitarias o los anticuerpos que pueden reconocer y destruir células malignas se pueden producir en el laboratorio y luego administrar a los pacientes para tratar su neoplasia. Varios tipos de inmunoterapia están aprobados para su uso o están en fase de estudio en ensayos clínicos para determinar su eficacia en el tratamiento de distintos tipos de neoplasias hematológicas.

La inmunoterapia suele administrarse en combinación con quimioterapia u otros tratamientos. Se puede usar como terapia de mantenimiento tras la quimioterapia de combinación y, en algunas circunstancias, se usa como monoterapia (un sólo medicamento).

Por lo general, las inmunoterapias causan efectos secundarios a corto plazo menos intensos que la mayoría de las quimioterapias o radioterapias, las que no solamente destruyen las células malignas sino que también afectan las células normales que se dividen rápidamente provocando caída del cabello, úlceras bucales, náuseas, disminución de la resistencia a las infecciones y otros efectos secundarios. (1)

3.- OBJETIVO

El objetivo principal consiste en profundizar en el conocimiento de los nuevos tipos de inmunoterapia emergentes frente a otros tipos de terapias utilizados para el tratamiento de hemopatías malignas.

4.- MATERIAL Y MÉTODOS

Para la realización de este trabajo se ha llevado a cabo una extensa búsqueda bibliográfica del tema tratado utilizando diversas fuentes de información. Se han consultado diferentes bases de datos (PubMed, Medline, ScienceDirect), fichas técnicas, diferentes páginas web, libros de texto y revistas científicas con el fin de obtener la información necesaria y la más actualizada posible. La lista completa de las fuentes consultadas está disponible en el apartado de bibliografía.

5.-RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1. Terapia con anticuerpos monoclonales (AcMo)

Los anticuerpos monoclonales son inmunoglobulinas (proteínas que ayudan al cuerpo a combatir las infecciones) producidas en el laboratorio.

Un anticuerpo monoclonal imita a los anticuerpos naturales producidos por el cuerpo, no estimula directamente al sistema inmunitario de un paciente para que responda a una enfermedad (inmunoterapia pasiva).

El medicamento usado en la terapia con anticuerpos monoclonales ataca un objetivo o un marcador específico en la superficie de una célula maligna (célula diana). Es una “terapia dirigida” porque se dirige a un solo objetivo en la célula maligna.

Se usan las letras CD (“cúmulo de diferenciación”) y un número para referirse al objetivo del anticuerpo en la superficie celular.

Las terapias con anticuerpos monoclonales suelen administrarse a las personas en centros para pacientes ambulatorios infundiéndose el medicamento vía intravenosa. Puede que el médico aplique medicamentos previos a cada infusión para reducir efectos secundarios. Además, se harán pruebas periódicas de sangre para determinar si hay otros efectos secundarios. (1)

A. Terapia con anticuerpos monoclonales “desnuda”

No conlleva otra sustancia química ni material radiactivo adherido. (1)

Rituximab (MabThera®) es un anticuerpo monoclonal quimérico murino/humano, obtenido por ingeniería genética.

- Mecanismo de acción: se une específicamente al antígeno CD20, expresado en los linfocitos pre-B y B maduros. El antígeno se expresa en más del 95% de todos los linfomas no-Hodgkin de células B.
- Indicaciones:
 - LNH*→ está indicado en combinación con quimioterapia en el tratamiento de pacientes con linfoma no-Hodgkin folicular estadio III-IV que no hayan sido tratados previamente; para el tratamiento de mantenimiento en pacientes con linfoma folicular que hayan respondido al tratamiento de inducción; en monoterapia está indicado en el tratamiento de pacientes con linfoma no-Hodgkin folicular estadio III-IV que son quimiorresistentes o están en su segunda o posterior recidiva tras la quimioterapia; y, en combinación con quimioterapia CHOP (ciclofosfamida, doxorubicina, vincristina, prednisolona) está indicado en el tratamiento de pacientes con linfoma no-Hodgkin difuso de células B grandes CD20 positivas.
 - LLC*→ está indicado en combinación con quimioterapia en el tratamiento de pacientes con leucemia linfocítica crónica, que no hayan sido tratados previamente o que estén en recidiva o refractarios a un tratamiento previo.
- Reacciones adversas: RRP: reacciones relacionadas con la perfusión (incluyendo el síndrome de liberación de citoquinas, el síndrome lisis tumoral y reacciones anafilácticas y de hipersensibilidad), infecciones y acontecimientos cardiovasculares. (2)

Obinutuzumab (Gazyvaro®) es un fármaco más nuevo anti-CD20. Es un anticuerpo monoclonal humanizado de tipo IgG1 (κ) que se une específicamente a la cadena extracelular de la proteína CD20. (3)

- Indicaciones:
 - LLC*→ está indicado, en combinación con clorambucilo, para el tratamiento de pacientes adultos con leucemia linfática crónica (LLC), no tratados previamente y con comorbilidades que les hace no ser adecuados para el tratamiento basado en una dosis completa de fludarabina. (4)
 - LF*→ está indicado en combinación con bendamustina seguido de obinutuzumab en mantenimiento, en linfoma folicular (LF) que no han respondido o han progresado durante o hasta 6 meses después del tratamiento con rituximab o con un régimen con rituximab. (5)

Los anticuerpos anti-CD20 de tipo II (obinutuzumab) son significativamente más potentes que los de tipo I (rituximab) en inducir la apoptosis de células CD20+, tanto normales como malignas. El obinutuzumab parece producir una mayor depleción que el rituximab de linfocitos B, tanto normales como malignos. (3)

Alemtuzumab (Lemtrada®) es un anticuerpo monoclonal humanizado derivado de ADN recombinante dirigido contra la glicoproteína de superficie celular CD52.

- Mecanismo de acción: se une al CD52, un antígeno de superficie celular presente en grandes cantidades en los linfocitos T (CD3+) y B (CD19+) y, en menores cantidades, en los linfocitos citolíticos naturales (natural killer), monocitos y macrófagos. Actúa a través de la citólisis celular dependiente de anticuerpos y la lisis mediada por el complemento tras la unión de la superficie celular con los linfocitos T y B.
- Indicaciones: está indicado en pacientes adultos con esclerosis múltiple remitente recurrente (EMRR) con enfermedad activa definida por manifestaciones clínicas o detectadas por resonancia magnética.
- Reacciones adversas: autoinmunidad, RAP (reacciones asociadas a la perfusión) e infecciones y las reacciones adversas más frecuentes son erupción, cefalea, pirexia e infecciones del tracto respiratorio. (6)

B. Anticuerpos que inhiben los “puntos de control” del sistema inmunitario.

La estimulación del propio sistema inmune para atacar a las células tumorales es la base del tratamiento checkpoint.

En la superficie de los linfocitos T hay PD-1 y CTLA-4 (checkpoint), los cuales son unas proteínas “reguladoras negativas” del sistema inmunitario que frenan a los linfocitos T. Los tratamientos basados en inhibidores de estos checkpoint son anticuerpos monoclonales que se emplean con éxito para el tratamiento de tumores. Se han encontrado resultados positivos en varios tipos de cáncer como el de pulmón, renal, linfoma y melanoma, aunque se observan efectos secundarios importantes, causados por una respuesta inmune hiperactiva que por lo general es manejable.

