

ARTÍCULO ORIGINAL

Oportunidades y limitaciones para la manufactura de linfocitos CAR-T de grado clínico

Opportunities and limitations for the manufacturing of clinical-grade CAR-T cells

Fiorella Ojeda ^{1,2a}, José Félix  ^{1b}, Fanny L. Casado  ^{1,2c*}

¹ Grupo de Investigación en Dispositivos Médicos, Pontificia Universidad Católica del Perú, Lima, Perú.

² Instituto de Ciencias Ómicas y Biotecnología Aplicada, Pontificia Universidad Católica del Perú, Lima, Perú.

^a fiorella.ojeda@pucp.edu.pe, ^b jose.felixr@pucp.edu.pe, ^c fanny.casado@pucp.edu.pe

* Autor de correspondencia

| Recibido: 28/09/23 |
| Arbitrado por pares |
| Aceptado: 12/12/23 |

Resumen

La terapia con células CAR-T es uno de los tratamientos más prometedores para el cáncer; sin embargo, todavía se encuentra en las fases finales de estudio en ambientes clínicos. Consiste en extraer células T del donante, modificarlas genéticamente para que expresen un receptor de antígeno químérico e infundir las células modificadas en los pacientes. El objetivo de este artículo es evaluar los productos y procesos de producción de las células CAR-T ofrecidos con fines clínicos por empresas a nivel internacional para determinar el estado actual de estas tecnologías y su potencial aplicación en el Perú. Se concluye que a la fecha es una terapia inaccesible en el Perú debido a necesidades que incluyen: la optimización de los procesos de manufactura, mejoras en el acceso, la eficacia y la seguridad de las terapias CAR-T, y un mayor número de permisos regulatorios para terapias celulares tanto para cáncer como otras enfermedades.

Palabras claves: innovación en salud, cáncer, células CAR-T, terapias celulares, manufactura

Abstract

Cell therapy using CAR-T cells is one of the most promising treatment for cancer; however, it is still in the final phases of clinical trials. It involves extracting T cells from a donor, genetically modifying them to express a chimeric antigen receptor, and infusing the modified cells back into patients. The objective of this article is to evaluate the products and production processes of CAR-T cells offered for clinical purposes by companies internationally to determine the current state of these technologies and their potential application in Peru. We concluded that to date it is an inaccessible therapy in Peru due to needs including: optimization of manufacturing processes, improvements in access, effectiveness and safety of CAR-T therapies, and a larger number of regulatory approvals for cell therapies for both cancer and other diseases.

Keywords: health innovation, cancer, CAR-T cells, cellular therapy, manufacturing

Introducción

El cáncer es una enfermedad donde las células se multiplican sin control y pueden diseminarse a otras partes del cuerpo en sus estados más avanzados. Las células saludables se reemplazan continuamente, mientras que las células cancerosas se acumulan porque no mueren o porque se multiplican sin tomar en cuenta las señales de su ambiente para controlar su crecimiento y reproducción. Estas células forman tumores, que son cúmulos de tejido que impiden el funcionamiento saludable del cuerpo cuando son cancerosos (malignos) o pueden ser no cancerosos (benignos) con el potencial de volverse cancerosos (NCI, 2021).

Según Globocan, a nivel mundial, se estima una prevalencia de tumores malignos de más de 44 millones, siendo los tumores más prevalentes los que se presentan en el cáncer de mama, cáncer colorrectal, cáncer de próstata, pulmón y tiroides (GLOBOCAN, 2020). A nivel nacional, en el año 2020, la Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer (IARC, por sus siglas en inglés) estimó una incidencia estandarizada por

edades de 176.3 casos nuevos de cáncer en el Perú, considerando todos sus tipos, y una mortalidad de 85.5 defunciones por cada 100 mil habitantes (IARC, 2020).

El diagnóstico de cáncer suele darse en base a signos clínicos y biopsias que son muestras tomadas de los tumores. La toma de una biopsia es un procedimiento en el que un personal de salud extrae una muestra de tejido; luego, un patólogo observa el tejido procesado al microscopio y aplica tinciones en busca de pruebas para ver si el tejido es canceroso. Dependiendo del tipo de cáncer existen otras pruebas que permiten mayor especificidad sobre las características del tumor, tales como el grado del tumor o el grupo de riesgo al que pertenece para definir el mejor tratamiento (NCI, 2019).

Los ensayos clínicos son investigaciones científicas diseñadas para evaluar la seguridad y eficacia de nuevos tratamientos médicos. En la Fase 1, que puede involucrar de 20 a 100 voluntarios sanos o con la enfermedad en cuestión, se evalúa principalmente la seguridad y dosificación del tratamiento durante varios meses. Cerca del 70% de los medicamentos que pasan esta fase avanzan al siguiente nivel. En la Fase 2, participan hasta varios cientos de personas con la enfermedad objetivo, con una duración de estudio de varios meses a dos años, donde se evalúa la eficacia del tratamiento y los efectos secundarios. Alrededor del 33% de los medicamentos que superan esta fase avanzan a la siguiente. Sin embargo, es en la Fase 3, que implica de 300 a 3,000 voluntarios con la enfermedad o condición, donde se realizan estudios durante 1 a 4 años para evaluar la eficacia del tratamiento y monitorear reacciones adversas. Aproximadamente el 25-30% de los medicamentos que llegan a esta fase avanzan al siguiente nivel (U.S. FDA, 2019). Ciertos productos CAR T, que ya han superado estas tres fases, proporcionan evidencia más sólida sobre la eficacia del tratamiento en una población más grande y durante un período de tiempo más prolongado.

Los tratamientos se recomiendan según el tipo de cáncer, el estadío del cáncer y la salud general del paciente. Algunos tratamientos comunes son la cirugía que extirpa el tumor y los tejidos circundantes, la radioterapia, la quimioterapia, la inmunoterapia, la terapia dirigida y la terapia hormonal (U.S. National Library of Medicine, 2021). Los tratamientos presentan efectos secundarios como la fatiga, náuseas y vómitos, pérdida de cabello, riesgo de infección y problemas psicopedagógicos (NCI, 2023). En el Perú, existen algunos centros especializados en cáncer que ofrecen terapia celular dirigida, pero es importante destacar que no todos los centros ofrecen este tratamiento y que puede tener un costo elevado (Novas, 2020).

