

RECOMENDACIONES PARA LA MONITORIZACIÓN DE LAS TERAPIAS CAR-T

Grupo Español de Inmunoterapia GEIT
Sociedad Española de Inmunología
Febrero de 2023

La monitorización de las terapias biológicas es una herramienta imprescindible para mejorar los resultados en los pacientes, minimizando los posibles efectos adversos y maximizando la efectividad de los tratamientos. En el caso de las terapias celulares se requiere una monitorización más estrecha, dada su reciente implantación y la limitada experiencia. El seguimiento de parámetros del sistema inmunitario en las diferentes etapas de la terapia CAR-T permite evaluar desde la idoneidad del paciente para recibir el tratamiento, a la posibilidad de recaídas y efectos adversos, así como el seguimiento de la reconstitución del sistema inmunitario.

En este documento resumimos los principales parámetros a monitorizar antes y después del tratamiento con CAR-T, tanto en el paciente como en el producto a infundir.

Muestra previa a la linfodepleción:

1. Previa a la linfodepleción del paciente es necesario realizar un estudio de **inmunoglobulinas** y del **perfil basal TBNK en sangre periférica**: leucocitos (CD45), linfocitos T (CD3, CD4, CD8), linfocitos B (CD19) y células NK (CD16, CD56).
2. Es muy recomendable realizar estudios de **citocinas** (IL-6, IL-1RA).
3. Es recomendable realizar una tinción para evaluar CAR-T por citometría de flujo, con el objetivo de establecer el umbral de positividad en cada paciente
4. Es recomendable evaluar anticuerpos anti-CAR-T, para establecer el valor basal en cada paciente.

Leucoaféresis y producto:

5. En la leucoaféresis de partida, determinar el número de leucocitos y linfocitos (por **hemograma**) y el **perfil TBNK**.
6. Durante el **proceso** de producción, controlar: **recuento, viabilidad, pureza (%CD3) e identidad (%CAR)**.
7. En el **producto final**, controlar: **recuento, viabilidad, pureza (%CD3) e identidad (%CAR)**. Se debe verificar la **ausencia de virus competentes para la replicación** y la **ausencia del vector viral**. Además, debe determinarse la **capacidad citotóxica**, mediante co-cultivos con células diana antígeno-positivas, estudiando la fracción de células supervivientes y/o la producción de citocinas. Hay que garantizar la seguridad y trazabilidad del producto, así como su esterilidad previa infusión al paciente.

Monitorización post-infusión

8. Tras la infusión del producto CAR-T, evaluar las poblaciones linfocitarias en sangre periférica, tomando como referencia el perfil pre-infusión del paciente. Como mínimo se debe determinar la distribución T CD4/CD8. Es recomendable un estudio de activación (HLA-DR), senescencia (PD-1) y diferenciación (Memoria/Efectoras) de la población T.
9. Monitorización de la población CAR-T mediante citometría de flujo, tomando como referencia la muestra pre-infusión. Adicionalmente, se puede estudiar la expansión mediante qPCR. Esta monitorización se realizará: semanalmente durante el primer mes; cada dos semanas desde el segundo mes hasta el alta; en cada revisión, o al menos a los 3 meses, tras el alta.
10. Monitorización de los **niveles de citocinas**, como mínimo, IL-6 e IL-1RA. Se recomienda también evaluar IFN-gamma, TNF-alfa, IL-10, IL-6 e IL-17A, IL-2, IL-4 e IL-2RA, tomando como referencia el perfil pre-infusión del paciente. La determinación se repetirá semanalmente durante el primer mes, o al menos a los 3 meses (día +100) en ausencia de síndrome de liberación de citocinas (*cytokine release syndrome*, CRS). En caso de presentarse CRS, se realizará al menos una determinación en el momento del diagnóstico y otra una vez resuelto el evento.
11. Monitorización de la **aplasia de la población diana** del CAR-T (habitualmente aplasia B), que se podría combinar con estudios de enfermedad mínima residual (EMR) en muestras de sangre periférica en los mismos tiempos y en paralelo a la monitorización de células CAR-T (punto 9).
12. Es recomendable evaluar la presencia de **anticuerpos anti-CAR** en el receptor, especialmente si hay sospecha de su aparición por falta de expansión de células CAR-T.
13. Es recomendable hacer los estudios de citometría siguiendo un protocolo de *bulk lysis* (lisis + tinción) para asegurar el análisis de 3-5 millones de células.

