

Terapija malignih bolesti T-ćelijama sa himernim receptorom za tumorski antigen (CAR T-ćelije)

Prof. Dr Slobodan M. Janković

Univerzitet u Kragujevcu, Fakultet medicinskih nauka, Univerzitetski
klinički centar „Kragujevac“

XVI Nedelja bolničke klinicke farmakologije

28-29 decembar 2024, nacionalni kongres

Sekcija za kliničku farmakologiju “dr Srdjan Djani Marković”

Srpskog lekarskog društva



Definicije osnovnih pojmova

- CAR-T terapija (Chimeric Antigen Receptor T-cell therapy) je imunoterapijska metoda koja koristi pacijentove sopstvene T limfocite, genetički modifikovane da prepoznaju i uništavaju ćelije tumora. Za razliku od običnih limfocita, genetski modifikovani T limfociti prepoznaju antigene na površini ćelija karcinoma bez molekula humanog kompleksa histokompatibilnosti (MHC).
- **Himerični antigen receptor (CAR):** Veštački konstruisan receptor koji se integriše u T ćelije. CAR omogućava T ćelijama da prepoznaju specifične antigene na površini tumorskih ćelija, što im omogućava ciljano uništavanje tih ćelija.

Struktura CAR receptora

- CAR receptor se sastoji od eksternog regiona za prepoznavanje i unutrašnjeg signalnog regiona.
- Region eksternog prepoznavanja obično se sastoji od jednolančanog antitela (scFv) ili domena koji se vezuje za antigen koji prepoznaje i vezuje se za specifične antigene na površini ciljnih ćelija raka.
- Unutrašnji signalni region tipično uključuje signalne molekule i signalne module potrebne za aktiviranje T ćelija

Struktura CAR receptora

- ScFv se vezuje za antigene na tumorskim ćelijama, čime se aktivira antitumorski efekat T ćelija.
- Transdukcioni domen CAR-T ćelija, koji je takođe poznat kao unutrašnji signalni region ili domen aktivacije, nalazi se unutar CAR-T ćelije i pomaže u prenošenju spoljnih signala za prepoznavanje antigena u unutrašnjost ćelije kako bi se one aktivirale i izazvao imuni odgovor.
- Najčešće korišćeni transdukcioni domen je CD3zeta domen, koji je uključen u signalni put za aktivaciju T-ćelija.
- Kostimulativni domeni se koriste za poboljšanje efekta aktivacije i proliferacije CAR-T ćelija: CD28, 4-1BB (CD137) i OXS40.

Generacije CAR receptora

- CAR prve generacije obično sadrže samo domen za prepoznavanje antigena i domen transdukcije CD3zeta. Prva generacija ima slabu terapijsku efikasnost za antigene sa niskim nivoom ekspresije i heterogenom ekspresijom.
- CAR druge generacije imaju dodatak jednog ili više domena kostimulativnog faktora, kao što su CD28 ili 4-1BB, kako bi se poboljšala aktivacija T-ćelija i poboljšala ćelijska proliferacija i preživljavanje.
- CAR treće generacije imaju dodatak drugih domena kostimulativnih faktora drugoj generaciji.
- CAR četvrte generacije pokazuju poboljšanu strukturu CAR-a uvođenjem jedne ili više kaseti za stimulaciju sekrecije ili poliklonalnih sistema za izlučivanje antitela. Ovi dodatni elementi sekrecije mogu lučiti specifične citokine, kao što su IL-12 i IL-18, nakon vezivanja CAR-T ćelija za antigene, dodatno pojačavajući aktivaciju T-ćelija i promovirajući imuni odgovor i antitumorske efekte. CD28 ili CD137 preaktivacioni domeni pojačavaju aktivaciju CAR-T ćelija i pre vezivanja antigena.