La terapia con células T con receptores de antígeno químérico (CAR-T, por sus siglas en inglés) implica la extracción de células T del paciente, la modificación genética de estas células para que expresen un receptor de antígeno químérico (CAR, por sus

siglas en inglés) y, finalmente, la infusión de las células modificadas en el paciente (Cancer.org, 2019). El origen de la terapia génica comienza en 1961, cuando se alteró genéticamente la hemoglobina en células de médula ósea obtenidas de un paciente con anemia de células falciformes. Desde ese momento, múltiples terapias génicas se realizaron a nivel experimental en diferentes países. Ya en 1999, la primera generación de terapias génicas había demostrado tener riesgos para un uso no regulado en humanos. Por ello, el objetivo posterior de la terapia génica era desarrollar vectores y formas de administrar las terapias génicas más seguros. En el 2017, la Administración de Alimentos y Medicamentos de los Estados Unidos (FDA, por sus siglas en inglés) aprobó la primera terapia CAR-T para tratar ciertos tipos de leucemia y linfoma (Genotipia, 2022). Actualmente, la principal limitación de la terapia con células CAR-T es la respuesta inmunitaria ya que puede causar efectos secundarios graves, incluyendo la liberación de citoquinas y toxicidad neurológica. Además, la terapia es extremadamente costosa y no es accesible en algunos países (Cancer.org, 2019).

El objetivo de este artículo es revisar los procesos de producción de las células CAR-T ofrecidos con fines clínicos por empresas a nivel internacional para evaluar el estado actual de estas tecnologías y su potencial aplicación en el Perú.

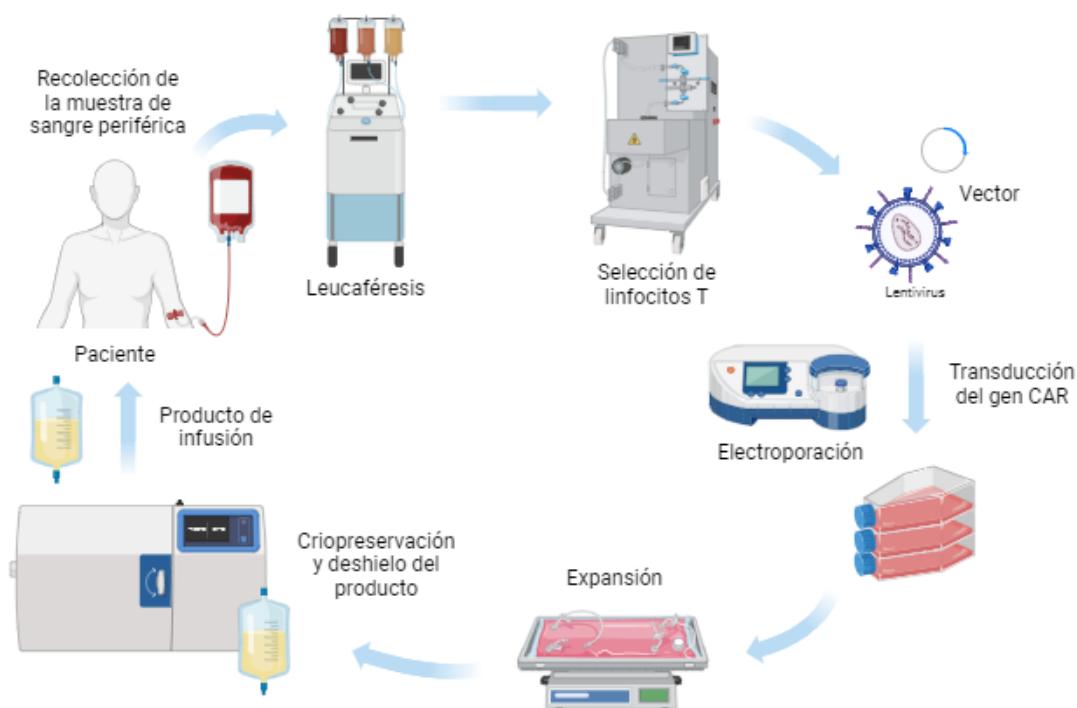
Manufactura de células CAR-T

El proceso de manufactura de células CAR-T suele tardar alrededor de 2-8 semanas, dependiendo de diversas variables (Novartis Pharmaceuticals Corporation, 2018) (Cohen et al., 2019). Comienza con la recolección de células de pacientes o donantes, seguida de la selección y enriquecimiento de células diana, la transferencia del constructo CAR y la expansión de las células transferidas. Para asegurar la correcta realización de cada una de las etapas, se mantiene una gestión rigurosa del control de calidad en diferentes puntos a lo largo de todo el protocolo (Levine, 2015).

La producción de células CAR-T puede realizarse mediante una amplia variedad de enfoques, aunque las etapas comunes son las mismas y el esquema general se repite sin importar las variaciones en el diseño o los anticuerpos específicos del tumor que se empleen (Wang & Rivière, 2016). En la Figura 1, se detalla el proceso general de manufactura de células CAR-T.

Figura 1

Proceso general de manufactura de células CAR-T. Realizado con Biorender.



Obtención y fuente celular

La materia prima para la producción de células CAR-T suele consistir de células autólogas después de un proceso de aféresis (o leucocitaféresis, en este caso), que consiste en recolectar la capa de células mononucleares de la sangre no coagulada para obtener sus linfocitos (Abou-el-Enein et al., 2021). Las células se obtienen de sangre periférica del paciente a tratar, y después de la aféresis. Los anticoagulantes añadidos a la sangre y sus componentes no deseados o con potencial inmunogénico no específico (monocitos, granulocitos, glóbulos rojos y plaquetas) deben ser removidos en una subetapa de lavado, o podrían alterar el comportamiento de las células durante la siguiente fase del protocolo (Ino et al., 2001) (McFarland et al., 2016). Las células T ya procesadas pueden usarse directamente o ser criopreservadas para uso posterior.

Por otro lado, las células CAR-T también pueden ser alogénicas al obtenerse de donantes sanos, aunque ocurre con menor frecuencia. La sangre de cordón umbilical, las células madre pluripotentes inducidas (iPSC, por sus siglas en inglés) y las células

madre embrionarias son opciones de fuentes de células T, cada una con sus propias características a considerar al hacer la selección (Depil et al., 2020).

La última subetapa involucra la definición de subconjuntos de células T, la aplicación de protocolos de estimulación para promover el desarrollo de las células en una etapa de maduración específica y el aislamiento de los linfocitos en base a su tamaño, densidad o a proteínas que funcionan como marcadores en la superficie de las células deseadas (Köhl et al., 2018).

Activación de células T

Para expandir células T ex vivo y transducir el gen CAR, se requiere una activación sostenida y adecuada que consiste en una señal primaria específica a través del receptor de células T y señales coestimuladoras (Wang & Rivière, 2016). En vivo, las células dendríticas (DCs, por sus siglas en inglés) o B presentan antígenos y moléculas coestimuladoras que activan las células T, pero, al trasladar este proceso a la práctica clínica, surgen complicaciones relacionadas con los sistemas de cultivo y con el sistema inmune de los pacientes (June, 2007).

