



UNIVERSIDAD DE SEVILLA



Facultad de Farmacia

TERAPIA GÉNICA CONTRA EL CÁNCER: UNA NUEVA ERA ANTINEOPLÁSICA



Trabajo de fin de Grado

Isabel Sepúlveda López



UNIVERSIDAD DE SEVILLA



Facultad de Farmacia

Trabajo de fin de Grado

TERAPIA GÉNICA CONTRA EL CÁNCER: UNA NUEVA ERA ANTINEOPLÁSICA

Grado en Farmacia

Isabel Sepúlveda López

Departamento de Microbiología

Tutor: Ignacio Rodríguez Llorente

Revisión bibliográfica Sevilla, junio 2021

RESUMEN

El cáncer sigue siendo una de las principales causas de mortalidad a nivel mundial, detrás de las enfermedades cardiovasculares. Factores genéticos y epigenéticos están asociados al riesgo de contraer la enfermedad. La radioterapia y la cirugía son los tratamientos más eficaces contra el cáncer local, y la quimioterapia, terapias hormonales y biológicas frente a tumores metastásicos, capaces de alcanzar el resto de los órganos y tejidos a través del sistema circulatorio. La quimioterapia inhibe el crecimiento de las células cancerosas, pero también afecta a las células sanas. A pesar de los tratamientos tradicionales, el pronóstico de los pacientes no ha mejorado significativamente. La toxicidad y destrucción inespecífica de células normales requería la necesidad de desarrollar tratamientos alternativos dirigidos y eficientes, siendo la terapia génica una de las técnicas más prometedoras. Recientes avances en terapia génica han mejorado la tasa de supervivencia y la esperanza de vida de los pacientes, así como las posibilidades de tratamiento. Las técnicas más avanzadas y utilizadas actualmente son la terapia de células CAR-T, la viroterapia oncolítica y la técnica de edición de genes CRISPR.

En este trabajo se detallan los avances sobre eficacia en terapia génica tras la realización de varios ensayos clínicos, así como los obstáculos y posibles soluciones futuras de las principales técnicas utilizadas actualmente para el cáncer.

La terapia génica es una alternativa antineoplásica, que, si bien aún no es la cura para dicha enfermedad, promete obtener resultados alentadores para llegar a formar parte del arsenal terapéutico habitual.

Palabras clave: terapia CAR-T, terapia génica, cáncer CRISPR

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN.....	5
1.1. ¿Qué es el cáncer?.....	5
1.2. Origen del cáncer.....	5
1.3. Incidencia del cáncer	6
1.4. Factores de riesgo.....	6
1.5. Tipos de cáncer.....	7
1.6. Tratamiento del cáncer	7
1.6.1. Tratamientos convencionales	7
1.6.2. Hacia terapias innovadoras	7
1.7. ¿Qué es la terapia génica?	8
1.8. Modalidades de terapia génica.....	9
1.8.1. Según el método de transferencia (vectores).....	9
1.8.2. Según el tipo de célula donde se aplica	10
1.8.3. Según el modo de aplicación.....	10
2. OBJETIVOS	11
3. MÉTODOS	12
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	12
4.1. Estrategias moleculares actuales en la terapia génica del cáncer.	12
4.2. Ensayos en terapia génica.....	16
4.3. Terapias más utilizadas actualmente	16
4.3.1. Terapia de células T con CAR.....	16
4.3.1.1. leucemia linfoblástica aguda (LLA)	16
4.3.1.1.1. Incidencia, morbilidad y terapia convencional	17
4.3.1.1.2. Hacia la terapia génica: ¿Cómo funciona la terapia de células T con CAR?	18
4.3.1.1.3. Eventos adversos, ensayos y desafíos	20

4.3.1.2. Tumores sólidos	23
4.3.2. Terapia oncolítica: Melanoma	24
4.3.2.1. Incidencia, morbilidad y terapia convencional	24
4.3.2.2. Hacia terapia génica: ¿En qué consiste la terapia oncolítica?	25
4.3.3. Técnica CRISPR.....	27
4.3.3.1. CRIPSR, un hallazgo novedoso	27
4.3.3.2. CRISPR como terapia génica	28
4.3.3.3. Potencial de aplicación contra el cáncer	28
4.3.3.4. Tipos de cáncer más tratados	30
4.3.4. Otros tipos de cáncer y terapias empleadas	33
5. CONCLUSIÓN.....	35
6. BIBLIOGRAFÍA.....	36

1. INTRODUCCIÓN

El cáncer es una de las principales causas de muerte en el mundo, debido a la ausencia de un buen diagnóstico precoz y la alta tasa de recaídas después de las terapias convencionales. Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), el cáncer ocupa el segundo lugar, detrás de las enfermedades cardiovasculares. No obstante, se cree que en un futuro podría considerarse la primera causa de muerte (Montaño-Samaniego et al., 2020).

1.1. ¿Qué es el cáncer?

El cáncer es más que una sola enfermedad, se define como un conjunto de enfermedades relacionadas. Normalmente, las células de nuestro organismo se dividen para formar nuevas células, mueren cuando se dañan o degradan y son sustituidas por nuevas células (NCI, 2021). Es un proceso ordenado. El cáncer implica división celular descontrolada y resistencia a la muerte celular. Las células cancerosas se convierten en una masa anormal denominada tumor, excepto los cánceres hematológicos, en los que las células crecen y se diseminan a través de los sistemas linfático, sanguíneo y la médula ósea (Pérez-Herrero y Fernández-Medarde, 2015). Entre sus características se incluyen la señalización proliferativa continua, la resistencia a la muerte celular, la inmortalidad replicativa, la desregulación de la energía celular, la angiogénesis, la invasión y metástasis y evasión de la destrucción inmunitaria (Roma-Rodríguez et al., 2020).

Los tumores que contienen células cancerosas se denominan malignos. Estos pueden invadir tejidos adyacentes, incluso propagarse por el resto del organismo a través del sistema linfático o circulatorio, y originar nuevos tumores lejanos del inicial, proceso que recibe el nombre de metástasis. El cáncer metastásico tiene el mismo tipo celular que el cáncer primario. Muchos cánceres forman tumores sólidos. Sin embargo, otros tipos de cáncer, como la leucemia, se originan en las células sanguíneas u otras células del cuerpo. Por otro lado, los tumores benignos, aquellos que no contienen células cancerosas, no invaden tejidos adyacentes, ni hacen metástasis a órganos lejanos, y una vez extirpados, no vuelven a crecer. Sin embargo, en la zona del cerebro puede poner la vida en riesgo (ACS, 2021).

1.2. Origen del cáncer

El cáncer es una enfermedad genética, que se origina por daños o mutaciones de protooncogenes que expresan proteínas implicadas en la proliferación y división celular, y genes supresores de tumores que codifican proteínas implicadas en la inhibición del crecimiento y/o

estimulación de apoptosis. Estas alteraciones promueven el desarrollo del tumor (Pérez-Herrero and Fernández-Medarde, 2015).

1.3. Incidencia del cáncer

En 2018 se estimaban 18,1 millones de casos nuevos y 9,6 millones de muertes por cáncer a nivel mundial, como se observa en la figura 1. Más de la mitad de los casos nuevos y muertes

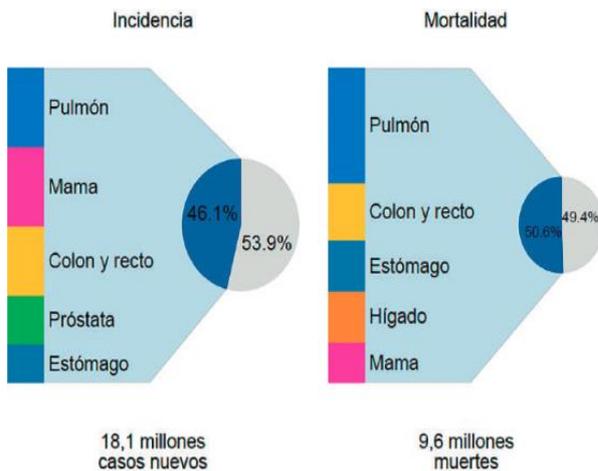


Figura 1. Incidencia y mortalidad por cáncer en el mundo, 2018. Tomado y modificado de Piñeros et al. (2020)

corresponden a hombres (entre 52 y 56 % aproximadamente). En hombres, la principal incidencia se da por cáncer de pulmón (14,5 %), próstata (13,5%) y colorrectal (10,9%), mientras que, en las mujeres, la gran mayoría de casos nuevos de cáncer corresponden a cáncer de colon y recto, pulmón, cuello uterino, tiroides y mama, siendo este último el más diagnosticado (24,2%). En cuanto a la mortalidad, en los hombres una tercera parte se debe a cáncer de pulmón y de hígado, mientras que en las mujeres se observa un patrón similar al de su incidencia.