Do sada odobrene CAR-T terapije

- Kymriah® (tisagenlecleucel), odobren 2017. za lečenje akutne limfoblastne leukemije, limfoma velikih B ćelija i folikularnog limfoma
- Yescarta® (axicabtagene ciloleucel), odobrena 2017. za lečenje limfoma velikih B ćelija i folikularnog limfoma
- Tecartus® (brexucabtagene autoleucal), odobren 2020. za lečenje akutne limfoblastne leukemije poreklom od B-limfocita i limfoma plaštastih ćelija
- Breyanzi® (lisocabtagene maraleucel), odobren 2021, za lečenje limfoma velikih B ćelija
- Abecma® (idecabtagene vicleucel), odobrena 2021, za lečenje refrakternog multiplog mijeloma
- Carvykti® (ciltacabtagene autoleucel), odobren 2022, za lečenje refrakternog multiplog mijeloma

Ključni koraci u CAR-T terapiji:

- **Izolacija T ćelija:** Uzima se uzorak krvi pacijenta i izoluju se T ćelije.
- **Genetička modifikacija:** T ćelijama se dodaje gen za CAR pomoću vektora.
- **Proliferacija u laboratoriji:** Genetički modifikovane ćelije se razmnožavaju u kontrolisanim uslovima.
- **Verifikacija** fenotipa i funkcionalnosti CAR-T ćelija
- **Krioprezervacija i čuvanje** CAR-T ćelija do primene na pacijentu
- **Infuzija u krvotok pacijenta:** Modifikovane T ćelije se vraćaju pacijentu intravenskim putem.
- **Praćenje odgovora i nuspojava:** Pacijent se prati zbog potencijalnih komplikacija i reakcija na terapiju.

Indikacije za CAR-T terapiju

- Akutna limfoblastna leukemija kod dece i mlađih odraslih.
- Difuzni B-ćelijski limfom.
- Multipli mijelom koji nije odgovorio na standardne terapije.
- Sistemski lupus eritematodes – još nije odobrena indikacija
- Solidni tumori – još nije odobrena indikacija

Sudbina genetički modificovanih T limfocita (CAR-T ćelija) u organizmu pacijenta

- **1. Aktivacija i ciljani napad**
- Nakon infuzije, CAR-T ćelije cirkulišu kroz organizam i prepoznaju ciljni antigen (npr. CD19 u slučaju lečenja sistemskog lupusa) na tumorskim ili ćelijama imunog sistema.
- Jednom kada se vežu za tumorsku ćeliju preko himeričnog antigen receptora (CAR), aktiviraju se i uništavaju ciljanu ćeliju putem oslobađanja citotoksičnih molekula (perforina i granzima) ili izazivanjem apoptoze.

Sudbina genetički modificovanih T limfocita (CAR-T ćelija) u organizmu pacijenta

- **2. Proliferacija i ekspanzija**

- Nakon aktivacije, CAR-T ćelije se intenzivno umnožavaju u organizmu. Ovaj proces je ključan za njihov terapijski efekat jer omogućava stvaranje dovoljno ćelija za uništavanje tumora.
- Maksimalna ekspanzija CAR-T ćelija obično se dešava nekoliko dana do nekoliko nedelja nakon infuzije.

Sudbina genetički modificovanih T limfocita (CAR-T ćelija) u organizmu pacijenta

- **3. Imunološko "čišćenje" i eliminacija tumorskih ćelija**
- Modifikovane T ćelije nastavljaju da prepoznaju i eliminišu ćelije sa ciljnim antigenom dok ih u potpunosti ne uklone iz organizma.
- Ovo uključuje ne samo tumorske ćelije, već i zdrave ćelije koje eksprimiraju isti antigen, što može dovesti do nuspojava kao što je **B-ćelijska aplazija** (kod ciljanih antigena poput CD19)

Sudbina genetički modificovanih T limfocita (CAR-T ćelija) u organizmu pacijenta

- **4. Dugotrajna aktivnost ili gubitak funkcije**
- **Persistencija:** Kod nekih pacijenata, CAR-T ćelije mogu opstati u telu mesecima ili godinama, pružajući dugotrajnu zaštitu od relapsa. Ovo je poznato kao **trajna memorija T ćelija**.
- **Izumiranje:** U drugim slučajevima, broj CAR-T ćelija opada tokom vremena zbog imunološke regulacije ili iscrpljenosti (tzv. **T cell exhaustion**), što može dovesti do gubitka zaštite.