El método más ampliamente usado para dicho propósito es la activación con microesferas paramagnéticas recubiertas de anticuerpos anti-CD3/CD28, que permiten la selección y activación de las células sin necesidad de retirar las microesferas hasta el momento de la recolección (Vormittag et al., 2018). El anticuerpo anti-CD3 proporciona una fuerte señal proliferativa a través del complejo receptor de células T y el anticuerpo anti-CD28 proporciona una señal coestimuladora (Levine, 2015). También puede usarse, el método basado en células que consiste en el cocultivo de células T con células mononucleares de sangre periférica alogénicas irradiadas, conocidas también como células alimentadoras o de soporte (Levine, 2015). En este caso, las células presentadoras de antígenos actúan como activadores endógenos de las respuestas de las células T. Para ello, se ha investigado el uso de DCs y de células presentadoras de antígenos artificiales (AAPCs, por sus siglas en inglés) (Wang & Rivière, 2016). Otros métodos de activación, se basan en la activación basada en microesferas paramagnéticas con reactivos, la activación con nanoesferas recubiertas de anticuerpos, la tecnología de Expamer desarrollada por Juno Therapeutics o la activación con anticuerpos anti-CD3 (Wang & Rivière, 2016).

Transferencia de gen CAR

Para la transferencia del gen CAR, se ha utilizado métodos como la electroporación de ADN, la transferencia por vectores virales y sistemas de transposón/transposasa basados en plásmidos. La transducción viral es el método más ampliamente utilizado en ensayos clínicos (especialmente con lentivirus y retrovirus), debido a que en comparación con otros métodos, alcanza mayores índices de seguridad y eficacia en la transducción, a pesar de su elevado costo (Brentjens et al., 2011). La transducción viral requiere de líneas celulares de empaquetamiento, es decir, líneas celulares especializadas que se utilizan en la industria para fabricar vectores virales acorde a las buenas prácticas de manufactura. Sin embargo, el procedimiento consume grandes cantidades de recursos, debido a que requiere una sala limpia individual y pruebas de liberación de vectores adicionales. En el caso de los vectores lentivirales, se suelen producir principalmente por transfección transitoria con cantidades elevadas de ADN plasmídico; aumentando su costo en comparación con los vectores retrovirales, que solo requieren líneas celulares de empaquetamiento estables (Vormittag et al., 2018).

Por otro lado, la electroporación de ADN en forma de plásmidos emplea corriente eléctrica en una solución conductora de células y el plásmido con el gen CAR para ingresarlo por la membrana celular. Esto genera un breve impulso eléctrico que genera aperturas en la bicapa fosfolipídica, porque el campo eléctrico aplicado crea un potencial transmembrana que induce la formación de poros en las zonas con mayor potencial. Este método permite ingresar secuencias de mayor longitud que la transducción viral, lo que facilita la adición de otros genes aparte del CAR que incrementan la eficacia, pero también aumenta los niveles de citotoxicidad y reduce la tasa de efectividad en la transfección (Harris & Elmer, 2018). El estudio de Yang et al. empleó dicha estrategia para insertar el gen CAR en el locus de la región constante alfa del receptor de células T (TRAC, por sus siglas en inglés), obteniendo una efectividad en la transfección de alrededor de 30% (Yang et al., 2022).

Recientemente, ha surgido el método de transferencia de genes por sistemas de transposón/transposasa. Un transposón es un fragmento de material genético capaz de cambiar su posición en el genoma mediante escisión e inserción de una enzima denominada transposasa. Al usar este sistema, se puede insertar el gen CAR, junto con elementos que regulan su expresión, en una secuencia de transposón dentro de un plásmido, y la transposasa puede ir codificada dentro del mismo transposón o por separado. Mediante electroporación, o algún otro método de transfección, el plásmido ingresa en las células T previo a la activación. La transposasa actúa cortando el transposón con el gen CAR y permite la inserción de su secuencia en el genoma de la célula T (Vormittag et al., 2018).

Expansión de células CAR-T

La etapa de expansión en el proceso de producción es crítico para obtener la cantidad suficiente de dosis para uso terapéutico; lo que implica la expansión ex vivo de las células CAR T transferidas, porque las cantidades de células extraídas del paciente suelen ser relativamente pequeñas. La duración de esta fase varía según la cantidad requerida de células CAR T y la cantidad inicial de linfocitos T recolectados. Para ello se deben tomar ciertas consideraciones, debido a que una mayor cantidad de producto se relaciona directamente con una mayor diferenciación celular, por ende, menor capacidad antitumoral (Reddy et al., 2020).

Dado que la expansión de células T requiere cultivo *in vitro* en condiciones que promuevan la proliferación y la supervivencia de dichas células, se debe suministrar citoquinas al medio de cultivo celular. Las citoquinas que suelen emplearse son las de tipo I, especialmente las pertenecientes a la familia de cadena gamma γ, por su papel en la supervivencia, proliferación y diferenciación de las células T. El ejemplo de uso más extendido para manufactura de células CAR T es IL-2, a pesar de que presenta ciertos problemas relacionados a la diferenciación y la pérdida del fenotipo (Rochman et al., 2009).

En esta fase, es posible usar una variedad de sistemas de cultivo cerrados, como biorreactores, bolsas de cultivo, frascos o placas. Sin embargo, el 43% de los ensayos clínicos con células CAR T emplean biorreactores para la expansión (Roddie et al., 2019) porque proporcionan un mejor control de los parámetros de cultivo. Por ejemplo, el biorreactor G-Rex consta de un frasco de cultivo con una base de membrana permeable a gases que permite el crecimiento hasta altas densidades celulares sin comprometer el intercambio de gases. Además, posee una baja densidad de siembra, alimentación única inicial, cultivo celular fácil en incubadora y volumen reducido en la cosecha (Brentjens et al., 2003).

Criopreservación y descongelamiento

La criopreservación y el descongelamiento de células CAR T permiten la conservación del producto obtenido para su posterior uso terapéutico y la realización de pruebas de control de calidad. Este paso puede llevarse a cabo antes o después de la manufactura del producto final, y se considera un procedimiento crítico debido a que su incorrecta realización puede conllevar una reducción del número de células, deterioro de la viabilidad y alteración del fenotipo y la función celular (Germann et al., 2013).

Para proceder con la criopreservación, se deben congelar las células CAR T en una solución crioprotectora para evitar el daño celular y mantener su viabilidad durante el periodo de almacenamiento. Durante la criopreservación, las células CAR T expandidas generalmente se recolectan, lavan y resuspenden en una solución de crioprotección que generalmente contiene dimetilsulfóxido (DMSO) en su composición, como Cryostor®, con 10% de DMSO y de uso común para células CAR T (Dreyzin et al., 2022). A continuación, la suspensión celular se divide en varios viales y se congela con un gradiente de temperatura controlado. Los viales generalmente se almacenan en contenedores de nitrógeno líquido hasta que se utilicen para el procesamiento (Ghassemi & Milone, 2019). El uso de material fresco puede tener ventajas, pero la capacidad de criopreservar el material inicial también permite un proceso de fabricación más eficiente y probablemente menos costoso, fácilmente ajustable a la industria y los laboratorios de terapia celular (Hanley, 2019).