El riesgo de contraer cáncer de por vida es de 18,3 % en mujeres y 22,4 % en hombres, y el riesgo de mortalidad por cáncer es de 12,7 % en hombres y 8,7 % en mujeres.

La razón mortalidad/incidencia se utiliza como indicador de cuidados del cáncer, mostrando una clara relación entre la razón y servicios de salud. La reducción de la mortalidad observada en los países desarrollados se debe a mejores medidas terapéuticas, pronóstico y mejor acceso a los servicios de salud (Ginsburg et al., 2017).

1.4. Factores de riesgo

Existe un mayor riesgo de contraer cáncer en hombres, e implica susceptibilidad genética, tabaquismo, exposición laboral y obesidad, entre otros (Tevfik-Dorak y Karpuzoglu, 2012). Los patrones de incidencia de cáncer colorrectal y de mama indican que las mayores tasas se estiman en países de alto desarrollo socioeconómico, relacionados con consumo de alcohol, poca actividad física y obesidad, así como mayor acceso a pruebas de detección temprana (Ginsburg et al., 2017).

1.5. Tipos de cáncer

Los tipos de cáncer se nombran según el tejido donde se originó, así como el tipo de células que lo forma. Conforme a esto, los más comunes son: carcinoma (se forma en células epiteliales), sarcoma (se forma en el hueso y tejidos blandos), leucemia (tejidos que forman la sangre), linfoma (linfocitos, tanto células T como células B), mieloma múltiple (células plasmáticas), melanoma (células especializadas en producir melanina), tumores de cerebro y médula espinal (se nombran según el tipo celular y primer lugar de formación del tumor en el SNC) (NCI, 2021).

1.6. Tratamiento del cáncer

1.6.1. Tratamientos convencionales

La radioterapia y la cirugía son los tratamientos más efectivos contra el cáncer local, pero son insuficientes cuando se disemina por todo el organismo. Para el tratamiento de cánceres metastásicos son más eficaces la quimioterapia, terapias hormonales y biológicas, tienen la capacidad de alcanzar la mayoría de los tejidos del organismo mediante el sistema circulatorio. En los años 40 y 50 fueron aprobados por la Administración de Drogas y Alimentos de los EE. UU. (FDA) los primeros fármacos para el tratamiento de tumores sólidos y cánceres hematológicos (antifolatos, metotrexato, mostazas nitrogenadas, etc.). Los avances en este tratamiento, como quimioterapias combinatorias y adyuvantes o la aprobación del cisplatino han sido durante un largo período de tiempo el único enfoque posible y eficaz para el tratamiento de cánceres metastásicos (Pérez-Herrero y Fernández-Medarde, 2015). Los efectos secundarios varían según el agente quimioterápico y los más frecuentes son: náuseas y vómitos, alopecia, anemia, inmunosupresión, diarrea o estreñimiento (Milena et al., 2007).

1.6.2. Hacia terapias innovadoras

La toxicidad de los fármacos quimioterápicos y la destrucción inespecífica de células requería la necesidad de buscar tratamientos alternativos dirigidos y eficientes contra el cáncer, siendo la terapia génica uno de los procedimientos más prometedores para alcanzar este objetivo.

El descubrimiento de las redes de señalización celular implicadas en la proliferación y la diferenciación de las células, abrió las puertas a la terapia dirigida, una técnica basada en el bloqueo de las vías de conducción biológicas específicas que ayudan a las células cancerosas a proliferar y dividirse incontroladamente (Montaño-Samaniego et al., 2020).

La mayoría de estas terapias usan anticuerpos monoclonales o medicamentos de moléculas pequeñas.

Las terapias dirigidas pueden conseguir mejor respuesta cuando se combinan con otras terapias dirigidas u otros tratamientos, como los quimioterápicos, para conseguir una administración específica de estos agentes, evitando efectos secundarios indeseables y minimizando muerte de células sanas (Pérez-Herrero y Fernández-Medarde, 2015). Por ejemplo, la terapia dirigida trastuzumab (Herceptina) se ha utilizado junto con docetaxel (quimioterápico), para el tratamiento de mujeres con cáncer metastático de mama que sobre expresan la proteína HER2/neu (NIC, 2021).

Los nuevos enfoques terapéuticos relacionados con mecanismos inmunológicos han mostrado resultados prometedores. Los anticuerpos monoclonales son considerados inmunoterápicos porque ayudan al sistema inmune a destruir las células cancerosas. Una terapia exitosa es el uso de anticuerpos monoclonales dirigidos a receptores que bloquean puntos de control inmunológicos, como PD-1 o CTL-4, para el tratamiento del cáncer de melanoma avanzado. Por otro lado, la terapia génica también ha conseguido resultados favorables en ensayos clínicos (Rangel-Sosa et al., 2017).

1.7. ¿Qué es la terapia génica?

La terapia génica es una técnica prometedora e innovadora, pues los genes actúan como agentes terapéuticos. Se define como la transferencia de genes terapéuticos a las células de un individuo para lograr un efecto beneficioso para los pacientes.

La finalidad de la terapia génica es reemplazar un gen mutado o no funcional (causante de la enfermedad) en una célula, con el objetivo de restablecer su función (Zhang, 2021). Así, la terapia consta de 3 elementos: el material genético que se va a transferir, el método de transferencia o vector y el tipo de célula donde se va a incorporar. Los TNA se administran de forma segura y eficaz en la célula diana, permitiendo el tratamiento del cáncer sin daño a las células sanas.

En sus inicios se centraba en el tratamiento de enfermedades hereditarias, y actualmente su uso clínico está limitado o en estudio para varias patologías, dirigiéndose la mayoría de los ensayos clínicos al tratamiento del cáncer, algunos de los cuales se tratarán con más profundidad posteriormente.

1.8. Modalidades de terapia génica

1.8.1. Según el método de transferencia (vectores)

La terapia génica se basa en la modificación del material genético utilizando vectores virales (adenovirus, retrovirus, lentivirus, virus adeno-asociados) y vectores no virales (lisosomas, ADN desnudo, entre otros). El vector es el medio que permitirá introducir el material genético en el paciente.

Las tecnologías y estudios han hecho posible la terapia génica tanto *in vivo* (se inyecta el vector en el paciente directamente, y las células son modificadas para obtener el efecto terapéutico) como *ex vivo* (transducción de las células en el exterior, luego se introducen en el paciente, por tanto, no se administra directamente) teniendo el transgén no integrado o integrado en el genoma. En la figura 2 se muestran los pasos necesarios que tiene que seguir un vector para llevar a cabo una terapia génica efectiva (Chinea-Rodríguez y Blanes, 2018).

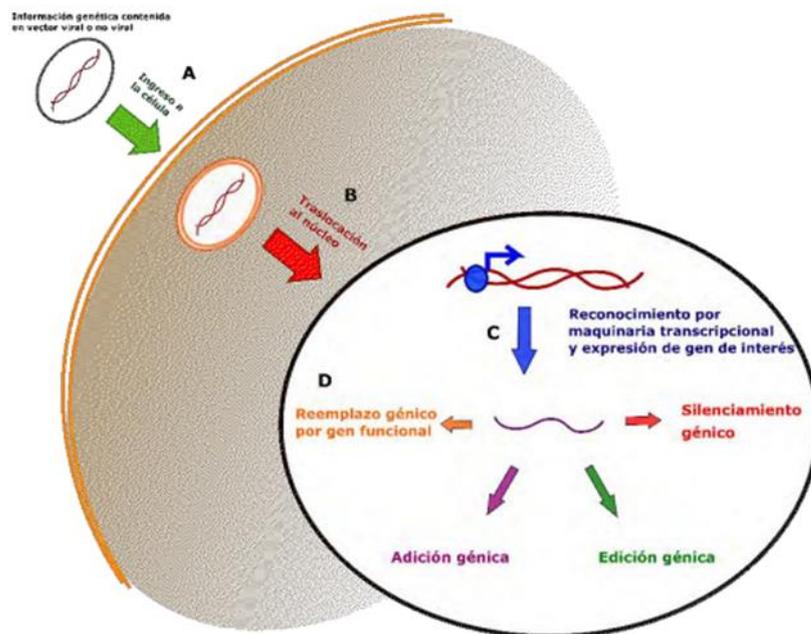


Figura 2. Pasos necesarios para llevar a cabo terapia génica. Entre ellos encontramos ingreso a la célula (A), traslocación al núcleo (B), reconocimiento por maquinaria transcripcional y expresión de gen de interés. Tomado de Miguel et al. (2020).