Tehnologija za povećanje perzistencije i smanjenje iscrpljivanja CAR-T ćelija

- Grupisani, ravnomerno međusobno razmaknuti sistem kratkih palindromskih ponavljanja: **CRISPR/nukleaza 9 (Cas9)**
- Ovaj sistem sadrži protein Cas9 i jednostruko vođenu RNK (sgRNA). Protein Cas9 je enzim DNK endonukleaza koji može da stvori dvolančane prekide na ciljnim mestima DNK. SgRNA je ~20 nukleotidna sekvenca koja je komplementarna ciljanoj DNK, i koja može usmeriti Cas9 protein na ciljana mesta preseka DNK.
- Jedno obeležje iscrpljenosti T-ćelija je ekspresija inhibitornih receptora, uključujući PD-1, CTLA-4, LAG3 i TIM3.
- CRISPR/cas9 sistem dovodi do deaktivacije gena za ove receptore, što produžava životni vek i aktivnost CAR-T ćelija

Sudbina genetički modificovanih T limfocita (CAR-T ćelija) u organizmu pacijenta

- **5. Interakcija sa imunim sistemom pacijenta**
- CAR-T ćelije mogu modulirati imuni sistem pacijenta. Njihova aktivnost može izazvati snažan upalni odgovor, uključujući **citokinsku oluju**.
- **Ciljana eliminacija zdravih ćelija:** Ako ciljani antigen postoji i na zdravim ćelijama (npr. CD19 na normalnim B limfocitima), one će takođe biti uništene.
- **Gubitak antigena na tumorskim ćelijama:** Tumori mogu razviti mehanizme kojima izbegavaju CAR-T ćelije, poput smanjenja ili gubitka ekspresije ciljanog antigena.
- **Autoimune reakcije i sekundarni maligniteti:** U retkim slučajevima, dugotrajno prisustvo genetički modificovanih T ćelija može izazvati imunske komplikacije.

Sudbina genetički modificovanih T limfocita (CAR-T ćelija) u organizmu pacijenta

- **6. Eliminacija iz organizma**
- CAR-T ćelije se prirodno uklanjaju putem mehanizama imunološke homeostaze, uključujući apoptozu ili imunosupresivne signale iz mikrookoline.
- U slučaju ozbiljnih nuspojava, njihov broj se može smanjiti primenom lekova kao što su kortikosteroidi ili antitela protiv T ćelija.

Neželjena dejstva CAR-T terapije

- Sindrom oslobađanja citokina
- Sindrom neurotoksičnosti povezan sa efektornim ćelijama imunog sistema
- Citopenija
- Hipogamaglobulinemija
- Aplazija B- limfocita
- Infekcija
- Smrtnost: 5%

Del Duca F, Napoletano G, Volonnino G, Maiese A, La Russa R, Di Paolo M, De Matteis S, Frati P, Bonafè M, Fineschi V. Blood-brain barrier breakdown, central nervous system cell damage, and infiltrated T cells as major adverse effects in CAR-T-related deaths: a literature review. Front Med (Lausanne). 2024;10:1272291.