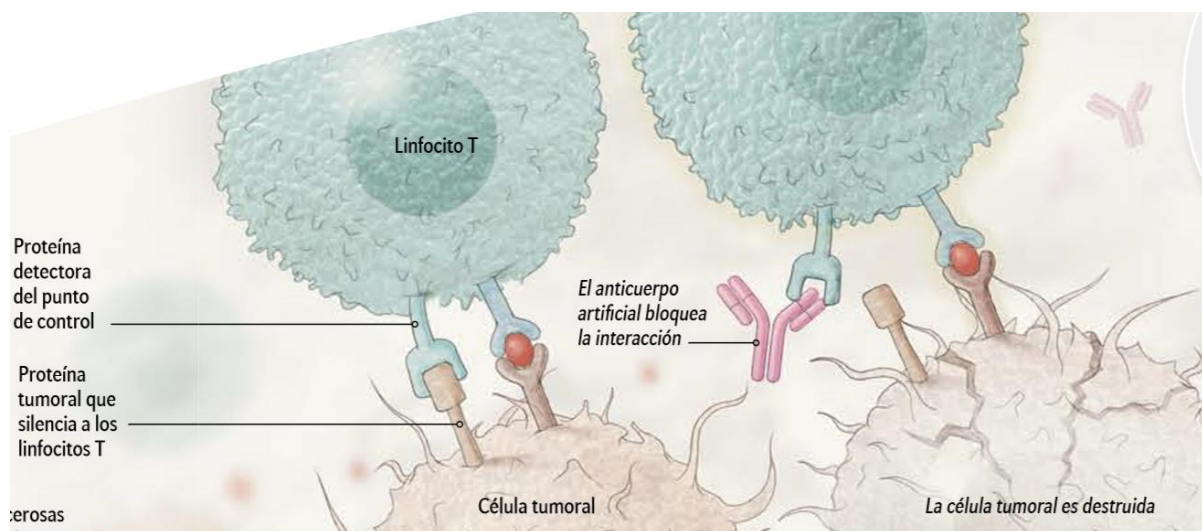
La inmunoterapia contra la mayoría de cáncer se realiza en la actualidad con estos inhibidores de checkpoint. (1)

El cuerpo tiene una serie compleja de “puntos de control” en el sistema inmunitario cuya función es controlarlo. Algunos de estos puntos de control provocan una respuesta inmunitaria y otros la inhiben. Esto regula el sistema inmunitario y previene respuestas inmunitarias descontroladas. Para hacer que el sistema inmunitario sea más eficaz para reconocer las células del cáncer, uno puede acelerar proporcionando linfocinas y citocinas que estimulan los linfocitos T y células citolíticas naturales, o, en vez de eso, puede desacelerar, eliminando así los factores de inhibición que restringen la actividad de dichas células. Si el sistema inmunitario no tuviera un “freno”, podría llegar a estar fuera de control y causar daño serio a los tejidos normales.

Se han descubierto varios “reguladores negativos” del sistema inmunitario, entre ellos, las moléculas conocidas como PD-1, PDL-1 y CTLA-4. Recientemente se ha demostrado que los medicamentos de las terapias con anticuerpos monoclonales que bloquean estas moléculas producen respuestas tumorales considerables en varios tipos de cáncer, entre ellos, el cáncer de pulmón, el melanoma, y más recientemente, tanto en el linfoma de Hodgkin como el linfoma no Hodgkin en recaída. Una de las vías más prometedoras de la investigación actual en el campo de la inmunoterapia es la combinación de anticuerpos que inhiben los puntos de control con anticuerpos antitumorales (p. ej., Rituximab). (1)

La respuesta inmunitaria descontrolada llega a ser tan potente que acaba destruyendo tejidos sanos. Por ello, ciertas células inmunitarias, los linfocitos T, deben superar varios puntos de control biológicos antes de desplegar toda su fuerza. Muchas células cancerosas se camuflan ante el sistema inmunitario exhibiendo proteínas específicas que indican a los linfocitos T cercanos que no prosigan con su activación y dejen tranquilo al tumor. Es decir, con frecuencia, el sistema inmunitario no logra vencer el cáncer, ya que, a veces, los tumores se apropian de los interruptores que suelen desactivar el sistema inmunitario y reducen así su respuesta contra ellos. Son los nuevos fármacos los que tratan de suprimir estos obstáculos.

Los fármacos consisten en anticuerpos artificiales seleccionados para inhabilitar los frenos que las células tumorales imponen al sistema inmunitario. Al impedir que las células tumorales interactúen con el sistema de control de los linfocitos T, los inhibidores del punto de control los dotan del vigor renovado necesario para atacar el tumor. (7)



“Reguladores negativos” del sistema inmunitario:

- **PD-1** (Programmed Death 1): molécula de muerte programada: proteína que se encuentra en las células T (un tipo de célula inmunitaria) que ayuda al cuerpo a mantener bajo control las respuestas inmunitarias. Cuando PD-1 se une a otra proteína llamada PDL-1, ayuda a evitar que las células T destruyan otras células, como las células cancerosas. Algunos medicamentos contra el cáncer, los inhibidores de puntos de control inmunitario, se usan para impedir la acción de PD-1. Cuando se bloquea esta proteína, se sueltan los “frenos” del sistema inmunitario y aumenta la capacidad de las células T de destruir células cancerosas. (8)
- **CTLA-4** (Cytotoxic T-Lymphocyte Antigen 4): antígeno 4 del linfocito T citotóxico: proteína que se encuentra en las células T que ayuda al cuerpo a mantener bajo control las respuestas inmunitarias. Cuando CTLA-4 se une a otra proteína llamada B7, impide que las células T destruyan otras células, como las células cancerosas. Los inhibidores de puntos de control inmunitario, se usan para impedir la acción de CTLA-4. Cuando se bloquea esta proteína, se sueltan los “frenos” del sistema inmunitario y aumenta la capacidad de las células T de destruir células cancerosas. (9)

En 1995 se demostró que los ratones que habían sido modificados genéticamente y carecían de la proteína CTLA-4 morían a las 3 o 4 semanas. Sin nada que detenga la intensificación de la respuesta inmunitaria, los linfocitos T activados se infiltran en todos los órganos del cuerpo sanos destruyéndolos por completo.

De esta manera, los investigadores suministraron a ratones un anticuerpo sintético que obstaculizaba la actividad de CTLA-4 y como era de esperar, este bloqueo dio lugar a la regresión de tumores que habían trasplantado previamente a los animales. El siguiente paso consistía en comprobar en humanos la eficacia de la nueva estrategia, la inhibición de los puntos de control inmunitario. Se desarrolló el fármaco **ipilimumab (Yervoy®)**, un anticuerpo monoclonal (IgG1κ) anti-CTLA-4 completamente humano indicado para el melanoma y el carcinoma de células renales (CCR). (7)

La investigación también se ha centrado en una segunda molécula inhibidora del sistema inmunitario, el PD-1.

Nivolumab (Opdivo®) y **pembrolizumab (Keytruda®)** son anticuerpos monoclonales enteramente humanos de la clase IgG4 que se unen selectivamente y con gran afinidad a la proteína de muerte programada PD-1 (programmed death 1; CD279). PD-1 constituye un punto de control del sistema inmunitario (inmune checkpoint) que protege contra la autoinmunidad. Sobre la PD-1 actúan sus ligandos naturales (PD-L1 y PD-L2), que son expresados en diversos tipos de células tumorales, así como en las células presentadoras de antígeno (APC), linfocitos B y linfocitos T activados; su unión al receptor provoca la inhibición de la proliferación y secreción de citocinas de los linfocitos T efectores. (10). De acuerdo con esto, la inhibición del receptor PD-1 potencia la respuesta antitumoral de los linfocitos T.