El paso clave en la terapia génica se basa en un vector seguro, eficaz y controlable. En consecuencia, los vectores virales han demostrado mayor eficiencia, pero tienen una desventaja, la inmunogenicidad. En este sentido, los vectores no virales son más seguros cuando

tratamos con terapia in vivo, a pesar de su menor eficiencia. Los virus adenoasociados (AAV) tienen la capacidad de infectar a todo tipo de células, y mantener estable el gen transferido. El uso de AAV tiene ventajas sobre otros tipos de virus. Por ejemplo, no provocan enfermedades en humanos, lo que les otorga un mejor perfil de seguridad. Además, tienen capacidad de infectar una gran variedad de órganos, por tanto, se pueden adaptar a una gran variedad de aplicaciones en terapia génica. Los vectores retrovirales y lentivirales presentan la misma función, sin embargo, tienen inconvenientes. Los vectores retrovirales causan genotoxicidad, mientras que los lentivirales tienen menos posibilidad de provocar efectos mutagénicos (Miguel et al., 2020).

1.8.2. Según el tipo de célula donde se aplica

Según este enfoque, podemos distinguir terapia génica sobre células somáticas o germinales.

La terapia génica somática consiste en la introducción de genes terapéuticos carentes en el paciente. Tiene lugar en todas las células y tejidos del organismo con el fin de tratar una enfermedad. Las modificaciones introducidas sólo afectan al individuo, no son heredables.

La terapia génica de células germinales, por otro lado, se basa en modificar genéticamente las células germinales, por tanto, provoca que sus efectos terapéuticos se mantengan en los descendientes. Actualmente, no está permitida debido a problemas éticos y jurídicos asociados a su uso en líneas germinales (Miguel et al., 2020).

1.8.3. Según el modo de aplicación

La transferencia génica en células tumorales puede realizarse *in vivo* o *ex vivo*. *Ex vivo* implica la recolección de las células tumorales del huésped, introducción del gen terapéutico en el cultivo de células, modificación genética y reintroducción de las células transfectadas en el tejido original.

El enfoque *in vivo* implica la transferencia de genes terapéuticos in situ en las células tumorales, de manera sistémica o presistémica, dependiendo de la localización y la progresión del tumor (figura 3) (Roma-Rodríguez et al., 2020).

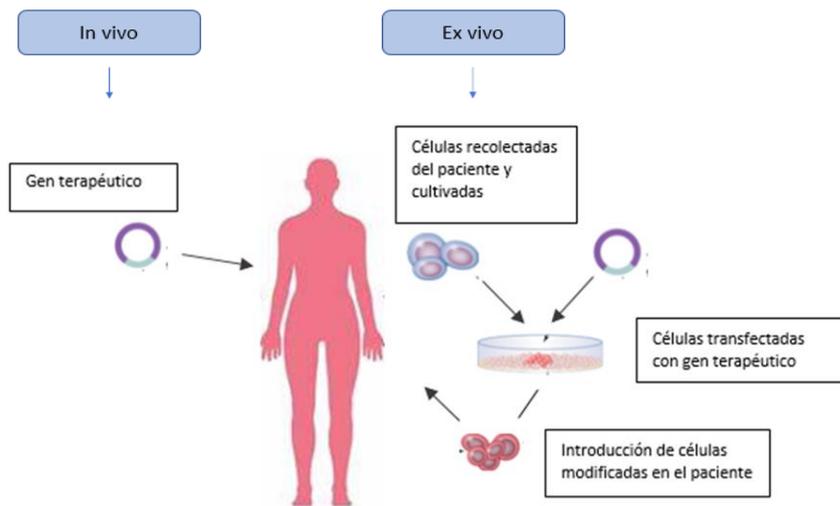


Figura 3. Estrategias de administración utilizadas para la terapia génica dirigida directamente a células tumorales. Adaptado de Roma-Rodríguez et al. (2020).

La terapia *in vivo* es más adecuada para tratamientos del cáncer que la terapia *ex vivo*, ya que esta última es menos invasiva y no requiere proliferación celular. En el caso de administración de genes desnudos vía sistémica o presistémica, puede estar impedida por barreras biológicas, captación de fagocitos, aclaramiento renal y estimulación de la respuesta inmune. Por lo tanto, el uso de vectores estables evita el sistema inmune y facilita la focalización en las células tumorales.

La terapia *ex vivo* requiere la proliferación de las células transfectadas, al contrario que la terapia génica, cuyo objetivo es inhibir la progresión tumoral mediante la inhibición de la división celular. No obstante, los enfoques *ex vivo* son importantes en terapias indirectas basadas en genes inmunes (Roma-Rodríguez et al., 2020). Una ventaja de esta terapia es la posibilidad de usar vectores no virales (Miguel et al., 2020).

2. OBJETIVOS

Tras una búsqueda en PubMed, usando las palabras “gene therapy, cancer”, se puede observar cómo han ido aumentando el número de publicaciones en los últimos 5 años. El siglo XXI ha revolucionado la medicina y con ello la mejora de técnicas como la terapia génica en los perfiles terapéuticos oncológicos.

La terapia génica es una tecnología muy prometedora, supone una revolución en la forma de abordar la lucha contra el cáncer. Su expectativa real es curar la causa de la enfermedad a nivel genómico. A pesar de los tratamientos tradicionales, el pronóstico de los pacientes no ha

mejorado significativamente. Así es como surge una nueva rama de la medicina, la terapia génica, que promete la obtención de grandes logros en el futuro.

Por todo ello se justifica la importancia de realizar esta revisión bibliográfica, con el objetivo de conocer las diferentes estrategias, las nuevas investigaciones, ensayos preclínicos y clínicos junto con los resultados que se están obteniendo, las limitaciones que se puedan presentar y los avances que se están llevando a cabo en España. Dentro de esta terapia, algunas estrategias han mostrado resultados muy prometedores en los últimos años, como la terapia de células CAR-T en la leucemia linfoblástica aguda, la viroterapia oncolítica en el melanoma o el sistema CRISPR/Cas9 en tumores sólidos.

3. MÉTODOS

El trabajo de fin de grado que se presenta es una revisión bibliográfica sobre un tema con una elevada evidencia científica y ampliamente documentado.

La revisión bibliográfica se ha llevado a cabo en los meses de febrero, marzo, abril, mayo y junio de 2021 utilizando bases de datos, como PubMed y Google Scholar, y mediante búsqueda inversa (bibliografía de otros artículos). Las palabras clave usadas en las bases de datos fueron: CAR-t-therapy, cancer gene therapy, cancer CRISPR.

Como criterios de inclusión, se han elegido artículos de los últimos 5 años para obtener información lo más actualizada posible, aunque también se han utilizado artículos que excedían los criterios para poder obtener información general sobre el tema presente.

Algunos tipos de terapia génica, como la terapia CAR-T, ha obtenido grandes avances en la actualidad, por lo que también se ha incluido en la búsqueda bibliográfica la página web del Hospital Clinic de Barcelona.

También se consultaron otras páginas: American Cancer Society (<https://www.cancer.org/>), Instituto Nacional del Cáncer (<https://www.cancer.gov/espanol>) y National Geographic España.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Estrategias moleculares actuales en la terapia génica del cáncer.

En la actualidad, se están desarrollando diversos ensayos clínicos para distintos tipos de cáncer: ovario, mama, pulmón, próstata, células renales, melanoma, leucemia mieloide, linfomas y neuroblastoma. Las estrategias de la terapia génica se sustentan en el diseño de ácidos

nucleicos, ya sean DNA, RNA o RNA de interferencia, que corrigen alteraciones moleculares causantes del cáncer.