Finalmente, el último paso es el descongelamiento de las células CAR T criopreservadas, que generalmente se realiza poco antes de la infusión. Los viales de células se descongelen a 37 °C para garantizar la viabilidad durante el procesamiento. Después de descongelar las células, éstas se lavan y se resuspenden en un medio de cultivo apropiado, por ejemplo RPMI 1648 suplementado (Germann et al., 2013) o HBSS (Cai et al., 2021) para después resuspenderse en una solución apropiada para su infusión, como suero humano o una solución salina estéril. Es importante mantener la viabilidad, la potencia y la pureza de las células CAR T durante la criopreservación y el descongelamiento.

Las células CAR T criopreservadas adecuadamente deben mantener su función y viabilidad durante períodos prolongados, lo que permite que los pacientes reciban múltiples dosis si es necesario (Rioufol & Wichmann, 2022). Por ello, la criopreservación y el descongelamiento son pasos esenciales en la preparación de células CAR T que permiten su almacenamiento y la conservación a largo plazo para uso futuro.

Metodología

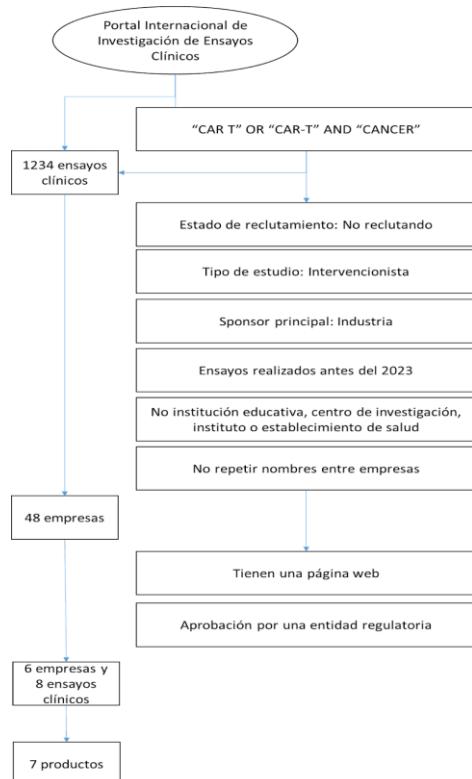
La búsqueda de compañías que provean terapias basadas en células CAR T se llevó a cabo utilizando el portal de búsqueda del Portal Internacional de Investigación de Ensayos Clínicos (ICTRP, por sus siglas en inglés), una base de datos de acceso público de la OMS (World Health Organization, 2023) en Junio del 2023. Esta base de datos contiene información sobre los ensayos clínicos realizados a nivel internacional. Para ello, se utilizó el comando “CAR T” OR “CAR-T” AND “CANCER”, con el cual se <https://doi.org/10.54353/ritp.v4i2.e001>

obtuvieron 1234 resultados sobre ensayos clínicos con células CAR T. Sobre estos resultados, se filtró la información en base al siguiente criterio de inclusión: el estado de reclutamiento debía ser: no reclutando y el tipo de estudio: intervencionista. Además, se limitó la búsqueda a ensayos clínicos realizados antes del 2023. Después de recopilar los ensayos, se seleccionó aquellos que no fueron realizados por un instituto, centro de investigación, institución educativa o establecimiento de salud. Luego, se extrajo los nombres de los patrocinadores restantes de forma que no se repitieran, obteniendo una lista de 48 empresas.

Adicionalmente, se seleccionó solo las empresas que cuentan con una página web para acceder a la información ya que esto demuestra transparencia, confianza, colaboración y supervisión de la compañía. Además, es necesario que los ensayos clínicos resulten en productos y estos tengan una aprobación por un entidad regulatoria. Se verificó que las compañías no se repitieran pese a manejar varias denominaciones como el caso de CAR-T Biotechnology Co.,Ltd y CAR-T Cell Biotechnology Co.,Ltd. Finalmente, se obtuvieron 6 empresas, 8 ensayos clínicos y 7 productos (Figura 2).

Figura 2

Metodología empleada para seleccionar los productos



Resultados

En base a la metodología, la tabla 1 detalla el nombre de la compañía, el número de ensayos clínicos, el número de productos CAR-T, nombre de los productos, código de aprobación de la entidad regulatoria; y la tabla 2 detalla los procesos de manufactura.

Tabla 1

Compañías comercializadoras y nombre de los productos empleados en ensayos clínicos registrados en la OMS.

Nombre de la compañía	Dirección web	Número de ensayos clínicos	Número de productos CART	Nombre de los productos	Código de aprobación de la FDA	Tipo de cáncer
CARsgen Therapeutics Co., Ltd.	https://www.carsgen.com/	1	1	Zevor-cel (CT053)	-	Mieloma múltiple en recaída y/o refractario
Janssen Pharmaceutical K.K.	https://www.janssen.com/es	2	2	Breyanzi (*)	125714	Linfoma de células B grandes en recaída o refractario
				Abecma (*)	125736	Múltiples múltiple refractario
Kite, A Gilead Company	https://www.kitepharma.com/	1	2	Yescarta	125643	Cáncer de células B grandes en recaída o refractario
				Tecartus	125703	Pacientes adultos con células B recidivantes o

							refractarias (r/r) leucemia linfoblástica aguda preursora
Legend Biotech USA Inc	https://legendbiotech.com/	1	1	Carvykti	125746	Pacientes adultos con mieloma múltiple en recaída o refractario	
Nanjing IASO Biotherapeutics Co.,Ltd	https://www.iasobio.com/	1	1	CT103A	-	Mieloma múltiple en recaída/refractario	
Novartis Pharmaceuticals	https://www.novartis.com/	1	1	Kymriah	125646	Pacientes adultos con linfoma folicular en recaída o refractario	

(*) Abecma y Breyanzi son manufacturados por Juno Therapeutics, Inc., a Bristol Myers Squibb Company

Tabla 2

Selección de procesos de manufactura final de los productos obtenidos en la metodología

Producto	Obtención (Tipo de célula // Proceso)	Activación	Transferencia (Tipo de vector)	Respuesta terapéutica (*, **)	Blanco celular	Referencias
Breyanzi	Células T CD8 + y CD4 + //	-	Lentiviral	ORR 73 % CR 53 %	CD19	(Lu & Jiang, 2022) (Simmons &