El **nivolumab (Opdivo®)**:

- Indicaciones:
 - LHc→ está indicado en monoterapia para el tratamiento de pacientes adultos con linfoma de Hodgkin clásico en recaída o refractario después de un trasplante autólogo de progenitores hematopoyéticos (TAPH) y de tratamiento con brentuximab vedotina. (11).
 - También está indicado para el *cáncer de células escamosas, cáncer de pulmón no microcítico, cáncer de riñón, cáncer urotelial y melanoma*. (12)

El **pembrolizumab (Keytruda®)**:

- Indicaciones:
 - LHc→ está indicado en monoterapia para el tratamiento de pacientes adultos con linfoma de Hodgkin clásico (LHc) en recaída o refractario, que no han respondido a un trasplante autólogo de progenitores hematopoyéticos (TAPH) y a brentuximab vedotina (BV), o que no son candidatos a trasplante y no han respondido a BV. (13)
 - También está indicado para el *cáncer de pulmón no microcítico, cáncer urotelial y melanoma*. (14)

El linfoma de Hodgkin clásico se caracteriza por alteraciones genéticas casi universales en 9p24.1, que da como resultado la expresión constitutiva de los ligandos de PD-1. Esto justifica la gran sensibilidad de los linfomas al bloqueo PD-1, con tasas de respuesta del 70% en la enfermedad recurrente/refractaria. Es importante indicar que los efectos antitumorales del nivolumab y del pembrolizumab podrían

manifestarse de forma retardada (2-3 meses) en relación a la quimioterapia estándar, cuyo efecto citotóxico es prácticamente inmediato. Este retardo en la respuesta debe ser considerado antes de iniciar el tratamiento con este tipo de agentes inmunológicos en pacientes cuya enfermedad neoplásica progresa rápidamente o en los que la expectativa de vida sin tratamiento no sea superior a tres meses. (3)

Como ocurre con la mayoría de los tratamientos oncológicos, estas inmunoterapias desencadenan efectos secundarios. Los pacientes con medicación anti-CTLA-4 sufren reacciones inflamatorias en la piel y el intestino grueso, como consecuencia del exceso de sustancias excitadoras liberadas por las células inmunitarias. Los corticosteroides inmunodepresores como la prednisona suelen mitigar los sarpullidos resultantes, así como los dolorosos episodios de calambres y diarrea. La terapia de inhibición de PD-1 también puede provocar estos síntomas, sobre todo en los riñones, pulmones e hígado, pero, por regla general, son menos frecuentes y graves que en la inhibición de CTLA-4. Afortunadamente, el empleo de antiinflamatorios no parece reducir la eficacia de estos fármacos contra los tumores. Estos efectos secundarios inflamatorios parecen ser transitorios y no vuelven a producirse después del tratamiento inicial. (7)

Se ha demostrado que el bloqueo profiláctico del TNF (factor de necrosis tumoral) durante la inhibición de los puntos de control (checkpoint) PD-1 y CTLA-4, previene efectos adversos y mejora la eficacia de esta terapia contra el melanoma.

En un estudio se ha identificado que la función inmunorreguladora de TNF es prescindible y, en cierta medida, dañina para la actividad antitumoral de esta inmunoterapia dual. El hallazgo del bloqueo profiláctico de TNF durante la inmunoterapia permite ajustar mejor la dosis de la medicación y conseguir de esta manera una eficacia antitumoral más robusta.

Respecto a las toxicidades concretas reguladas por esta terapia profiláctica, se ha modelado en ratones principalmente la colitis y la hepatitis, pero se piensa que puede ser beneficioso en otros efectos adversos relacionados con autoinmunidad que aparecen en la terapia con inhibidores de checkpoint.

Se está evaluando un posible protocolo de ensayo clínico para estudiar el efecto del bloqueo profiláctico de TNF en el tratamiento con nivolumab (anti-PD-1) e ipilimumab (anti-CTLA-4) en humanos. El bloqueo de TNF se administra de forma concomitante con la inmunoterapia. En la fase I del ensayo, con un número limitado de pacientes se está verificando la seguridad del tratamiento, que parece por el momento bien tolerado. Este ensayo está previsto que continúe con otro para verificar la prevención de efectos adversos y la mejora, o al menos, el no deterioro de la eficacia.

Otra posibilidad que los investigadores no descartan, es estudiar selectivamente el posible beneficio de esta estrategia preventiva en pacientes oncológicos con comorbilidades (enfermedad autoinmune, VIH, trasplantados...), pues estos han sido excluidos sistemáticamente de los ensayos clínicos con inmunoterapia. (15)

C. Terapia de anticuerpos monoclonales conjugada.

Consta de un anticuerpo monoclonal al que se le adhiere una sustancia radiactiva, una toxina u otra sustancia terapéutica. La porción del conjugado que corresponde al anticuerpo dirige el isótopo radiactivo, la toxina o el medicamento de manera específica a las células del cáncer y evita las células normales que no expresan el antígeno objetivo del tratamiento. (1)

Gemtuzumab ozogamicina (Mylotarg®) es un conjugado de anticuerpo y fármaco (CAF) compuesto por un AcMo dirigido contra CD33 que está unido covalentemente al citotóxico N-acetil-gamma-calicheamicina.

- Mecanismo de acción: Gemtuzumab es un Ac humanizado IgG4 que reconoce específicamente CD33 humano. La porción de anticuerpo se une específicamente al antígeno CD33 que se encuentra en la superficie de los linfoblastos leucémicos mieloides y de las células normales inmaduras de linaje mielomonocítico, pero no en las células madre hematopoyéticas normales. La molécula pequeña, N-acetil-gamma-calicheamicina, es un producto natural semisintético citotóxico que se une de forma covalente al anticuerpo mediante un enlazador. La actividad anticancerosa del fármaco se debe a la unión del CAF a las células tumorales que expresan CD33, seguido por la internalización del complejo CAF-CD33 y la liberación intracelular de N-acetil-gamma calicheamicina dimetilhidrazida mediante la hidrólisis del enlazador. La activación de N-acetil-gamma-calicheamicina dimetilhidrazida induce roturas del ADN bicatenario provocando posteriormente la muerte celular apoptótica.
- Indicaciones:
-LMA→ está indicado para el tratamiento combinado con daunorubicina (DNR) y citarabina (AraC) en el tratamiento de pacientes a partir de los 15 años de edad con leucemia mieloide aguda (LMA) CD-33 positiva de novo no tratada previamente, excepto la leucemia promielocítica aguda (LPA). (16)
- Reacciones adversas: las más comunes son fiebre, náuseas y vómitos, recuento bajo de células sanguíneas, hinchazón y úlceras en la boca, estreñimiento, sarpullido, y dolores de cabeza. Las menos comunes, pero más graves son: hepatotoxicidad, reacciones durante la infusión, infecciones graves o potencialmente mortales y cambios en el ritmo cardíaco. (17)

Brentuximab vedotina (Adcetris®) es un Ac conjugado formado por un AcMo dirigido contra CD30 (IgG1 quimérica recombinante) que se une de forma covalente al agente antimicrotúbulos monometilauristatina E (MMAE). (18)

- Mecanismo de acción: el Ac se une selectivamente a la parte extracelular del CD30 presente en la superficie de la membrana, formando un complejo que es internalizado mediante endocitosis. Una vez en el interior, celular, el fármaco accede al interior de los lisosomas donde sufre una escisión proteolítica liberando vedotina (MMAE), la cual es un potente agente citotóxico que interfiere con la polimerización de la tubulina bloqueando el ciclo celular provocando en definitiva, la muerte celular.
- Indicaciones:
-LH→ está indicado para el tratamiento de pacientes adultos con linfoma de Hodgkin CD30+ en recaída o refractario después de trasplante autólogo de células madre o después de al menos dos tratamientos previos cuando el trasplante autólogo de células madre o la poliquimioterapia no es una opción terapéutica.
-También está indicado para el tratamiento de pacientes adultos con *linfoma anaplásico de células grandes sistémico en recaída o refractario*. (3)
- Reacciones adversas: neuropatía motora periférica, neuropatía sensorial periférica, neutropenia, trombocitopenia, diarrea, vómitos, pirexia... (19)

5.2. Terapia con receptores de antígenos quiméricos (T-CAR)

La terapia con receptores de antígenos quiméricos (T-CAR) es un tipo de terapia personalizada para el cáncer que se está actualmente estudiando en ensayos clínicos para pacientes con leucemia y linfoma. (1)

Los linfocitos T-CAR viajan por la sangre, elemento que las células malignas suelen frecuentar, y eliminan todo rastro de ellas en cerca del 90 por ciento de los afectados por leucemias agresivas que han participado en los estudios.

Los linfocitos T con receptor antigénico quimérico (T-CAR) reúnen las cualidades de dos tipos de linfocitos: los T y los B. Las moléculas receptoras de los linfocitos T-CAR se asemejan a híbridos entre receptores de ambos tipos de células. La proteína CAR permite a esta célula inusual reconocer los antígenos seleccionados y destruir cualquier célula que los porte lo que convierte a los linfocitos T-CAR en defensores irrefrenables.