La terapia génica permite una variedad de posibilidades de complementar tratamientos convencionales y proporcionar nuevas estrategias de tratamiento (figura 4). Existen estrategias implicadas en la eliminación de células tumorales (terapia génica supresora de cáncer), silenciamiento de genes (interferencia de ARN como técnica más usada), terapia génica suicida y terapia oncolítica, inhibición de la proliferación (angiogénesis antitumoral), incremento de la actividad antineoplásica de las células del sistema inmune (terapia génica de inmunización) y técnica de edición de genes (CRISPR/Cas).

Terapia supresora de cáncer

La terapia supresora del cáncer supone una estrategia para inducir la expresión de un gen supresor tumoral, logrando la apoptosis y muerte de las células tumorales que presenten ese gen mutado. Por ejemplo, la terapia de reemplazo de p53, un gen supresor tumoral (Rodríguez et al., 2014).

Terapia oncolítica

La terapia oncolítica tiene como función la replicación viral, oncólisis, y liberación de los viriones a las células tumorales vecinas, manteniendo dicho ciclo mientras sigan presentes células tumorales que resistan a la infección (Montaño-Samaniego et al., 2020; Rodríguez et al., 2014).

Terapia génica suicida

La terapia génica suicida consiste en la introducción de genes suicidas que codifican proteínas capaces de desencadenar la muerte de las células cancerosas. Puede ser directa, es decir, un gen que codifica una proteína citotóxica que induce la muerte celular cuando se expresa dentro de ella, o indirecta, donde aumenta la sensibilidad del tumor a la quimioterapia mediante la introducción de un gen que expresa una enzima encargada de catalizar la transformación de un profármaco en una sustancia tóxica, con capacidad de difundir y eliminar las células tumorales a su alrededor, sin entrar en circulación sistémica ni generar efectos secundarios. Por ejemplo, el gen de la timidina-cinasa del virus Herpes simplex (HSV-tk) (gen suicida), y como profármaco, el ganciclovir (GCV). Otro gen utilizado es el gen de la citosina desaminasa (CD) de *Escherichia coli* (gen suicida), y 5-fluorocitocina (5-FC) (profármaco), cuyo metabolito tóxico es el 5-fluorouracilo, fármaco usado en la terapia convencional, en cánceres de HCC, próstata, colon y mama (Montaño-Samaniego et al., 2020; Rodríguez et al., 2014).

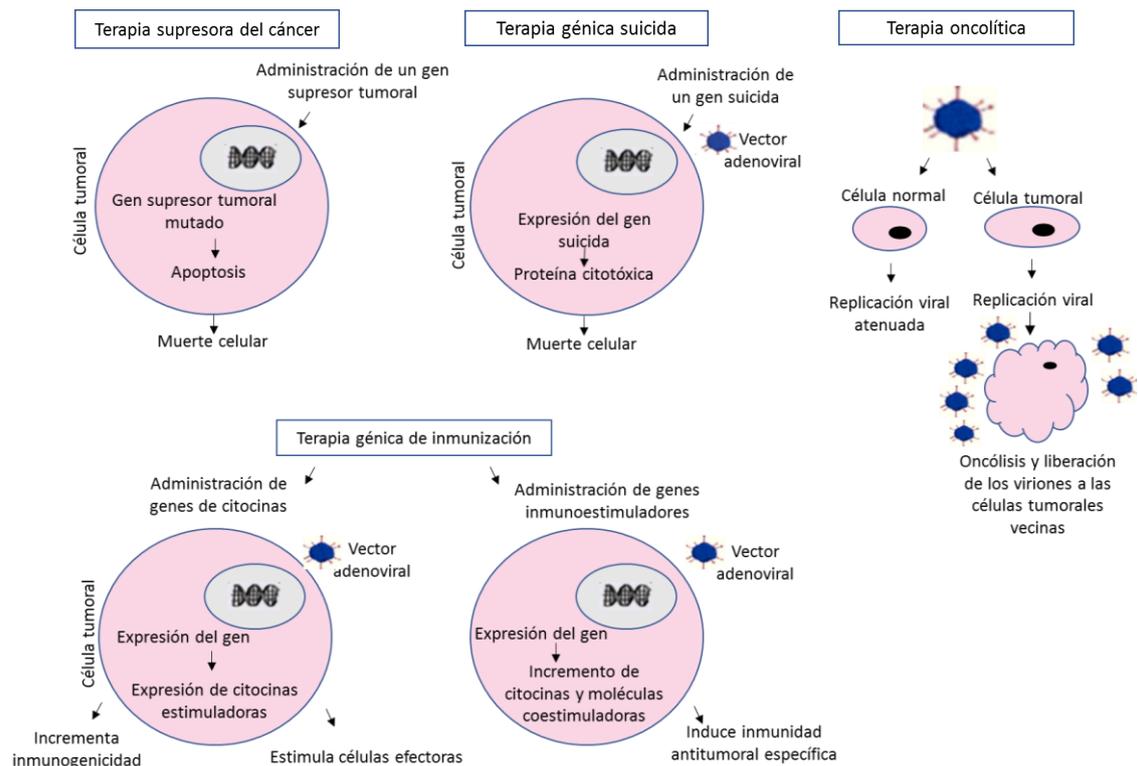


Figura 4. Diferentes estrategias de terapia génica antitumoral mediada por adenovirus. Adaptado de Rodríguez et al. (2014).

ARN de interferencia (ARNi)

El ARNi es una tecnología basada en ARN bicatenario (ARNdc) que identifica moléculas de ARNdc patógenas y las dirige para su escisión. Hay tres clases: microARN (miARN), ARN de interferencia pequeños (ARNip) y ARNs asociados a PIWI (ARNpi), que son un tercer tipo de ARN interferente que actúan impidiendo la expansión de los transposones.

Terapia génica de inmunización

La terapia génica de inmunización se ha desarrollado para inducir una inmunización activa que incremente la capacidad del sistema inmune de reconocer y rechazar los antígenos tumorales, considerando que las células tumorales inducen poca respuesta por parte del sistema inmune. Esta técnica es posible en células cancerosas con antígenos tumorales específicos. Actualmente, los enfoques de terapia génica utilizados son la terapia génica con citocinas, la terapia con vacunas tumorales y la terapia inmunoterapéutica de células T del receptor de antígeno quimérico (CAR-T).

A. Terapia génica con citocinas

Los ensayos clínicos se dirigen a genes de citocinas como activadores de la respuesta inmune. Las citocinas, como IL-2, IL-12 o interferones, entre otros, pueden favorecer la regresión del tumor mediante la estimulación del sistema inmune. Por ejemplo, se ha demostrado que la terapia génica de IL-2 es segura para el tratamiento de tumores de células mamarias caninas (Cemazar et al., 2017).

B. Terapia con vacuna tumoral

Una vez aisladas las células tumorales y dendríticas (CD) del paciente, la vacuna se prepara transfiriendo genes codificados por antígenos tumorales en las células dendríticas, y estas se vuelven a inyectar en el paciente, activando las células T e induciendo inmunidad antitumoral específica. Según investigaciones, en el cáncer de próstata se utilizan virus adenoasociados PSA para transferir los genes codificados y poder activar al sistema inmune (Meng et al., 2016).

C. Inmunoterapia de células T con receptor de antígeno quimérico (CAR-T)

En esta terapia se expresa el receptor de antígeno quimérico (CAR) en las células T que son transferidas al paciente para inducir la destrucción de las células tumorales.

Esta terapia ha dado muy buenos resultados en leucemias linfocíticas B resistentes a tratamientos convencionales como la quimioterapia, como leucemia aguda de linfocitos B recidivante y refractaria en niños y adolescentes. Sin embargo, la complejidad y los altos costos de fabricación de productos virales autólogos limitan el acceso a estas células T (Sheridan, 2017).

Las terapias génicas de inmunización, sobre todo las basadas en receptores de antígenos quiméricos (CAR) en células T (terapia CAR-T), representan el mayor número de estrategias terapéuticas en la clínica (Roma-Rodríguez et al., 2020).

Tecnología CRISPR/Cas9

La técnica de edición de genes permite modificar secuencias de genes específicas en las células. Dentro de la técnica de edición de genes, la más reciente desarrollada es la tecnología CRISPR, que consiste en un ARN guía (ARNg) que se une al sitio diana del ADN, y una nucleasa denominada proteína caspasa asociada a CRISPR (Cas) que escinde cadenas de ADN específicas complementarias al ARNg. Esta técnica se usa para aumentar la inmunidad adaptativa, y el tratamiento de carcinomas, tales como páncreas, cánceres de próstata, colon y mama,

consiguiendo la reducción del tamaño del tumor, la capacidad de diseminación y la resistencia a los medicamentos (Montaño-Samaniego et al., 2020).