	Leucáférasis					Castaneda, 2022)
Yescarta	Células T autólogas // Leucáférasis	Activación con perlas paramagnéticas recubiertas de anticuerpos monoclonales anti-CD3/CD28 y IL-2	Retroviral	ORR 83 % CR 65%,	CD19	(Vormittag et al., 2018) (Lu & Jiang, 2022) (Master, 2019) (U.S. FDA, 2022)
Carvykti	Células T autólogas // Leucáférasis	El dominio CD3-ζ actúa como señal estimuladora y el 4-1BB (CD137), como señal coestimuladora in vivo	Lentiviral no replicativo	ORR 97,9 %	BCMA	(Lu & Jiang, 2022) (Ye, 2022) (Janssen, 2023)
Kymriah	Células T autólogas // Leucáférasis	Perlas conjugadas de anticuerpos CD3/CD28, y el dominio CD3-ζ actúa como señal estimuladora y, el 4-1BB (CD137), como señal coestimuladora	Lentiviral auto inactivante	ORR 52 %	CD19	(Lu & Jiang, 2022) (Master, 2019) (Lu, 2017)

Tecartus	Células T autólogas CD19	La activación de las células T y la función efectora antitumoral después de la unión del scFv a CD19	Lentiviral	CR 71%	CD19	(Lu & Jiang, 2022)
Zevor-cel (CT053)	Células T autólogas // Leucáférasis	El dominio CD3- ζ actúa como señal estimuladora y, el 4-1BB (CD137), como señal coestimuladora in vivo.	Lentiviral	ORR 87,5 % CR 79,3 %	BCMA	(Simmons & Castaneda, 2022)
Abecma	Células T autólogas // Leucáférasis	Anticuerpos anti-CD3 y anti-CD8 en presencia de IL-2.	Lentiviral	ORR 72%	BCMA	(ABECMA [package insert], 2021) (ABECMA, 2021)
CT103A	Células T autólogas // Leucáférasis	-	Lentiviral	-	BCMA	(IASO Therapeutics, s.f.) (IASO Therapeutics, s.f.) (Qin et al., 2023)

(*) ORR: Tasa de respuesta objetiva (*Objective Response Rate*). Es un indicador que representa el porcentaje de pacientes que experimentaron una respuesta parcial o completa al tratamiento.

(**) RC: Respuesta completa (*Complete Response*). Indica que no hay evidencia de enfermedad después del tratamiento.

Discusión

La metodología se basó en identificar los ensayos clínicos que se encuentran dentro del registro de la OMS para incluir ensayos en diferentes partes del mundo. La mayoría de terapias genéticas y celulares aún se encuentran en fases de estudios clínicos y muy pocas han logrado generar un producto comercial. Por ejemplo, actualmente, existen 29 productos para la terapia celular o genética aprobados por la FDA. El resultado de esta metodología muestra seis de estos productos aprobados por la FDA. En estos reportes, se encuentra el proceso de manufactura de cada producto como una revisión general porque en ciertos párrafos existe una restricción de tipo "(b)4" que significa confidencialidad por fines comerciales. Tal es el caso del producto Carvykti (Ye, 2022), pues ciertos detalles acerca de su composición, manufactura, controles de calidad y especificaciones han sido suprimidos en las bases reguladoras publicadas por la FDA. Esto incluye detalles sobre el tipo de células T utilizadas, la naturaleza exacta del vector lentiviral, información sobre el promotor usado para controlar la expresión del gen CAR, así como detalles sobre la formulación y el proceso de criopreservación de las células, la ubicación exacta del centro de fabricación e información detallada sobre los equipos y sistemas utilizados en el proceso (e.g. sistema de enriquecimiento, tipo específico de bolsa de criopreservación). Omisiones similares se encontraron en las bases reguladoras correspondientes a los productos Kymriah (Lu, 2017) y Breyanzi (Bryan et al., s.f.).

A pesar de la amplia cantidad de resultados obtenidos en la base de datos de ensayos clínicos de la OMS, al profundizar en los patrocinadores de los estudios, se encontró que únicamente un número limitado de ellos contaban con la autorización de la FDA para la comercialización de al menos un producto basado en células CAR T. Esta disparidad entre la cantidad de ensayos clínicos y la falta de aprobación regulatoria se puede atribuir al período estimado de entre 10 y 15 años que demora la realización de los ensayos clínicos para nuevos tratamientos que pretendan obtener la aprobación de la FDA (Cancer Research UK, s.f.). Los productos aprobados, en su mayoría, se caracterizan por pertenecer a la segunda generación de CARs, que incluye los dominios de activación y coestimulación incorporados a los CAR contra el antígeno CD19 (van der Stegen et al., 2015). Esto es relevante porque el primero de dichos productos en obtener la aprobación de la FDA, YesCarta, la recibió en el año 2017 (U.S. Food and Drug Administration, 2017), aproximadamente 14 años después de que el Dr. Sadelain y sus colegas publicaron un artículo demostrando que las células CAR-T dirigidas a CD19 humanas pueden matar a las células leucémicas en un modelo de ratón, dando inicio a la segunda generación de CARs (Brentjens et al., 2003). Sin embargo, la terapia con células CAR-T no ganaría popularidad sino hasta después del 2010, siendo un hito importante su designación como terapia "innovadora" por parte de la misma FDA en el 2014 (Memorial Sloan Kettering Cancer Center, s.f.). Tomando esto en cuenta, es lógico que el grueso de ensayos clínicos identificados no hayan desembocado aún en la

obtención de la aprobación por la FDA, pues desde el denominado “boom” de las células CAR-T, han transcurrido poco menos de 10 años.

Yescarta (Vormittag et al., 2018) (Lu & Jiang, 2022) (Master, 2019) (U.S. FDA, 2022), Tercartus (Lu & Jiang, 2022) y Breyanzi (Lu & Jiang, 2022) (Bryan et al., s.f.) son inmunoterapias celulares autólogas modificadas genéticamente dirigidas a CD19 que constan de células T autólogas que se han transducido con un vector lentiviral que codifica un receptor de antígeno quimérico (CAR) diferente. Por ejemplo, Yescarta codifica un receptor de anti-CD19, CD28/CD3-zeta, Tecartus codifica un receptor de anti-CD19CD28/CD3ζ y Breyanzi un receptor de antígeno quimérico (CAR) anti-CD19, CD28/4-1BB. La expresión de CD19 está restringida al linaje de células B, presente en células B sanas y retenida por la mayoría de los tumores malignos que surgen de las células B, incluidos los linfomas no Hodgkin de células. La manufactura de Zevor-cel (Bryan et al., s.f.), Kymriah (Lu & Jiang, 2022) (Master, 2019) (Lu, 2017) y Carvykti (Lu & Jiang, 2022) (Ye, 2022) (Janssen, 2023) presenta sutiles diferencias en sus procesos de manufactura, que influyen en su capacidad para llegar a una mayor población de pacientes con cáncer. Las tres terapias utilizan células T autólogas, lo que implica un proceso de manufactura con alto grado de personalización, suponiendo una ventaja de adaptarse a las características únicas de cada paciente y, en teoría, ofrecer un tratamiento más específico. Sin embargo, este proceso personalizado también presenta desventajas en términos de escalabilidad y tiempo requerido para la producción. Sobre el producto CT103A (IASO Therapeutics, s.f.) (IASO Therapeutics, s.f.) (Qin et al., 2023), la información relativa a su proceso de manufactura era limitada en comparación con las otras terapias, lo que dificulta su análisis.