Los médicos extraen linfocitos T del paciente y los infectan con un virus benigno que incorpora la información genética (ARN) necesaria para que el linfocito fabrique un receptor de superficie que reconoce un antígeno específico de la célula tumoral. Los linfocitos T-CAR genomodificados buscan y destruyen cualquier célula cancerosa portadora del antígeno diana. (7)

REFORZAR LOS LINFOCITOS T

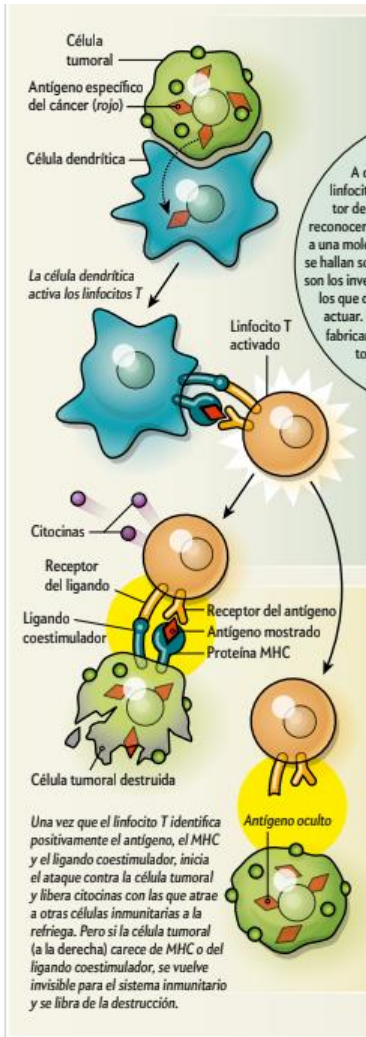
La primera tarea cuando se inició la senda que condujo a los linfocitos T-CAR fue hallar el modo de reforzar la actividad citocida de los linfocitos extraídos de los pacientes.

El linfocito T, para ser activado, debe recibir señales procedentes de las células dendríticas para poder desplegar todo su potencial. Se divide y genera copias de sí mismo (dirigiéndose todas contra la misma diana) y libera sustancias que estimulan la respuesta defensiva del organismo, las citocinas. Al cabo de unos días, los linfocitos T se desmovilizan, lo que permite que el organismo (y el sistema inmunitario) recuperen la normalidad.

A mediados de los años 90, mientras se estudiaba el VIH se decidió estimular los linfocitos T en el laboratorio exponiéndolos a las células dendríticas del mismo paciente, pero estas varían de manera notable en número y calidad, sobre todo en los enfermos de VIH y cáncer. Es por ello por lo que se decidieron crear unas diminutas esferas magnéticas (microesferas) que imitan y mejoran el efecto estimulador de las células dendríticas. Este método de las **microesferas** es una de las principales herramientas disponibles para crear los linfocitos T activados que se destinan a numerosos experimentos y ensayos clínicos. (7)

REDISEÑAR LOS LINFOCITOS T

El cuerpo encara dos graves problemas a la hora de organizar la respuesta defensiva contra el cáncer. El primero estriba en que las células malignas surgen de las células propias. Como el sistema inmunitario ha evolucionado para no atacar a nuestros tejidos, a menudo tiene problemas para distinguir las células tumorales de las que no lo son. El segundo es que muchas de esas células emplean artimañas para eludir la respuesta inmunitaria.



Las células dendríticas absorben y procesan algunas de las proteínas radicadas en la superficie o en el interior de la célula maligna. Más adelante, cuando una de esas células inmunitarias se vuelve a encontrar con ciertos glóbulos blancos denominados linfocitos T, les <<enseñará>> fragmentos de tales proteínas, conocidos como antígenos. Esto propicia que el linfocito T haga dos cosas:

1. Que busque e identifique cualquier célula que contenga tanto el antígeno que le ha sido presentado por la célula dendrítica como otra proteína denominada MHC (voluminoso complejo proteico)
2. Que ataque a la célula portadora del antígeno en el caso de que también presente una tercera proteína, el ligando coestimulador.

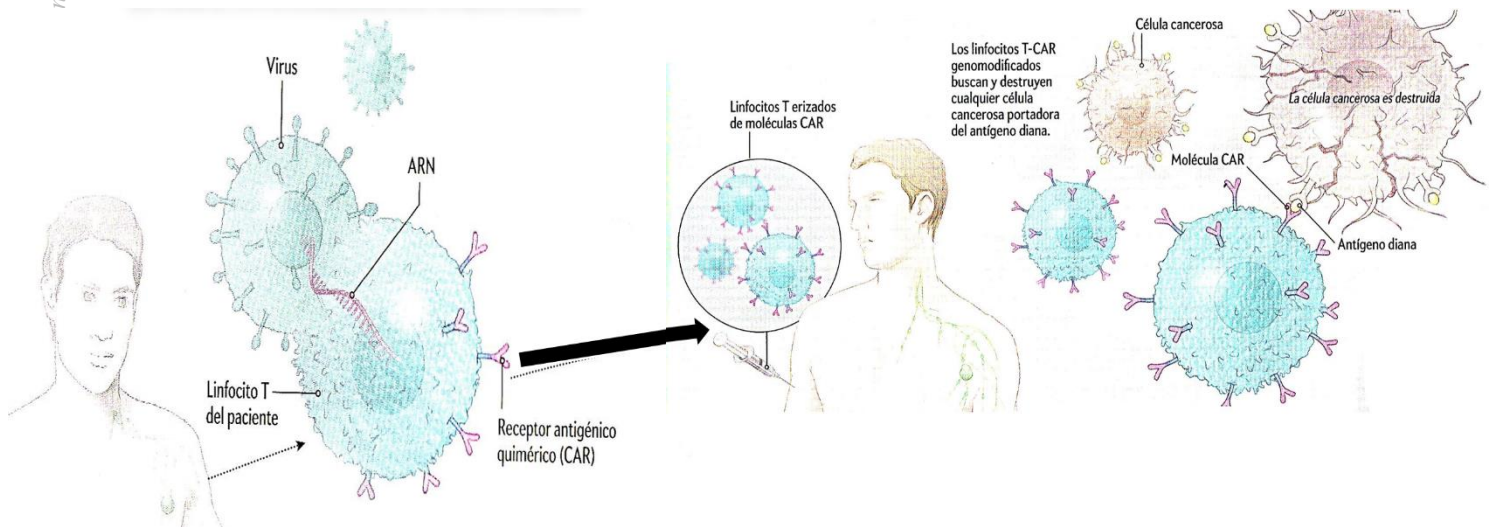
Cuando el linfocito T identifica positivamente el antígeno, el MHC y el ligando coestimulador, inicia el ataque contra la célula tumoral y libera unas sustancias denominadas citocinas con las que atrae a otras células inmunitarias estimulando la respuesta defensiva del organismo.

Si el complejo antígeno-MHC y el ligando coestimulador no concurren, el linfocito T sigue su camino sin más. Por tanto, la célula maligna dispone al menos de dos estrategias para que la dejen en paz: cesar de producir las moléculas MHC en su superficie o presentar en ella una variante aberrante del ligando coestimulador que desactive los linfocitos T.

Lo que se buscaba era modificar genéticamente los linfocitos T para que fuese el investigador (y no las células dendríticas) quien escogiese el antígeno diana, por ejemplo, uno que abunde en las células tumorales pero que no sea presentado por el MHC; y, además, conseguir que los linfocitos no tuviesen que pasar por las dos etapas normales para atacar a las células tumorales. Solo con las técnicas basadas en los linfocitos T-CAR se pudo intentar esto con perspectivas de éxito.

En principio, la solución consistió en dotarlos de los genes que diesen lugar a una molécula sintética (CAR) que pudiese detectar el antígeno seleccionado y activar el linfocito T, aun sin las señales habituales para proceder. Esto era posible si se combinaban elementos de los anticuerpos con otras proteínas caracterizadas para estimular a los linfocitos T. Concretamente, se diseñó la parte exterior del CAR como un anticuerpo, que sobresalía un poco de la superficie de la célula para que se uniese al antígeno tumoral escogido. La parte restante, atravesaba la membrana del linfocito con objeto de que pudiese emitir las señales oportunas y activar al linfocito tan pronto como detectase el antígeno en cuestión.