La terapia génica combinada con los tratamientos convencionales en combinación con los tratamientos tradicionales mejora los resultados clínicos de los pacientes (Rodríguez et al., 2014).

Actualmente, tres áreas de mucho enfoque son las terapias basadas en AAV (vectores de virus adenoasociados), terapias celulares CAR-T (células T con receptor de antígenos quiméricos) y terapia de edición de genes basadas en CRISPR (repeticiones palindrómicas cortas agrupadas y regularmente interespaciadas).

4.2. Ensayos en terapia génica

Hasta la fecha se han realizado más de 2000 ensayos clínicos de terapia génica en el mundo, la gran mayoría están enfocados al tratamiento del cáncer, con un 67,4 %, y en segundo lugar se encuentran las enfermedades monogénicas, con un 11,6 % (figura 5).

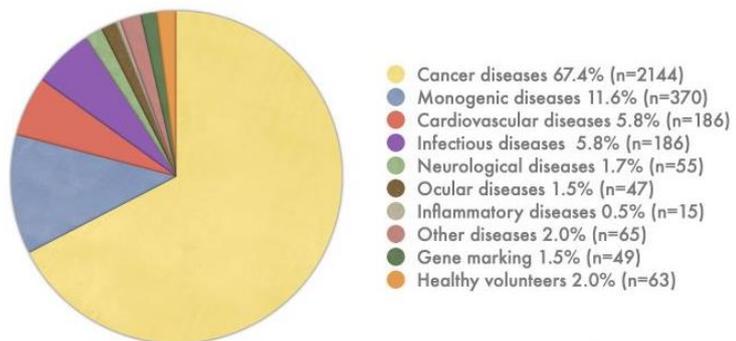


Figura 5: Indicaciones de ensayos clínicos de terapia génica. Tomado del sitio web de The Journal of Gene Medicine. Actualizado marzo 2021.

4.3. Terapias más utilizadas actualmente

4.3.1. Terapia de células T con CAR

4.3.1.1. Leucemia linfoblástica aguda (LLA)

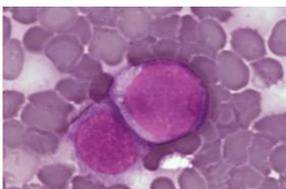


Figura 6. LLA, desarrollo del tumor. Tomado de Altmann (2005)

La LLA es un tipo agresivo de leucemia caracterizada por presentar un elevado número de linfocitos en la sangre periférica y en la médula ósea (figura 6). Se puede diseminar a los ganglios linfáticos, el hígado, el bazo, el sistema nervioso central y otros órganos (Altmann, 2005).

4.3.1.1.1. Incidencia, morbilidad y terapia convencional

La LLA puede afectar tanto a niños como a adultos, y es el cáncer más diagnosticado en niños, con mejor pronóstico que la población adulta. La LLA es más común en el niño, al contrario de lo que sucede en el adulto (Halfon-Domenech et al., 2021).

Tabla 1. Clasificación inmunológica de las leucemias agudas del niño. Tomado de Halfon-Domenech et al. (2021).

Subtipo de LLA	Perfil de expresión antigénica	Frecuencia
LLA pro-B	CD19 ⁺ , CD22 ⁺ , CD79a ⁺ , CD10 ⁻ , cIg ⁻	5-10%
LLA B común	CD19 ⁺ , CD22 ⁺ , CD79a ⁺ , CD10 ⁺ , cIg ⁻	55-65%
LLA pre-B	CD19 ⁺ , CD22 ⁺ , CD79a ⁺ , CD10 ⁺ , cIgm ⁺	20-25%
LLA B madura («Burkitt»)	CD19 ⁺ , CD22 ⁺ , CD79a ⁺ , CD10 ⁺ , sIgl ⁺	2-3%
LLA T	CD19 ⁻ , CD7 ⁺ , CD5 ⁺ , CD10 ⁺ , cCD3 ⁺ , CD2 ⁺	13-15%
LMA	CD13 ⁺ , CD33 ⁺ , CD117, CDw65, anti-MPO	

Se han investigado diferentes factores de riesgo de la enfermedad de LLA. Sin embargo, en la mayoría de los casos, alrededor del 90 %, no se encuentra ninguno.

Antes de introducir la terapia con células T con CAR, los pacientes con LLA R/R tenían una tasa de supervivencia a 5 años del 10 % en adultos y del 21 % en niños. Sin embargo, la terapia ha logrado importantes resultados, con una alta tasa de remisión completa del 57 al 93%, como figura en la tabla 2 (Marzal-Alfaro et al., 2021).

El tratamiento quimioterápico se administra vía oral, intravenosa e intratecal y engloba una corticoterapia a dosis elevada, combinada con quimioterapia, dependiendo del tipo de tratamiento. Las principales sustancias usadas en quimioterapia son la vincristina, las antraciclinas, la asparaginasa, la aracitina, el metotrexato, la ciclofosfamida y la 6-mercaptopurina.

Sólo las formas de LLA refractarias o las formas hipodiploides requieren alotrasplante de células madre hematopoyéticas (Halfon-Domenech et al., 2021).

4.3.1.1.2. Hacia la terapia génica: ¿Cómo funciona la terapia de células T con CAR?

El 10-15% de los pacientes sufren recaídas y se someten a alotrasplante de médula ósea. Los pacientes menores de 1 año y jóvenes (15-25 años), también soportan mal la potente quimioterapia, debido a la toxicidad que conlleva. Para estas personas, se han desarrollado tratamientos dirigidos (inmunoterapia), como el blinatumomab, un anticuerpo monoclonal biespecífico que reconoce a la célula B leucémica mediante un anticuerpo anti-CD19 y a una célula T con el objetivo de destruir la célula tumoral (Halfon-Domenech et al., 2021).

La terapia génica también está en pleno auge. La terapia con células T con receptor de antígeno quimérico (CAR) es el foco principal en la investigación relacionada con la inmunoterapia contra el cáncer (Agarwal et al., 2019).

Esta terapia ha conseguido grandes resultados en el tratamiento de neoplasias hematológicas, especialmente en pacientes con leucemia linfoblástica aguda de células B en recaída/refractaria (R / R B-ALL).

La terapia de células CAR-T está basada en la reprogramación genética de los propios linfocitos T del enfermo para luchar contra el cáncer. Esta inmunoterapia consiste en la manipulación genética de linfocitos T *ex vivo* para expresar los receptores de antígenos quiméricos (CAR), específicos para antígenos de superficie en las células tumorales. Estas células CAR-T se expanden posteriormente, se seleccionan lo requiere y se acondicionan para producir el fármaco con el que será tratado el paciente (Agarwal et al., 2019; Marzal-Alfaro et al., 2021).

La administración tradicional de células T con CAR implica el cribado, la inscripción y la aféresis del paciente para la recolección de células T, la generación de células T con CAR, el pretratamiento y la infusión, como se muestra en la figura 7 (Xu et al., 2021).

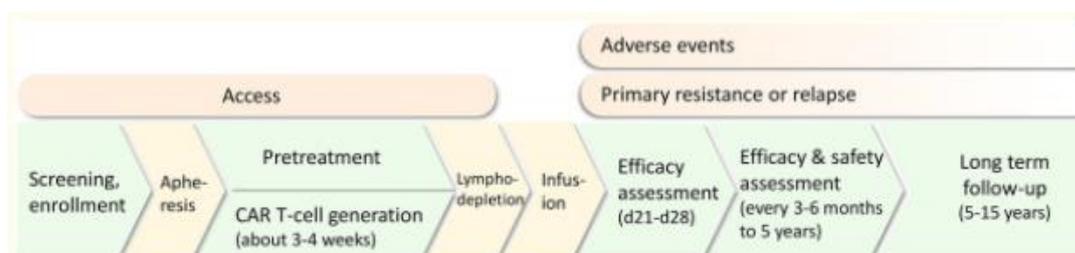


Figura 7. Protocolo de tratamiento común de la terapia de células T con CAR para la LLA recidivante/ refractaria. Tomado de Xu et al. (2021).

Primero el equipo de oncología evalúa a los pacientes para determinar si la terapia es segura y adecuada. Los pacientes elegibles para la terapia deben tener tumores positivos para el objetivo CAR (por ejemplo, CD19), una cantidad apropiada de células T para la recolección y ausencia de infección activa y no controlada, entre otros factores.