La recolección y expansión de las células T del paciente consume una considerable cantidad de tiempo, lo que puede limitar su disponibilidad para un mayor número de pacientes y generar demoras en el acceso al tratamiento. Además, la complejidad del proceso personalizado puede aumentar los costos y la logística asociada con la manufactura y administración del producto. Una diferencia notable entre los productos es el antígeno al que se dirigen, siendo Kymriah específico para CD19 y las otras dos para BCMA. Por otro lado, Kymriah se caracteriza por su diseño modular y escalable, lo que permite una producción más eficiente y rápida en comparación con otros productos CAR-T. Este enfoque se basa en el uso de biorreactores y la estandarización de los procesos de manufactura. Estas características podrían facilitar una mayor disponibilidad y acceso al tratamiento para un número significativo de pacientes. Kymriah, por su lado, tiene un proceso más largo y costoso, lo que limita su escalabilidad; mientras que Zevor-cel omite parte de su proceso de manufactura en la información que brinda, por lo que una comparación apropiada no es posible en su caso.

Haciendo un énfasis especial en los productos Breyanzi y Abecma (ABECMA, 2021), ambos con aprobación de la FDA y manufacturados por la compañía Bristol Myers Squibb, se identificó una diferencia en sus ensayos clínicos finalizados. Según la página web de la compañía Bristol Myers Squibb, para el caso de Abecma, solo se han completado ensayos clínicos en fase 2. En la aprobación otorgada por la FDA, se corrobora dicha información, por lo que su uso está condicionado al fallo de otras líneas terapéuticas previas (U.S. FDA, 2023). A diferencia de Breyanzi, que sí ha superado la tercera fase en sus ensayos clínicos (U.S. FDA, 2022).

La concentración de productos terapéuticos basados en células CAR-T en una cantidad reducida de empresas comercializadoras tiene un impacto negativo en la administración de la terapia a los pacientes, debido a su elevado costo y ausencia de opciones. Actualmente, las terapias con células CAR-T se mantienen en el rango entre \$375,000 a \$475,000 con una única infusión, que no considera el manejo de las complicaciones clínicas (Hernandez et al., 2018). Vista la gran cantidad de ensayos clínicos que se encuentran en desarrollo, se esperaría que un porcentaje considerable de ellos culminen en la aprobación de una nueva terapia basada en células CAR-T. Con ello, durante la siguiente década, la disponibilidad y el rango de opciones terapéuticas se debería expandir en todo el mundo, a la par que el costo de dichas terapias se debería reducir por la salida al mercado de nuevos productos.

La manufactura de células CAR-T en el Perú enfrenta varias limitaciones, tanto de naturaleza biotecnológica como logística y regulatoria. Abordando el aspecto biotecnológico mediante una comparación sobre la viabilidad de los procesos de manufactura de células CAR-T entre países en los cuales estos procesos sí son realizable y el Perú, se elaboraron las siguientes observaciones en algunos procesos de manufactura.

En primer lugar, la infraestructura y acceso a reactivos biotecnológicos especializados necesarios para la producción y expansión de células CAR-T son limitados en el país. Esto incluye laboratorios de cultivo celular y equipos de bioprocесamiento, cuya falta puede dificultar la producción eficiente y segura de estas terapias. En el caso de la recolección de sangre periférica del paciente y aislamiento de células T por leucaférésis, éste sí puede realizarse, ya que se dispone de equipos y procedimientos establecidos para la extracción de muestras en los establecimientos de salud. La modificación genética, por otro lado, involucra procedimientos y materiales distintos; lo que puede ser una limitante en el Perú, ya que éstos son complicados de obtener. Por ejemplo, la utilización de plásmidos en el Perú tiene lapsos prolongados de entrega que, para un laboratorio de investigación es posible esperar; sin embargo, en el desarrollo de una terapia celular, la espera representa un riesgo a la salud del paciente.

Abordando los aspectos regulatorios, económicos y de capacitación del personal, se requiere regular los procedimientos de manufactura de células CAR-T en el Perú, ya que las terapias con células CAR-T actualmente no se generan en el Perú, por lo que no cuentan con un marco regulatorio específico establecido como es el caso de Europa (McGrath & Machalik, 2022), aunque sí existen regulaciones respecto a la generación de terapias celulares en general y de otros tipos (EsSalud, 2009).

Además, es importante establecer convenios de transferencia tecnológica entre centros experimentados en producción de terapias celulares y centros de tratamiento. Sin embargo, para ello se requiere identificar a los centros especializados en terapias celulares en el Perú. A pesar de los altos costos asociados con la implementación de instalaciones de fabricación de terapias celulares, debido al requerimiento de equipos especializados, las cadenas logísticas para obtención de reactivos y materiales, a construcción de instalaciones especializadas y la capacitación de personal, estos sí han surgido en Perú durante las últimas décadas, y actualmente funcionan en territorio nacional cumpliendo con dichos requerimientos (Rubio, 2023). Finalmente, se requiere promover la capacitación de profesionales de salud experimentados para reconocer y manejar las reacciones adversas graves asociadas con el tratamiento para realizar dichos procedimientos e instalaciones médicas altamente especializadas que garanticen buenas prácticas de manufactura, laboratorio y almacenamiento, bioseguridad y gestión de riesgos biológicos, y la procuración, preservación, procesamiento y trasplante de tejidos. Esto podría crear sinergia con la experiencia en el Perú realizando ensayos para diversas enfermedades que de acuerdo a nuestra búsqueda en PubMed se ha duplicado de 413 (Málaga, 2012) a 836 publicaciones luego de 10 años.

Conclusiones

El desarrollo de terapias oncológicas basadas en las tecnologías para la producción de células CAR-T ha mostrado avances significativos en los últimos años, demostrando su capacidad para generar respuestas clínicas prometedoras. Actualmente, existen ensayos clínicos en curso que exploran el potencial de estas terapias para lograr la obtención de autorización por parte de las agencias reguladoras y empezar a comercializar estos productos. Sin embargo, los desafíos ligados al proceso descrito persisten. Si bien se han logrado aprobaciones limitadas, la mayoría de los ensayos clínicos aún están en fases tempranas o intermedias, y se requiere una mayor evidencia científica para respaldar su eficacia y seguridad en diferentes tipos de cáncer.