El quid de la cuestión consistía en lograr que los linfocitos T produjesen la molécula mixta anticuerpo-activador que habíamos escogido. Aprovechando la consabida predilección del VIH por estos linfocitos se eliminaron los genes patógenos y se sustituyeron por otros provistos de la información necesaria para fabricar la quimera de anticuerpo y activador. A continuación, se permitió que las partículas víricas del VIH (ahora inocuas), infectasen a los linfocitos T extraídos de los pacientes. De esta manera, los virus alterados introdujeron los genes en el interior de las células permitiendo que los linfocitos T fabricaran los CAR y los llevaran hasta su superficie. De esta manera se ha conseguido remodelar los linfocitos T para que ataquen a las células tumorales sin otro requisito que el de reconocer a una molécula de su superficie, es decir, sin la intermediación del MHC ni de un ligando coestimulador. (7)



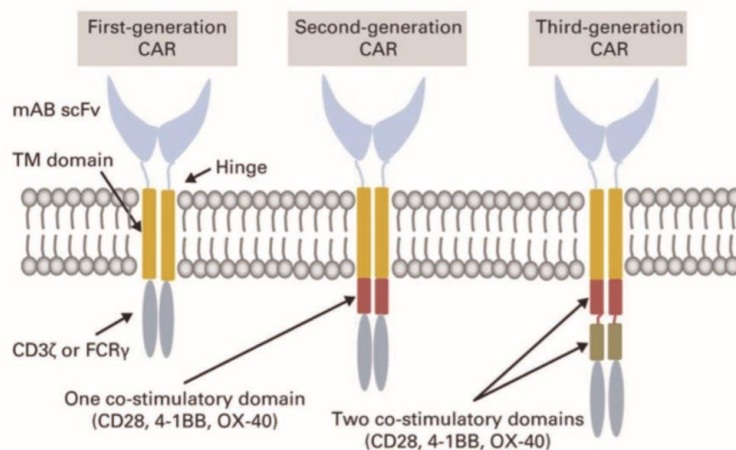
ESTRUCTURA Y EVOLUCIÓN DE LOS CAR

Un CAR (Chimeric Antigen Receptor) es un receptor de antígeno construido mediante tecnología recombinante que está formado por un dominio extracelular, que es un scFV (fragmentos variables de la cadena pesada y ligera de una inmunoglobulina en una sola cadena) unido a un dominio transmembrana, que a su vez se une a uno o más dominios intracelulares de señalización de células T.

Los CAR de **primera generación** estaban formados por un dominio de reconocimiento antigénico (scFv) unido a un dominio de señalización citoplasmático de señalización de receptor de células T, por ejemplo, CD3-zeta o Fc receptor [FcR] cadenas γ .

Aunque estos CAR se unían eficazmente a sus antígenos diana, tenían una capacidad de proliferación limitada y escasa capacidad citotóxica debido a la carencia de moléculas de coestimulación. Por eso, en la **segunda generación** de CAR se incorporaron en la porción intracelular del receptor quimérico dominios de coestimulación. De esta manera se consigue tanto mejorar la persistencia de las células in vivo como su actividad citotóxica. Se han construido diferentes CAR de segunda generación, algunos que incorporan CD28 y otros 4-1BB, aunque no hay estudios claros que determinen cuál de los dos es mejor. A diferencia de los CAR de primera generación, los CAR de segunda generación han mostrado buenos resultados en distintos ensayos clínicos.

Un paso más son los CAR de **tercera generación**, que incorporan en el dominio citoplasmático dominios de 2 moléculas de coestimulación en tándem. Estos nuevos CAR se han probado en modelos preclínicos, pero la experiencia es aún muy limitada en ensayos clínicos. (20)

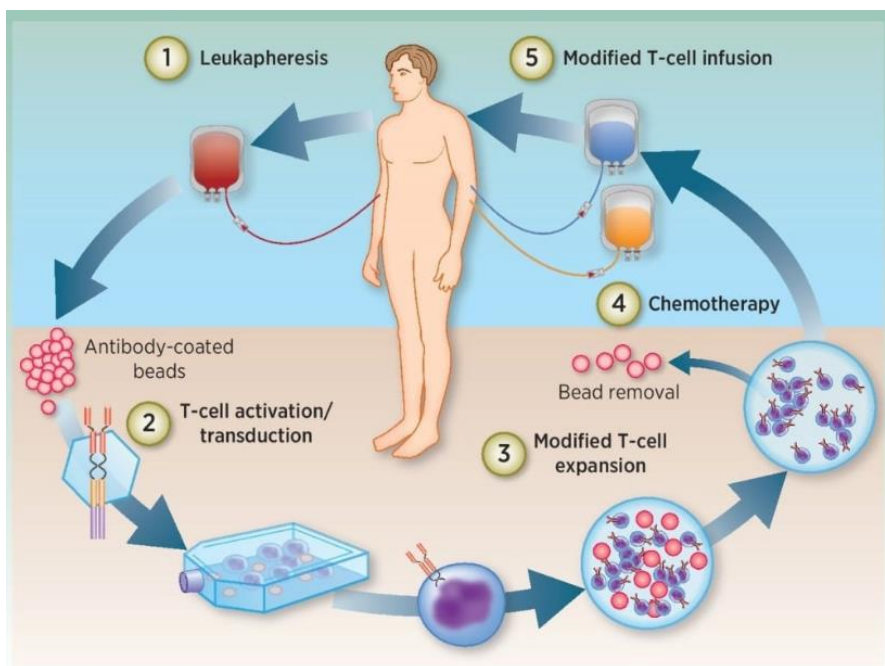


DIANAS DE LOS LINFOCITOS T-CAR

- Ciertos tipos de leucemia y linfoma surgen a partir de los linfocitos B. A pesar de que estas células son las responsables de generar anticuerpos, los seres humanos pueden vivir sin ellas si de vez en cuando se suministran anticuerpos prefabricados. El linfocito B, al igual que cualquier célula maligna en la que se pueda convertir, porta en su superficie la proteína CD19. Se considera que la **CD19** puede ser una diana interesante para la terapia con los linfocitos T-CAR, puesto que no se haya en ningún otro tejido sano y permite así minimizar su toxicidad potencial. (7)
- Bajo la premisa de que **CD20** es una diana ideal para el tratamiento del LNH, se han diseñado linfocitos T-CAR anti-CD20. (20)
- En niños y en adultos jóvenes con LLA avanzada, los investigadores están probando las células T-CAR que atacan a la proteína **CD22**, la cual es también sobreexpresada a menudo por las células de LLA.
- También se está evaluando una célula T-CAR que ataca tanto al **CD19** como al **CD123**, otro antígeno que se encuentra ordinariamente en las células de leucemia (ataque doble). (21)

PROCESO DE ELABORACIÓN DE LOS LINFOCITOS T-CAR

En general, el proceso de fabricación y suministro de células T-CAR integra varios pasos. En primer lugar, se realiza una leucoféresis en la que se recogen y aíslan las células T del paciente mediante aféresis. A continuación, se lleva a cabo la activación de los linfocitos T aislados con microesferas recubiertas de anticuerpos que actúan como células dendríticas artificiales. Una vez activadas, se procede a la transducción, donde las células son genéticamente reprogramadas ex vivo introduciendo la estructura codificada del CAR mediante lentivirus. Las células T genéticamente reprogramadas son sometidas a una posterior expansión ex vivo. De forma previa a la infusión de células T-CAR, los pacientes reciben un tratamiento preparatorio de linfo-supresión. Por último, se realiza la infusión de linfocitos T-CAR genéticamente manipulados al paciente.