A continuación, se recogen las células T del paciente mediante leucocitaféresis. El tratamiento del paciente se modifica muy frecuentemente para aumentar el número de células T a recolectar. Por ejemplo, evitar corticosteroides durante un período de tiempo antes de la leucocitaféresis o llevar a cabo quimioterapia de rescate dentro de ese mismo período.

Dependiendo del ensayo clínico llevado a cabo, las células recolectadas se congelan y envían a una instalación para su posterior procesamiento (Brundo, 2018).

El tercer paso es la activación de las células T. En esta etapa las células T aisladas se colocan en un cultivo y se activan in vitro, con el objetivo de favorecer la expresión del CAR en las mismas (Gamberale, 2014).

El cuarto paso es manipulación genética de las células T, donde se introduce el gen que expresa CAR que se dirige a un antígeno de un tumor específico. Los medios más comunes y eficaces usados para la transferencia del gen incluyen vectores virales, sobre todo lentivirales (Agarwal et al., 2019), lo que da como resultado una modificación permanente del genoma del linfocito T. Se ha demostrado la generación in vivo de células T CD19-CAR humanas dirigidas a células CD8 + usando vectores lentivirales (LV).

Estos vectores tienen una inmunogenicidad limitada y potencial oncogénico bajo. Actualmente se están analizando otros sistemas de expresión.

En el quinto paso las células se expanden in vitro, con el fin de obtener un número suficiente de células CAR-T, utilizando distintos medios de cultivo. Las muestras se retiran para realizar pruebas control de calidad del producto. Finalmente, las células CAR-T se lavan, concentran y congelan para su envío al sitio de infusión, donde se le administra al paciente.

En los días previos a la infusión de células CAR-T, el paciente se somete a quimioterapia de linfodepleción para reducir los linfocitos endógenos o células inmunosupresoras que puedan amenazar, lo que permite una mejor extensión de las células T con CAR, además de disminuir la carga tumoral, consiguiendo así mayor eficacia y menor toxicidad (figura 8) (Brundo, 2018).

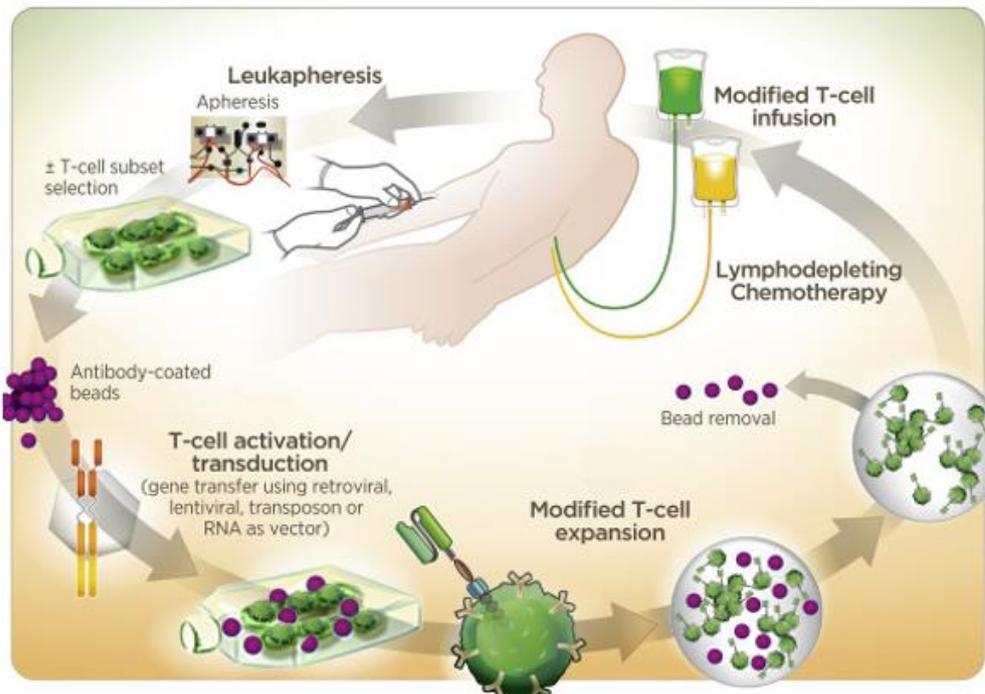


Figura 8. Etapas de la terapia de células T con CAR. Tomada de Frey (2017).

4.3.1.1.3. Eventos adversos, ensayos y desafíos

Entre los efectos adversos están:

Síndrome de liberación de citocinas. El CRS es una respuesta inflamatoria sistémica (Frey, 2017) que se relaciona con la activación y expansión de las células T con CAR anti-CD19 y se manifiesta con síntomas parecidos a la gripe y la fiebre que pueden progresar a hipotensión potencialmente mortal e insuficiencia respiratoria hipóxica. La respuesta inmunitaria de la que depende esta eficacia también es responsable de la toxicidad del CRS. (Frey et al., 2020).

Para la prevención, el SRC se puede controlar de manera más eficaz con un esquema de dosificación fraccionada de células T con CAR, como se observa en el ensayo de Frey et al. (2020) (tabla 2).

Neurotoxicidad. Los problemas neurológicos ocurren durante las primeras semanas de tratamiento, e incluyen encefalopatías, déficits, edema cerebral y convulsiones. Los factores de riesgo no están claros, pero la carga de la enfermedad y un CRS grave pueden aumentar la toxicidad en el SNC. Según los estudios, las células T con CAR atraviesan rápidamente la barrera hematoencefálica y se detectan en el líquido cefalorraquídeo.

La patogenia de la neurotoxicidad puede ser multifactorial, y se encuentra en investigación activa (Frey, 2017).

Ensayos clínicos

El mayor avance en el tratamiento de la LLA que se está produciendo actualmente son células CAR-T, con especificidad para CD19.

La terapia de células T para el tratamiento de pacientes con LLA-R / B ha logrado una alta tasa de RC, del 57 % al 93 % (tabla 2) (Xu et al., 2021).

Tabla 2. Ensayos clínicos publicados de terapia con células T con CAR. Tomado y modificado de Xu et al. (2021).

Número de pacientes	Antígeno diana	Pacientes con RC (%)	Pacientes con recaída (%)	Pacientes con SRC	Pacientes con NT	Referencias
35	CD19	24 (69%)	Desconocido	33 (94%) Grave 18%	14 (40%)	(Frey et al., 2020)
34	CD22	24 (71%)	5 (21%)	31 (91%) Grave 3%	6 (18%)	(Pan et al., 2019)

La terapia de células T con CAR CD19 tisagenlecleucel (CTL019) tiene una tasa RC del 81% en niños con LLA de células B recidivante o resistente a quimioterapia (r / r). El síndrome de liberación de citocinas (SRC) limita su uso en adultos, debido a la toxicidad relacionada con el tratamiento.

Por ello, se ha realizado un estudio de 3 cohortes con tisagenlecleucel en pacientes adultos con LLA r/r, con dosificación CTL019 optimizada y un método de manejo de SRC. Se inscribieron 49 pacientes, pero 14 no recibieron el tratamiento por varias razones. El estudio se llevó a cabo en treinta y cinco adultos con LLA r/r, los cuales recibieron CTL019 en 1 de 3 cohortes de dosificación. La tasa general de RC en todas las cortes fue del 69% y la toxicidad relacionada con el tratamiento variaba según las cortes. Los pacientes fueron tratados con infusión única de dosis alta (HDS), pero debido a las muertes ocasionadas por SRC, se modificó a infusión única de dosis baja (LD). Debido a la poca eficacia fue modificado nuevamente por dosificación fraccionada con dosis alta (HDF).

Los pacientes que recibieron CTL019 en la cohorte fraccionada de dosis alta (HDF) lograron la tasa de supervivencia más alta. Por lo tanto, el estudio demuestra que la dosificación fraccionada optimiza la seguridad sin influir en la eficacia en adultos con LLA r/r (Frey et al., 2020).