Es importante destacar que los resultados obtenidos hasta ahora con las terapias CAR-T han generado un gran interés y una creciente demanda de acceso a estas opciones de tratamiento por parte de los pacientes y de la comunidad médica. No

obstante, la demora en la culminación de los ensayos clínicos y la obtención de autorizaciones regulatorias genera limitaciones en el acceso a estas terapias para una población más amplia de pacientes con cáncer. En el futuro, se espera que se realicen avances significativos en la optimización de los procesos de manufactura, con el objetivo de mejorar el acceso, la eficacia y la seguridad de las terapias CAR-T, y se amplíe la aprobación regulatoria para más tipos de cáncer e incluso diferentes enfermedades, lo que permitirá un acceso más amplio a estas terapias en países denominados LMICs como el Perú.

Contribución de autoría

FO y JF diseñaron el estudio, recogieron los datos y escribieron el primer borrador. FC concibió el estudio y revisó de manera crítica el manuscrito. FO, JF y FC analizaron, interpretaron los resultados y revisaron el manuscrito final.

Conflictos de interés

Los autores no tienen ningún conflicto de interés que declarar.

Referencias bibliográficas

- Abou-El-Enein, M., Elsallab, M., Feldman, S. A., Fesnak, A. D., Heslop, H. E., Marks, P., Till, B. G., Bauer, G., & Savoldo, B. (2021). Scalable Manufacturing of CAR T cells for Cancer Immunotherapy. *Blood cancer discovery*, 2(5), 408–422.
- Brentjens, R. J., Latouche, J. B., Santos, E., Marti, F., Gong, M. C., Lyddane, C., King, P. D., Larson, S., Weiss, M., Rivière, I., & Sadelain, M. (2003). Eradication of systemic B-cell tumors by genetically targeted human T lymphocytes co-stimulated by CD80 and interleukin-15. *Nature medicine*, 9(3), 279–286.
- Bryan, W., et al. (s.f.). Summary Basis for Regulatory Action Template Breyanzi. Available:
<https://fda.report/media/146242/Summary+Basis+for+Regulatory+Action+-+BREYANZI.pdf>
- Cai, Y., Prochazkova, M., Jiang, C., Song, H. W., Jin, J., Moses, L., Gkitsas, N., Somerville, R. P., Highfill, S. L., Panch, S., Stroncek, D. F., & Jin, P. (2021). Establishment and validation of in-house cryopreserved CAR/TCR-T cell flow cytometry quality control. *Journal of translational medicine*, 19(1), 523. <https://doi.org/10.1186/s12967-021-03193-7>

- Cancer.org. (2019). Terapia de células CAR-T y sus efectos secundarios. <https://www.cancer.org/es/tratamiento/tratamientos-y-efectos-secundarios/tipos-de-tratamiento/immunoterapia/terapia-de-celulas-t.html>
- Cohen, A. D., Garfall, A. L., Stadtmauer, E. A., Melenhorst, J. J., Lacey, S. F., Lancaster, E., Vogl, D. T., Weiss, B. M., Dengel, K., Nelson, A., Plesa, G., Chen, F., Davis, M. M., Hwang, W. T., Young, R. M., Brogdon, J. L., Isaacs, R., Pruteanu-Malinici, I., Siegel, D. L., Levine, B. L., ... Milone, M. C. (2019). B cell maturation antigen-specific CAR T cells are clinically active in multiple myeloma. *The Journal of clinical investigation*, 129(6), 2210–2221.
- Depil, S., Duchateau, P., Grupp, S.A. et al. 'Off-the-shelf' allogeneic CAR T cells: development and challenges. *Nat Rev Drug Discov* 19, 185–199 (2020).
- Dreyzin, A., Panch, S. R., Shalabi, H., Yates, B., Highfill, S. L., Jin, P., Stroncek, D., & Shah, N. N. (2022). Cryopreserved anti-CD22 and bispecific anti-CD19/22 CAR T cells are as effective as freshly infused cells. *Molecular therapy. Methods & clinical development*, 28, 51–61. <https://doi.org/10.1016/j.omtm.2022.12.004>
- EsSalud. (2009). Normas Para La Investigación Clínica En Terapia Celular y Medicina Regenerativa de ESSALUD. [En línea]. Disponible en: https://ww1.essalud.gob.pe/compendio/pdf/0000002878_pdf.pdf
- Ghassemi, S., & Milone, M. C. (2019). Manufacturing Chimeric Antigen Receptor (CAR) T Cells for Adoptive Immunotherapy. *Journal of visualized experiments : JoVE*, (154), 10.3791/59949.
- Genotipia. (2022). Historia de la Terapia génica. <https://genotipia.com/historia-de-la-terapia-genica/>
- Germann, A., Oh, Y.-J., Schmidt, T., Schön, U., Zimmermann, H., & von Briesen, H. (2013). Temperature fluctuations during deep temperature cryopreservation reduce PBMC recovery, viability and T-cell function. *Cryobiology*, 67(2), 193–200. <https://doi.org/10.1016/j.cryobiol.2013.06.012>
- GLOBOCAN. (2020). Estimación de la prevalencia a los 5 años del diagnóstico de cáncer a nivel mundial para el año 2020. https://seom.org/images/LAS_CIFRAS_DEL_CANCER_EN_ESPANA_2022.pdf
- Hanley, P. J. (2019). Fresh versus frozen: Effects of cryopreservation on CAR-T cells. *Molecular Therapy*, 27(7), 1213–1214.
- Harris, E., & Elmer, J. J. (2018). Optimization of electroporation and other non-viral gene delivery strategies for T cells. *Biotechnology Progress*, 37(1), e3066. <https://doi.org/10.54353/ritp.v4i2.e001>

IASO Therapeutics. (s.f.). Science & Products - Manufacturing. IASO Therapeutics. Disponible: <https://www.iasobio.com/operation.php>

IASO Therapeutics. (s.f.). Science & Products - Pipeline. IASO Therapeutics. Disponible: <https://www.iasobio.com/proline.php>

Ino, K., Ageitos, A. G., Singh, R. K., & Talmadge, J. E. (2001). Activation-induced T cell apoptosis by monocytes from stem cell products. International immunopharmacology, 1(7), 1307–1319.