TOXICIDAD DE LA TERAPIA CON LINFOCITOS T-CAR

Prácticamente no existe ninguna terapia que sea totalmente inocua, sin ningún efecto secundario en ningún paciente. Los más frecuentes o importantes son: (22)

- **Síndrome de liberación de citocinas (CRS)** → en el tratamiento con T-CAR es bastante habitual la <<tormenta>> de citocinas o síndrome de liberación de citocinas. Esta reacción ocurre cuando se activa a la vez un número mucho mayor de linfocitos T de lo que es habitual. La activación libera un torrente de mensajeros químicos, las citocinas, que el sistema inmunitario emplea en sus comunicaciones. Ello desencadena un frenesí de actividad, hasta el punto de que se convierten en una seria amenaza para las células sanas, puesto que destruyen los tejidos inalterados y acaban causando fallos multiorgánicos. (7) Puede provocar fiebre, disnea, insuficiencia respiratoria e hipertensión arterial. Se produce una liberación excesiva de citocinas pro-inflamatorias, como el TNF- α y la IL-6. Bloqueando los receptores de IL-6 con Tocilizumab (anticuerpo monoclonal que se une e inactiva a la IL-6) y los TNF- α con Etanercept se ha conseguido controlar exitosamente los casos severos de este síndrome, sin impedir la expansión de células T-CAR ni reducir la eficacia antileucémica.
- **Aplasia de células B** → en leucemias de célula B, los T-CAR se dirigen contra estas células B, lo cual puede conducir a este efecto secundario: destrucción no solo de las células B cancerosas, sino también de las células B normales. Provoca una cierta indefensión frente a las infecciones. Para prevenirlas se administran inmunoglobulinas por vía intravenosa.
- **Neurotoxicidad** → delirio, convulsiones, desorientación.
- **Síndrome de lisis tumoral (TLS)** → son complicaciones metabólicas derivadas de la ruptura de las células con el inicio del tratamiento.
- **Edema cerebral** → se ha notificado el fallecimiento de algunos pacientes por esta causa, pero no se sabe bien el por qué se produce este grave efecto secundario. (22)

ACTUALIDAD DE LOS LINFOCITOS T-CAR

Las inmunoterapias T-CAR siguen su progresivo desembarco en el Sistema Nacional de Salud. Como parte del plan nacional específico para estos medicamentos, ya se han aprobado dos terapias T-CAR desarrolladas por la industria farmacéutica, pero hay una batería de ensayos clínicos en marcha, privados y públicos, para aumentar el arsenal terapéutico.

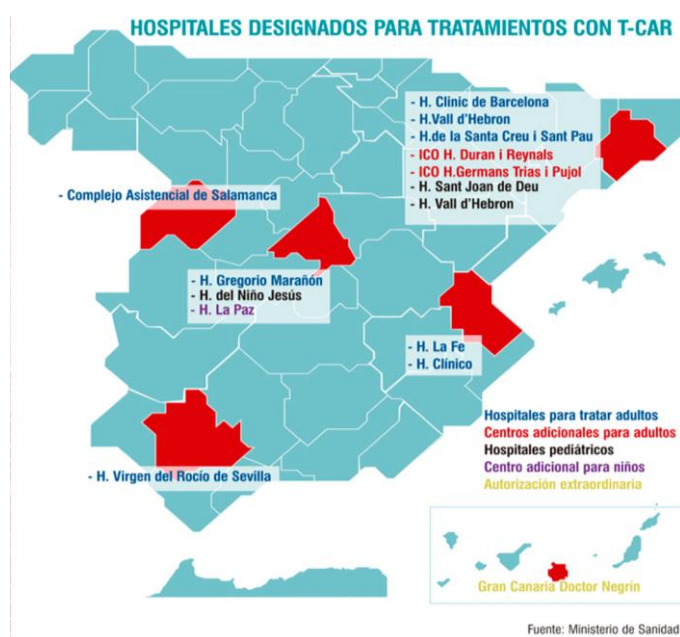
La industria farmacéutica tiene abiertos en España 19 ensayos comerciales, a los que hay que sumar otros 5 ensayos clínicos públicos desde el ámbito académico, dos de ellos ya abiertos y otros dos a punto de comenzar.

En total, son al menos 24 ensayos clínicos en marcha o a punto de comenzar con terapias T-CAR. El número de pacientes ya tratados cifra en 84.

Además de los citados 19 ensayos abiertos por la industria farmacéutica, en los de carácter público el Hospital Clínico de Barcelona es el centro pionero, y ya ha concluido la fase I de un ensayo que se centró finalmente en leucemia aguda linfoblástica. Tras este ensayo, el Clínico de Barcelona, con otros hospitales españoles (Madrid, Sevilla, Pamplona...), tiene otro ensayo multicéntrico en cartera en fase II para consolidar los datos del citado fase I, de nuevo en leucemia aguda linfoblástica.

Además de estos dos, hay otros tres ensayos públicos que están a punto de ver la luz. El Hospital San Pablo de Barcelona comenzará en breve uno sobre linfomas (Hodgkin y no Hodgkin), mientras que el Hospital La Paz de Madrid, arrancará otro fase I con otra T-CAR para diferentes tumores hematológicos (leucemia aguda linfoblástica, leucemia aguda mieloide...), y otros sólidos (sarcomas). Finalmente, el Clínico está diseñando otro ensayo multicéntrico.

Más allá de la investigación de nivel clínico, la investigación básica prepara también nuevas terapias T-CAR. El centro biomédico Genio, de Granada, investiga una T-CAR de carácter universal; la fundación Carreras, otra sobre linfomas de estirpe T; el Hospital Virgen del Rocío, en Sevilla, otra para mielomas... Hay al menos, en total, seis grupos de investigación españoles trabajando en investigación básica en no menos de una decena de nuevas terapias T-CAR. (23)



Ya se han aprobado dos terapias T-CAR desarrolladas por la industria farmacéutica (Novartis y Gilead): Tisagenlecleucel (Kymriah®) y Axicabtagén ciloleucel (Yescarta®).

Tisagenlecleucel (Kymriah®) es un novedoso tratamiento de inmunoterapia que consiste en células T autólogas modificadas genéticamente ex vivo mediante el empleo de un vector lentiviral para expresar un receptor de antígeno quimérico (CAR) anti-CD19. Tras la unión de los linfocitos T reprogramados que expresan CAR a las células que expresan CD19 (células del linaje B desde etapas tempranas de su desarrollo a células plasmáticas, tanto malignas como normales), la proteína quimérica transmite las señales intracelulares necesarias para activar la citotoxicidad frente a esas células CD19+, así como una señal que favorece la expansión de las células T y la persistencia de tisagenlecleucel. Se trata de la primera terapia celular T-CAR disponible comercialmente en España (autorizado por la EMA: European Medicines Agency en agosto de 2018).

El medicamento ha sido autorizado oficialmente como medicamento huérfano para el tratamiento, en perfusión única, de pacientes pediátricos y adultos jóvenes de hasta 25 años de edad con leucemia linfoblástica aguda (LLA) de células B refractaria, en recaída postrasplante o en segunda o posterior recaída, y de pacientes adultos con linfoma difuso de células B (LDCGB) en recaída o refractario tras dos o más líneas de tratamiento sistémico. Ambas indicaciones refieren a situaciones clínicas con limitadas alternativas terapéuticas y de pronóstico desfavorable, representando necesidades médicas no cubiertas.

A nivel general, tisagenlecleucel ha mostrado respuestas clínicamente relevantes en términos de tasa de respuesta global (del 40 al 60%) como variable primaria de eficacia. Si bien los periodos de seguimiento de los pacientes han sido muy limitados y es difícil establecer la duración de la respuesta, se han obtenido datos de supervivencia global a 12 meses en el rango de 49-76%. Esto, unido a la escasa experiencia poscomercialización, impide aún considerarlo como un tratamiento curativo, no obstante, los futuros resultados con un mayor seguimiento clarificarán si existe beneficio en términos de supervivencia libre de enfermedad a largo plazo.

En cuanto a la seguridad clínica, el perfil toxicológico de tisagenlecleucel en ambas indicaciones es importante, con un alto porcentaje de pacientes que sufren reacciones adversas específicas graves o potencialmente mortales en el periodo posperfusión. El síndrome de liberación de citoquinas, las infecciones graves y los efectos adversos neurológicos son quizá los aspectos cruciales del manejo de su toxicidad. De hecho, la ficha técnica del medicamento Kymriah refleja la necesidad de que en el lugar de administración se disponga de un mínimo de cuatro dosis de tocilizumab, anticuerpo monoclonal dirigido específicamente contra el receptor de la interleucina-6, el cual constituye el tratamiento recomendado para el síndrome de liberación de citoquinas grave.