Tabla1. Resumen de los parámetros a monitorizar a lo largo del proceso de producción y tratamiento con células CAR-T

	Controles en el producto		Monitorización en el paciente	
	Proceso	Producto final	Preinfusión	Postinfusión
Perfil TBNK	Imprescindible	CD3	Imprescindible	Imprescindible
Inmunoglobulinas	-	-	Imprescindible	Imprescindible
Citocinas	-	-	Muy recomendable	Imprescindible
CAR	Imprescindible	Imprescindible	Muy recomendable	Imprescindible, alta sensibilidad
Aplasia diana	-	-	-	Imprescindible, alta sensibilidad
Anticuerpos anti CAR	-	-	Recomendable	Recomendable

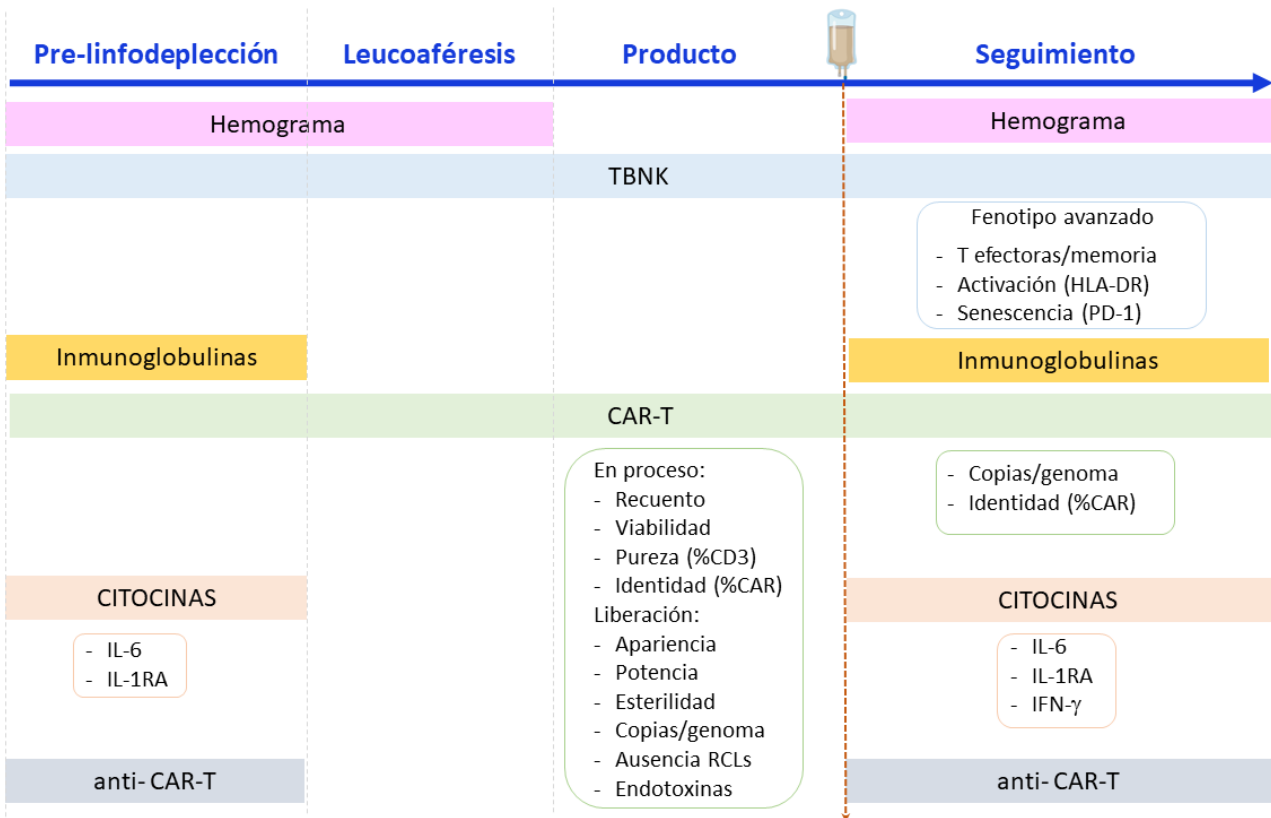


Figura 1. Esquema de la monitorización de la producción y el tratamiento con CAR-T