Instituto Nacional del Cáncer. (2021). ¿Qué es el cáncer? <https://www.cancer.gov/espanol/cancer/naturaleza/que-es#:~:text=El%20c%C3%A1ncer%20que%20se%20disemin%C3%B3,cancerosa s%20que%20el%20c%C3%A1ncer%20primario>

Instituto Nacional del Cáncer. (2019). Cómo se diagnostica el cáncer. <https://www.cancer.gov/espanol/cancer/diagnostico-estadificacion/diagnostico>

Instituto Nacional del Cáncer. (2023). Efectos secundarios del tratamiento del cáncer. <https://www.cancer.gov/espanol/cancer/tratamiento/efectos-secundarios>

International Agency for Research on Cancer. (2020). Global Cancer Observatory: Cancer Today. iarc.fr. <https://gco.iarc.fr/today/home>

Janssen. (2023). CARVYKTI - Manufacturing Process. Janssenscience.com. Disponible: <https://www.janssenscience.com/products/carvykti/medical-content/carvykti-manufacturing-process>

June C. H. (2007). Principles of adoptive T cell cancer therapy. The Journal of clinical investigation, 117(5), 1204–1212.

Köhl, U., Arsenieva, S., Holzinger, A., & Abken, H. (2018). CAR T Cells in Trials: Recent Achievements and Challenges that Remain in the Production of Modified T Cells for Clinical Applications. Human gene therapy, 29(5), 559–568.

Levine, B. Performance-enhancing drugs: design and production of redirected chimeric antigen receptor (CAR) T cells. Cancer Gene Ther 22, 79–84 (2015).

Lu, X. (2017). Summary Basis for Regulatory Action. [Online]. Disponible: <https://www.fda.gov/files/vaccines%2C%20blood%20%26%20biologics/published/August-30--2017-Summary-Basis-for-Regulatory-Action---KYMRIAH.pdf>

Lu, J., Jiang, G. The journey of CAR-T therapy in hematological malignancies. Mol Cancer 21, 194 (2022).

- Málaga, Germán, & Zúñiga-Rivera, Ana. (2012). ¿Contribuyen los ensayos clínicos al desarrollo de la investigación en el Perú?: ¿cómo lograrlo?. Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública, 29(4), 529-534. Recuperado en 27 de septiembre de 2023, de http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1726-46342012000400017&lng=es&tlng=es.
- Master A. (2019). Kymriah vs. Yescarta [UPDATED] | Nucleus Biologics. Nucleus Biologics. <https://nucleusbiologics.com/resources/kymriah-vs-yescarta/>
- McFarland, D. C., Zhang, C., Thomas, H. C., & T L, R. (2006). Confounding effects of platelets on flow cytometric analysis and cell-sorting experiments using blood-derived cells. Cytometry. Part A : the journal of the International Society for Analytical Cytology, 69(2), 86–94.
- McGrath E, Machalik P. The Regulatory Framework for CAR-T Cells in Europe: Current Status and Foreseeable Changes AND Centre Qualification by Competent Authorities and Manufacturers. 2022 Feb 7. In: Kröger N, Gribben J, Chabannon C, et al., editors. The EBMT/EHA CAR-T Cell Handbook [Internet]. Cham (CH): Springer; 2022. Chapter 37.
- Memorial Sloan Kettering Cancer Center. (s.f.). Car T cells: Timeline of progress. <https://www.mskcc.org/timeline/car-t-timeline-progress>
- Novartis Pharmaceuticals Corporation. (2018). Package insert - KymriahTM (tisagenlecleucel). <https://www.fda.gov/media/107296/download>
- Novas, A. (2020). Costo de la terapia con Células Madre y por qué es tan costosa - Curso Celulas Madre. <https://cursocelulasmadre.com/costo-de-la-terapia-con-celulas-madre/>
- Qin, C., Tian DS., Zhou, LQ. et al. Anti-BCMA CAR T-cell therapy CT103A in relapsed or refractory AQP4-IgG seropositive neuromyelitis optica spectrum disorders: phase 1 trial interim results. Sig Transduct Target Ther 8, 5 (2023).
- Reddy, O. L., Stroncek, D. F., & Panch, S. R. (2020). Improving CAR T cell therapy by optimizing critical quality attributes. Seminars in hematology, 57(2), 33–38.
- Rioufol, C., & Wichmann, C. (2022). Receiving, Handling, Storage, Thawing, Distribution, and Administration of CAR-T Cells Shipped from the Manufacturing Facility. In N. Kröger (Eds.) et. al., The EBMT/EHA CAR-T Cell Handbook. (pp. 37–43). Springer.

- Rochman, Y., Spolski, R., & Leonard, W. (2009). New insights into the regulation of T cells by γc family cytokines. *Nat Rev Immunol* 9, 480–490.
- Simmons, G. L., & Castaneda Puglianini, O. (2022). T-Cell-Based Cellular Immunotherapy of Multiple Myeloma: Current Developments. *Cancers*, 14(17), 4249.
- U.S. Food and Drug Administration, Center for Drug Evaluation and Research. (2017). STN: BL 125643/0 approval letter. <https://www.fda.gov/media/108458/download>
- U.S. Food and Drug Administration, Center for Drug Evaluation and Research. (2019). <https://www.fda.gov/patients/drug-development-process/step-3-clinical-research>
- U.S. Food and Drug Administration, Center for Drug Evaluation and Research. (2021). STN: BL 125736/0 approval letter. <https://www.fda.gov/media/147062/download>
- U.S. Food and Drug Administration, Center for Drug Evaluation and Research. (2022). STN: BL 125714/90 approval letter. <https://www.fda.gov/media/159473/download>
- U.S. National Library of Medicine. (2021). Tratamientos para el Cáncer: Medlineplus Enciclopedia Médica. MedlinePlus. <https://medlineplus.gov/spanish/ency/patientinstructions/000901.htm>
- Vormittag, P., Gunn, R., Ghorashian, S., & Veraitch, F. S. (2018). A guide to manufacturing CAR T cell therapies. *Current opinion in biotechnology*, 53, 164–181.
- Wang, X., & Rivière, I. (2016). Clinical manufacturing of CAR T cells: foundation of a promising therapy. *Molecular therapy oncolytics*, 3, 16015.
- World Health Organization. (2023). ICTRP search portal. World Health Organization. <https://www.who.int/clinical-trials-registry-platform/the-ictrp-search-portal#:~:text=The%20ICTRP%20Search%20Portal%20aims,for%20content%20and%20quality%20control>
- Yang, M., Tkach, D., Boyne, A., Kazancioglu, S., Duclert, A., Poirot, L., Duchateau, P., & Juillerat, A. (2022). Optimized two-step electroporation process to achieve efficient nonviral-mediated gene insertion into primary T cells. *FEBS open bio*, 12(1), 38–50.
- Ye, Z. (2022) Summary Basis for Regulatory Action Carvykti. [Online]. Disponible: <https://www.fda.gov/media/156999/download>