Para la misma indicación de LDCGB también se ha aprobado recientemente otro fármaco de terapia celular T-CAR anti-CD19 denominado **axicabtagén ciloleucel (Yescarta®)**, que no ha sido aún comercializado en España. Debido a las notables diferencias en los criterios de inclusión y exclusión de pacientes en los ensayos

clínicos, no se pueden establecer conclusiones de la comparación de eficacia de ambos fármacos, si bien los datos publicados para axicabtagén ciloleucel sugieren que, con un perfil de seguridad similar, puede aportar una tasa de respuesta global y una supervivencia global a 12 meses superiores a tisagenlecleucel. No obstante, un ensayo que compare ambas terapias arrojará luz sobre cuál de los dos tratamientos es más eficaz.

La principal diferencia entre axicabtagén ciloleucel y tisagenlecleucel reside en la estructura y modo de expresión del receptor de antígeno quimérico que se transfecta ex vivo en las células T extraídas del paciente. En axicabtagén ciloleucel, el CAR es expresado por transducción retroviral y comprende un fragmento variable de cadena única (scFv) anti-CD19 murino unido a los dominios coestimuladores CD28 y CD3-zeta. En tisagenlecleucel, el transgén contiene un fragmento de cadena única de la región variable de un anticuerpo monoclonal murino anti-CD19 unido a los dominios intracelulares 4-1BB y CD3-zeta. (24)

Cabe destacar una noticia actual. Barcelona, 25 de abril de 2019. El Hospital Sant Joan de Déu Barcelona ha tratado con éxito el primer paciente pediátrico que ha recibido la innovadora terapia T-CAR 19 bajo la cobertura del Sistema Nacional de Salud en España. Se trata de un niño de Alicante de 6 años afectado de una leucemia linfoblástica aguda que fue derivado al Área de Oncología del Hospital Sant Joan de Déu después de haber sufrido dos recaídas de la enfermedad y haber sido sometido a un trasplante de progenitores hematopoyéticos (trasplante de médula ósea). Después de haber recibido la novedosa terapia, el niño ha regresado a su ciudad y ha podido retomar sus actividades habituales.

Kymriah® (tisagenlecleucel) de Novartis es la primera terapia T-CAR 19 financiada por el Ministerio de Sanidad, Consumo y Bienestar Social. Es un ejemplo de los nuevos medicamentos que permiten la personalización de los tratamientos oncológicos y, en este caso, del tratamiento de la leucemia linfoblástica aguda, el tipo de cáncer más frecuente entre los niños. Afecta a 3-4 de cada 100.000 pequeños. (25)

5.3. Vacunas terapéuticas para el cáncer

La mayoría de las vacunas preventivas desencadenan una respuesta de anticuerpos sencilla que protege contra numerosas infecciones. Sin embargo, las respuestas basadas en anticuerpos no son lo suficientemente fuertes como para destruir las células malignas del cáncer. Para ello, el sistema inmunitario necesita estimular los linfocitos T, de los que se distinguen dos tipos principales. Para diferenciarlos se hace referencia a sus receptores, CD4 o CD8, unas proteínas localizadas en la parte externa de la membrana celular. Los linfocitos T que expresan receptores CD8 (**CD8+**) son los mejor especializados en destruir células cancerosas, siempre que se les enseñe a reconocerlas como peligrosas.

En 2002, el Instituto nacional del Cáncer (NCI) de EE.UU. demostró que el linfocito T **CD4+** desempeñaba una esencial función en la respuesta de defensa contra el cáncer. Las células CD4+ dan órdenes a las células CD8+ sobre el objetivo que deben atacar y destruir.

Se demostró que para que una vacuna contra el cáncer tuviera éxito debía estimular a la vez células CD4+ y CD8+.

Para fabricar una vacuna contra el cáncer se necesitan tres pasos: el primero, determinar la característica molecular, o antígeno, de un tumor maligno que el sistema inmunitario reconocerá como extraño y por tanto intentará destruir. El segundo, decidir cómo administrar un agente desencadenante (o vacuna) que lleve al sistema inmunitario a atacar a las células del cáncer. Y el tercero, elegir los pacientes y el momento favorable en el curso de la enfermedad para administrar la vacuna.

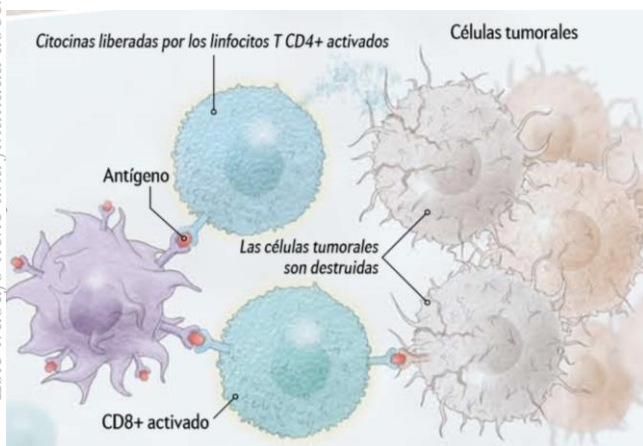
Cabe destacar tres estrategias que las compañías biotecnológicas están abordando para obtener vacunas terapéuticas.

1. **Vacuna con células enteras:** se extraen células del tumor de un paciente, se introduce en ellas material genético para una mejor identificación y se las irradia. Las células cancerosas muertas se reinyectan en el enfermo, lo que ofrece al sistema inmunitario numerosos objetivos a los que atacar.
2. **Vacuna peptídica:** la fabricación de una vacuna peptídica eficaz resultaría mucho más barata que otras estrategias basadas en células debido a que los péptidos, se pueden sintetizar sin tener que utilizar ningún tejido del paciente. Por ello, una parte del interés que despiertan las vacunas peptídicas reside en el tamaño reducido de los fragmentos proteicos, su síntesis poco costosa y su fácil manipulación. Esto hace que se puedan incluir en la formulación de una vacuna que se fabrique en grandes cantidades. Además, como los péptidos identificados se presentan en numerosos pacientes con distintos tipos de cáncer, se pueden utilizar en formulaciones que ayudarían a muchas personas.
3. **Vacuna con células dendríticas:** las células dendríticas ejercen labores de vigilancia en busca de antígenos y los presentan a los linfocitos T CD4+ y CD8+, que partir de ese momento reconocerán y atacarán cualquier célula que los incorpore. Seleccionando los antígenos en las células cancerosas, pero no en las sanas, y mezclándolos con células dendríticas del paciente fuera del cuerpo, se ha creado una vacuna que busca y destruye esas células tumorales durante el resto de la vida.

Se extraen células sanas, células tumorales y células dendríticas inmaduras del paciente. Se comparan los programas genéticos de las células malignas y sanas en busca de antígenos que se hallen solamente en las primeras. Estos antígenos se agregan a las células dendríticas, que los absorben y estas, ahora maduras, se reinyectan al paciente.

Las células dendríticas maduras presentan los antígenos específicos de las células cancerosas a los linfocitos T CD4+ (que responden segregando citocinas) y CD8+ (que desde ese momento reconocen y atacan las células tumorales portadoras de tales antígenos).

La quimioterapia o la radioterapia son dos tratamientos que demuestran en poco tiempo su efecto. En cambio, tras un tratamiento con una vacuna contra el cáncer, el sistema inmunitario podría tardar hasta un año antes de detener de modo notable el crecimiento del tumor. (7)



6.- CONCLUSIONES

1ª.- La inmunoterapia es una novedosa estrategia en neoplasias hematológicas ya que, en lugar de exponer el cuerpo a sustancias químicas tóxicas o la radiación para acabar con las células neoplásicas, vigoriza esas células complejas y altamente interactivas y manda señales de alarma moleculares para que las propias defensas del organismo ejecuten desde dentro esa misión. Hasta ahora los resultados han sido alentadores convirtiéndose así en una fundamental estrategia contra algunos tipos de neoplasias junto con la cirugía, la radioterapia y la quimioterapia.