Sindrom oslobađanja citokina (CRS)

- Javlja se kod 30-100% pacijenata
- Sindrom oslobađanja citokina (CRS) je akutni sistemski inflamatorni odgovor uzrokovan brzom aktivacijom i proliferacijom CAR-T ćelija, što dovodi do prekomernog oslobađanja citokina (npr. IL-6, IFN-gama).
- Počinje oko 7 dana posle infuzije, i poklapa se sa proliferacijom CAR-T ćelija
- Simptomi: groznica, hipotenzija, tahikardija, hipoksija, disfunkcija organa (npr. otkazivanje bubrega ili jetre u teškim slučajevima).
- Lečenje: Primena anti-citokinskih lekova kao što su tocilizumab (antagonist IL-6 receptora) ili kortikosteroidi

Del Duca F, Napoletano G, Volonnino G, Maiese A, La Russa R, Di Paolo M, De Matteis S, Frati P, Bonafè M, Fineschi V. Blood-brain barrier breakdown, central nervous system cell damage, and infiltrated T cells as major adverse effects in CAR-T-related deaths: a literature review. Front Med (Lausanne). 2024;10:1272291.

Sindrom neurotoksičnosti povezan sa efektornim ćelijama imunog sistema

- Javlja se kod 68% pacijenata
- Neurološki simptomi uzrokovani imunološkom aktivacijom i zapaljenjem u centralnom nervnom sistemu.
- Histološki nalaz u CNS-u: sitna krvarenja, sitni infarkti, edem, fibrinoidna nekroza zidova krvnih sudova, infiltracija tkiva oko krvnih sudova sa CD8+ limfocitima.
- Simptomi: glavobolja, konfuzija, afazija, tremor, disgrafija, epi-napadi, gubitak svesti, cerebralni edem (retko, ali opasan po život).
- Vreme pojave: Često prati CRS i zavisi od doze.
- Lečenje: Suportivne mere i kortikosteroidi; tocilizumab nije efikasan

Del Duca F, Napoletano G, Volonnino G, Maiese A, La Russa R, Di Paolo M, De Matteis S, Frati P, Bonafè M, Fineschi V. Blood-brain barrier breakdown, central nervous system cell damage, and infiltrated T cells as major adverse effects in CAR-T-related deaths: a literature review. Front Med (Lausanne). 2024;10:1272291.

Ostala neželjena dejstva

- **Citopenije**, uključujući neutropeniju, trombocitopeniju i anemiju, posebno ako je davana hemoterapije za pripremu pacijenta
- Vreme: Produžene citopenije mogu da traju nedeljama do mesecima.
- Lečenje: Mere podrške, uključujući transfuzije i faktore rasta kao što je filgrastim.
- **Aplazija B-limfocita**: Smanjenje broja normalnih B limfocita, posebno u terapijama koje ciljaju na CD19, zbog efekata na B-limfocite koji nose ovaj antigen.
- Klinički značaj: Povećana osetljivost na infekcije usled hipogamaglobulinemije.
- Lečenje: Nadoknada imunoglobulina.

Sindrom lize tumora

- Metabolička komplikacija usled brzog raspada tumorskih ćelija.
- Simptomi: Hiperkalemija, hiperfosfatemija, hiperurikemija, hipokalcemija, akutna insuficijencija bubrega.
- Lečenje: Agresivna hidratacija, sredstva za snižavanje mokraćne kiseline (npr. alopurinol, rasburikaza) i praćenje.

Infekcije i sekundarni maligniteti

- **Infekcije:** Povećan rizik od bakterijskih, virusnih i gljivičnih infekcija zbog supresije imuniteta od prethodne hemoterapije, terapije CAR-T i produženih citopenija: 0.55 infekcija/100 dana
- **Lečenje:** Profilaktička primena antibiotika, antigljivičnih lekova i i antivirusnih lekova; hitno lečenje infekcija je ključno.
- **Sekundarni malignitet:** Redak, ali moguć razvoj novih karcinoma, potencijalno povezan sa modifikacijama CAR-T ćelija ili prethodnim tretmanima.
- **Učestalost:** Mijeloidne neoplazme 2.3 – 13% za 5 godina; T-ćelijski limfom retko, karcinomi kože 7 – 15% za 5 godina.