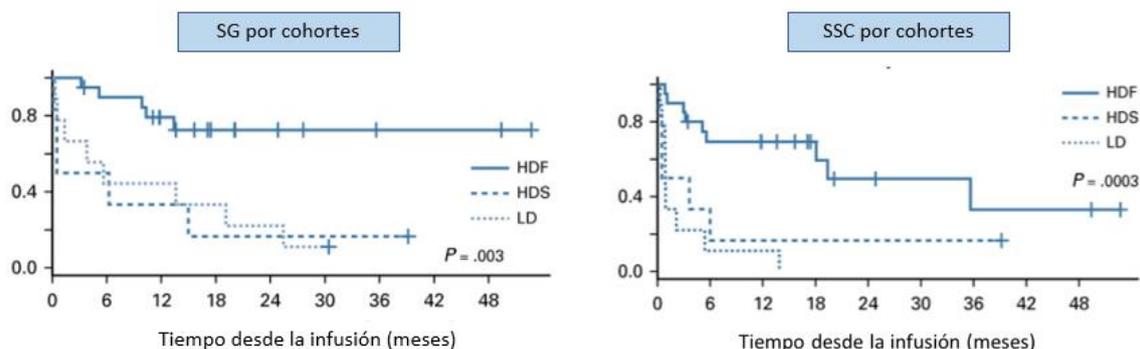


Figura 9. Análisis de tiempo transcurrido hasta el evento de la supervivencia libre de eventos (SSC) y la supervivencia general (SG). Tomado y modificado de Frey et al. (2020).

Los ensayos clínicos con terapia de células T con receptor de antígeno quimérico anti-CD19 han demostrado resultados clínicos prometedores a nivel mundial, sin embargo, una gran proporción de los pacientes con RC recayeron en un corto plazo de tiempo. Por eso, se requieren nuevos métodos, como la terapia con CAR CD22.

CD22 es un antígeno diana con alta expresión en células leucémicas de la mayor parte de pacientes con LLA-B r/r. Un estudio de terapia con células T con CAR CD22, realizado a 34 pacientes con LLA-B r/r que no respondieron a la terapia con células T con CAR CD19, resultó en una tasa de RC del 70,5 % de los pacientes. La mayoría sólo experimentaron grados bajos de CRS y una leve neurotoxicidad (tabla 2).

Este estudio demostró que la terapia con células T CAR CD22 era altamente efectiva para la inducción de RC en pacientes con LLA-B r/r (Pan et al., 2019).

Desafíos

Independientemente de la eficacia de la terapia, sigue teniendo desafíos y limitaciones. Los efectos adversos destacan el problema de la seguridad y la resistencia y la recaída son unas de las principales barreras que restringen el uso de la terapia de células CAR-T (Gamberale, 2014). Por ello, se proponen grandes estrategias preventivas y terapéuticas para resolver estos problemas.

Por otra parte, las células autólogas tienen varias limitaciones, el producto debe generarse a partir de las células de cada paciente, es un proceso largo y costoso, y con riesgo de fallos en la fabricación. Este hecho hace que el tratamiento no esté preparado para administrar de manera inmediata (Xu et al., 2021).

La FDA aprobó la primera terapia de células T con CAR Kymriah TM (tisagenlecleucel) (Date and Nair, 2021) en agosto de 2017 para pacientes con neoplasias malignas de células B en recaída o refractarias. Un tratamiento cuesta \$ 373 000 o \$ 475 000 (dependiendo del tipo de neoplasia maligna de estas células) (Silbert et al., 2019).

Recientemente, la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios (AEMPS) ha aprobado el uso del CAR-T ARI-001, desarrollado por el Hospital Clinic, para su uso en pacientes mayores de 25 años con LLA resistente a los tratamientos convencionales. Es el primer CAR-T desarrollado en Europa y aprobado por una agencia reguladora, la cual garantiza que este medicamento cumple los criterios de calidad, seguridad y eficacia exigibles.

Como ya hemos visto anteriormente, la terapia CAR-T consiste en modificar los linfocitos T para ser capaces de atacar a las células cancerosas, en este caso, el CART – CD19 se ha desarrollado a partir de un anticuerpo monoclonal propio para modificar los linfocitos T, creado en el hospital hace más de 30 años.

El estudio se realizó a 58 pacientes adultos y pediátricos, 38 de ellos tratados previamente con varias líneas de tratamiento sin resultados favorables, es decir, sin alternativas terapéuticas disponibles. El ensayo cursó con una remisión completa (RC) en más de 70 % de los pacientes.

Esta terapia CAR-T cubre una necesidad no cubierta, en pacientes adultos y refractarios a los tratamientos disponibles. Además, el hecho de que CART-CD19 sea producto del propio hospital hace que pueda prepararse de inmediato, una gran ventaja en los pacientes frágiles, y se pueda modular la cantidad de CARTs o repetir la dosis, en función de las características del paciente.

El método de preparación permite reducir el coste de producción y favorecer la disponibilidad a todos los pacientes y a las distintas instituciones académicas (Clinic, 2021).

4.3.1.2. Tumores sólidos

Las inmunoterapias con células receptoras de antígeno quimérico T (CAR-T) han permitido el desarrollo de terapias génicas para cánceres hematológicos y sólidos.

La molécula CAR se dirige a los antígenos de superficie de las células cancerosas. No solo se dirige a proteínas, sino también a carbohidratos y glicolípidos. Por tanto, la selección del antígeno se convierte en la clave para determinar su potencial.

La cobertura y la especificidad son los factores fundamentales en el cribado para el tratamiento con CAR-T, así como la estabilidad. Una alta cobertura indica que el antígeno está presente en la mayoría de las células tumorales a eliminar, por lo tanto, se obtendría una alta eficacia en el

aclaramiento tumoral. La especificidad se valora mediante la citotoxicidad fuera del tumor, y la estabilidad mediante la duración y recurrencia de la respuesta.

Debido a la falta de un objetivo ideal, los investigadores han diseñado estrategias para mejorar la cobertura y especificidad, y la más común es combinar objetivos (Wei et al., 2019).

La administración de células CAR-T para tumores sólidos es una de las técnicas terapéuticas más difíciles. Los dos primeros ensayos clínicos llevados a cabo en pacientes con sarcoma y neuroblastoma demostraron buenos resultados clínicos de las células T con CAR, pero esta terapia no es lo suficientemente accesible y eficiente. La escasez de dianas adecuadas y el microambiente que protege a los tumores sólidos del sistema inmune constituyen los principales obstáculos para conseguir una terapia eficiente (Titov et al., 2020).

A pesar de los resultados prometedores en las neoplasias hematológicas, la terapia con células T con CAR no ha mostrado resultados clínicos exitosos en el tratamiento de tumores sólidos (Date y Nair, 2021).

4.3.2. Terapia oncolítica: Melanoma

4.3.2.1. Incidencia, morbilidad y terapia convencional

La incidencia de melanoma en Europa es $< 10-25 / 100.000$ al año, en Australia $50-60 / 100.000$ y en Estados Unidos es de $20-30 / 100.000$. En los próximos años se prevee un aumento de los casos, por lo que es esencial mejorar las medidas de diagnóstico precoz y prevención de este cáncer.

El factor de riesgo más importante es la radiación ultravioleta fundamentalmente en los primeros años de vida (Majem et al., 2021).

La profilaxis es fundamental y el uso regular de protector solar disminuye la incidencia de melanoma cutáneo.

Con respecto a los tumores locales, La biopsia escisional está indicada para cualquier lesión o herida sospechosa. Tras el diagnóstico patológico, se realiza una cirugía con amplios márgenes.

En los casos más graves donde las lesiones no pueden tratarse con cirugía o radioterapia local debido a un melanoma avanzado se recurre a fármacos quimioterápicos o inmunoterapia.

El tratamiento del melanoma avanzado consta de inmunoterapia (ipilimumab, nivolumab o pembrolizumab) o terapia dirigida (con inhibidores de BRAF y MEK en melanoma mutante BRAF avanzado). En el caso de melanoma metastásico irresecable, la inmunoterapia basada en

inhibidores de los puntos de control inmunitarios y empleada como tratamiento de primera línea ha conseguido resultados superiores sobre la quimioterapia en tasa de respuesta general, supervivencia libre de progresión (SLP) y supervivencia global (SG). El ipilimumab, un anticuerpo anti-CTLA-4 (proteína asociada a linfocitos T citotóxicos), fue el primero en mostrar mejora en pacientes con melanoma metastásico (Majem et al., 2021).

4.3.2.2. Hacia terapia génica: ¿En qué consiste la terapia oncolítica?

Por otro lado, existe un tipo de terapia génica como Talimogene Laherparepvec, una viroterapia intralesional que ha demostrado una alta tasa de respuesta duradera, mejora en la supervivencia global y control en pacientes con melanoma en estadio irresecable. T-VEC es un virus establecido a partir del herpes simple tipo 1 y su función se estudia en el tratamiento de esta enfermedad.