2ª.- Basándonos en los inhibidores de checkpoint, la activación de la respuesta inmune mediante el bloqueo de los puntos de control negativos con anticuerpos monoclonales ha resultado ser un tratamiento exitoso para pacientes con diversos procesos neoplásicos siendo uno de los métodos prometedores de la inmunoterapia.

3ª.- Respecto a la terapia T-CAR, el tisagenlecleucel supone una innovación en el área de la onco-hematología, posicionándose como una herramienta terapéutica con gran utilidad potencial en dos indicaciones con escasas posibilidades terapéuticas. Es probable que los criterios de inclusión tan restrictivos en los ensayos clínicos y su elevado coste desplacen su acceso a corto plazo a pacientes con relativo buen estado funcional que no dispongan de otras alternativas farmacológicas adecuadas.

4ª.- En cuanto a la vacunación terapéutica, los datos que han aportado la investigación y los ensayos clínicos en los últimos años hacen pensar que, las vacunas terapéuticas desempeñarán un papel destacado (junto con la cirugía, la quimioterapia y la radioterapia) en el tratamiento de algunos de los tumores malignos más frecuentes que asolan a la humanidad.

7.- BIBLIOGRAFÍA

1. FS9S_Immunotherapy Facts_9_17.pdf [Internet]. [citado 22 de mayo de 2019]. Disponible en: https://www.ils.org/sites/default/files/file_assets/FS9S_Immunotherapy%20Facts_9_17.pdf
2. FT_98067001.pdf [Internet]. [citado 22 de mayo de 2019]. Disponible en: https://cima.aemps.es/cima/pdfs/ft/98067001/FT_98067001.pdf
3. Sumario 414 » Panorama Actual del Medicamento [Internet]. [citado 27 de mayo de 2019]. Disponible en: <http://pam.portalfarma.com/sumario-414/>
4. gazyvaro-epar-product-information_es.pdf [Internet]. [citado 27 de mayo de 2019]. Disponible en: https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/gazyvaro-epar-product-information_es.pdf
5. Botplusweb.portalfarma.com. BOT Plus 2. Base de Datos de Medicamentos [Internet]. [citado 27 de mayo de 2019]. Disponible en: <https://botplusweb.portalfarma.com/botplus.aspx?accion=FICHA&epigrafe=0&verDescripcion.x=1&clascodigo=01-298934>

6. FICHA TECNICA LEMTRADA 12mg concentrado para solucion para perfusion [Internet]. [citado 22 de mayo de 2019]. Disponible en: https://cima.aemps.es/cima/dohtml/ft/112869001/FT_112869001.html
7. Inmunoterapia contra el cáncer [Internet]. Investigación y Ciencia. [citado 23 de mayo de 2019]. Disponible en: <https://www.investigacionyciencia.es/revistas/especial/inmunoterapia-contra-el-cancer-748>
8. Diccionario de cáncer [Internet]. National Cancer Institute. 2011 [citado 23 de mayo de 2019]. Disponible en: <https://www.cancer.gov/espanol/publicaciones/diccionario>
9. Diccionario de cáncer [Internet]. National Cancer Institute. 2011 [citado 23 de mayo de 2019]. Disponible en: <https://www.cancer.gov/espanol/publicaciones/diccionario>
10. Shindiapina P, Alinari L. Pembrolizumab and its role in relapsed/refractory classical Hodgkin's lymphoma: evidence to date and clinical utility. Ther Adv Hematol. abril de 2018;9(4):89-105.
11. FT_1151014001.pdf [Internet]. [citado 23 de mayo de 2019]. Disponible en: https://cima.aemps.es/cima/pdfs/ft/1151014001/FT_1151014001.pdf
12. Botplusweb.portalfarma.com. BOT Plus 2. Base de Datos de Medicamentos [Internet]. [citado 27 de mayo de 2019]. Disponible en: <https://botplusweb.portalfarma.com/botplus.aspx?accion=FICHA&epigrafe=0&verDescripcion.x=1&clascodigo=01-299332>
13. FICHA TECNICA KEYTRUDA 25 MG/ML CONCENTRADO PARA SOLUCION PARA PERFUSION [Internet]. [citado 23 de mayo de 2019]. Disponible en: https://cima.aemps.es/cima/dohtml/ft/1151024002/FT_1151024002.html
14. Botplusweb.portalfarma.com. BOT Plus 2. Base de Datos de Medicamentos [Internet]. [citado 27 de mayo de 2019]. Disponible en: <https://botplusweb.portalfarma.com/botplus.aspx?accion=FICHA&epigrafe=0&verDescripcion.x=1&clascodigo=01-323753>
15. Más eficacia y menos toxicidad de la inmunoterapia con el bloqueo de TNF [Internet]. Diariomedico.com. 2019 [citado 23 de mayo de 2019]. Disponible en: <https://www.diariomedico.com/especialidades/inmunologia/el-bloqueo-profilactico-de-tnf-potencia-la-eficacia-y-reduce-la-toxicidad-de-la-inmunoterapia.html>
16. FT_1181277001.pdf [Internet]. [citado 23 de mayo de 2019]. Disponible en: https://cima.aemps.es/cima/pdfs/ft/1181277001/FT_1181277001.pdf
17. FDA Approves Mylotarg (Gemtuzumab Ozogamicin) for Acute Myeloid Leukemia [Internet]. [citado 23 de mayo de 2019]. Disponible en: <https://www.cancer.org/latest-news/fda-approves-mylotarg-gemtuzumab-ozogamicin-for-acute-myeloid-leukemia.html>

18. FT_112794001.pdf [Internet]. [citado 23 de mayo de 2019]. Disponible en: https://cima.aemps.es/cima/pdfs/ft/112794001/FT_112794001.pdf
19. Botplusweb.portalfarma.com. BOT Plus 2. Base de Datos de Medicamentos [Internet]. [citado 27 de mayo de 2019]. Disponible en: <https://botplusweb.portalfarma.com/botplus.aspx?accion=FICHA&epigrafe=0&verDescripcion.x=1&clascodigo=01-291206>
20. PONENCIAS-SEHH-VLC-2015.pdf [Internet]. [citado 23 de mayo de 2019]. Disponible en: https://www.sehh.es/images/stories/recursos/2015/comunicaciones_cientificas/PONENCIAS-SEHH-VLC-2015.pdf
21. Células T y CAR: manipulación de células inmunitarias para tratar el cáncer [Internet]. National Cancer Institute. 2013 [citado 27 de mayo de 2019]. Disponible en: <https://www.cancer.gov/espanol/cancer/tratamiento/investigacion/celulas-t-y-car>
22. Morán A. La inmunoterapia CAR T: nuevas armas frente al cáncer [Internet]. Dciencia. [citado 23 de mayo de 2019]. Disponible en: <http://www.dciencia.es/la-inmunoterapia-car-t-nuevas-armas-frente-al-cancer/>
23. Todos los ensayos clínicos que hay en marcha con terapias T-CAR [Internet]. Diariomedico.com. 2019 [citado 23 de mayo de 2019]. Disponible en: <https://www.diariomedico.com/investigacion/terapias-t-car-mas-de-20-ensayos-clinicos-5-de-ellos-publicos-y-84-pacientes-ya-tratados.html>
24. Tisagenlecleucel ▼Kymriah® (Novartis) en leucemia linfoblástica aguda de células B y linfoma difuso de células grandes B» Panorama Actual del Medicamento [Internet]. [citado 27 de mayo de 2019]. Disponible en: <http://pam.portalfarma.com/tisagenlecleucel-kymriah-novartis-en-leucemia-linfoblastica-aguda-de-celulas-b-y-linfoma-difuso-de-celulas-grandes-b/>
25. nota_prensa_inmunoterapia_cart_castellano.pdf [Internet]. [citado 23 de mayo de 2019]. Disponible en: https://www.sjdhospitalbarcelona.org/sites/default/files/u1/Sala_prensa/Noticias/2019/nota_prensa_inmunoterapia_cart_castellano.pdf