Es la primera terapia oncolítica intralesional aprobada en Europa, Australia y EE. UU. para tratar el melanoma irresecable en estadio IIIC, IIIB, o IVM1a en Europa. Es una opción de tratamiento ideal por su perfil de baja toxicidad, especialmente para pacientes de edad avanzadas o con múltiples comorbilidades (Majem et al., 2021; Miguel et al., 2020).

Las terapias anticancerosas con virus pueden ser vacunas o viroterapias oncolíticas. Las vacunas codifican y expresan antígenos tumorales específicos y exógenos, mientras que las viroterapias lisan las células tumorales para liberar antígenos endógenos.

Los virus oncolíticos inducen tanto inmunidad antitumoral como antiviral, debido a su mecanismo de acción. Existen multitud de ensayos clínicos con virus oncolíticos, como se muestra en la tabla 3.

Una ventaja de los virus recombinantes oncolíticos es que tienen capacidad de provocar citorreducción del tumor y respuestas inmunitarias adaptativas frente a los antígenos (Forbes et al., 2018).

Inmunomoduladores expresados por los virus oncolíticos

Los VO son, además, vectores de genes que codifican inmunomoduladores cuyo fin es mejorar la respuesta inmune antitumoral. La expresión de citoquinas, como GM-CSF, IL-2, IL-15, IL-12, INF- α , INF- γ o INF- β muestra propiedades antitumorales en estudios. En el caso del melanoma, se han usado genes codificadores de GM-CSF para ser administrados mediante un VO, VHS-1 (terapia T-VEC) (Forbes et al., 2018).

Se han utilizado muchas cepas virales para el desarrollo de fármacos anticancerosos. En la tabla 3 se muestran una serie de ensayos clínicos activos actuales con virus oncolíticos.

Tabla 3. Ejemplos de estudios con virus oncolíticos. Tomado y modificado de Forbes et al. (2018).

<i>Virus</i>	<i>NCT</i>	<i>Indicación</i>
Virus de la vacuna	NCT03294486	Glioblastoma
Adenovirus	NCT03004183	NSCLC y cáncer de mama triple negativo
	NCT02705196	Cáncer de páncreas
	NCT02365818	Cáncer de vejiga
	NCT02045602	Tumores sólidos avanzados
	NCT02879760	NSCLC
	NCT03190824	Melanoma metastásico irresecable
HSV-1	NCT03252808	Melanoma
	NCT02457845	Tumores cerebrales pediátricos

Ensayos

El objetivo de este ensayo fue analizar el resultado de los pacientes con melanoma en estadio IIB, IIC y IVM1a tratados con T-VEC, en un análisis retrospectivo multiinstitucional. Este análisis descriptivo se realizó en un período de 1370 días, comprendido entre mayo 2016 y enero de 2020.

Ochenta y ocho pacientes cumplieron criterios de revisión retrospectiva. 45 pacientes fueron tratados con T-VEC como terapia de primera línea y los 43 pacientes restantes con T-VEC como segunda línea. La evaluación del investigador se muestra en la tabla 4. La tasa de respuesta global (ORR) fue del 63,7%. 38 pacientes (43,2%) alcanzaron respuesta completa (RC), 18 (20,5%) respuesta parcial (PR), 8 (9,1%) enfermedad estable (SD) y 24 (27,3%) presentaron DP (Ressler et al., 2021).

Tabla 4. Respuesta general evaluada por el investigador. Tomado y modificado de Ressler et al. (2021).

Mejor respuesta general evaluada por el investigador

<i>Tasas de respuesta</i>	n=88	100 %
<i>CR</i>	38	43,2 %

PR	18	20,5 %
SD	8	9,1 %
PD	24	27,3 %

Los 45 pacientes tratados con T-VEC como terapia de primera línea presentaron una mejora de la supervivencia libre prolongada (SLP) ($p = 0,016$) y pocas diferencias significativas de SG en comparación con los pacientes tratados con T-VEC como segunda línea. En general, T-VEC como terapia de primera línea está correlacionada con una mejor tasa de respuesta completa (RC), (enfermedad estable (SD), respuesta parcial (RP) y enfermedad progresiva (EP) (Ressler et al., 2021).

Tabla 5. Diferencias entre terapia de primera y segunda línea. Adaptado de Montaña-Samaniego et al. (2020).

	Total	RC	SD	RP	EP
Segunda línea de T-VEC	43 (48,9 %)	15 (17,0%)	5 (5,7%)	8 (9,1 %)	15 (17,0 %)
Primera línea de T-VEC	45 (51,1 %)	23 (26,1 %)	3 (3,4 %)	10 (11,4 %)	9 (10,2 %)

4.3.3. Técnica CRISPR

4.3.3.1. CRISPR, un hallazgo novedoso

En los últimos años, se ha desarrollado una nueva herramienta de ingeniería del genoma basada en endonucleasas que contiene dominios de ARN, a saber, la proteína 9 (Cas9) asociada a repetición palindrómica corta regularmente interespaciada agrupada (CRISPR), para el tratamiento del cáncer que obtuvo una enmienda significativa en la expresión y terapia génica debido a su simplicidad y habilidades diana que consumen menos tiempo con alta precisión y eficiencia.

Las técnicas convencionales de unión al dominio de ADN, incluida la nucleasa con dedos de zinc (ZFN) y la nucleasa efectora similar a un activador transcripcional (TALEN) han influido en la generación de nuevos modelos de cáncer y estudios de terapia, pero debido a su alto consumo de tiempo y su complejidad, su uso se ha restringido enormemente. La tecnología CRISPR/Cas9 pertenece a la tercera generación de tecnología de edición de genes. Desde su descubrimiento,

ha atraído la atención de un gran número de investigadores. En los últimos años, esta tecnología se ha desarrollado rápidamente y se ha aplicado ampliamente en muchos campos, especialmente en la medicina.

La aparición de la tecnología de edición de genes CRISPR/Cas-9 ofrece nuevas posibilidades para la edición de genes humanos. Con un rápido desarrollo en los últimos años, se ha aplicado ampliamente en muchos campos, especialmente en los campos del tratamiento de enfermedades genéticas, el cribado y detección de genes relacionados con enfermedades, el tratamiento de tumores, la transformación de plantas y animales y la prevención y control de microorganismos patógenos (Chen et al., 2019).

4.3.3.2. CRISPR como terapia génica

El sistema CRISPR/Cas9 consta de una endonucleasa de ADN Cas9 y un ARN de guía única (sgRNA) que siga la acción del ARN en procariontes. La proteína Cas debe reconocer la secuencia PAM, al igual que lo hace en las bacterias. El ARN guía dirige la endonucleasa al sitio específico para cortar secuencia de ADN de doble cadena, como se muestra en la figura 10.

Una vez que Cas9 se une y corta la secuencia de ADN responsable, se introducirá una copia sana de la secuencia que sustituya a la anómala. Las rupturas de doble cadena (DSB) pueden ser reparadas por recombinación homóloga o Homology-Directed Repair (HDR) y no homóloga o Non-Homologous End Joining (NHEJ).

La HDR es el método más adecuado para la terapia génica por su mayor eficiencia, sin embargo el método predominante es NHEJ, a pesar de ser más propenso a errores que otro tipo de recombinación (Chen et al., 2019; Liu et al., 2019).

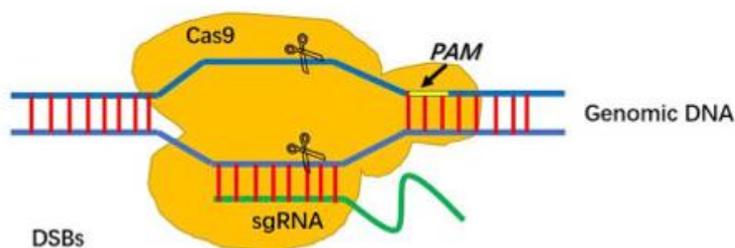


Figura 10. Mecanismo de acción del sistema CRISPR/Cas9. Tomado de Chen et al. (2019).

4.3.3.3. Potencial de aplicación contra el cáncer

La técnica CRISPR/Cas9 puede ser una estrategia novedosa y prometedora para corregir las aberraciones oncogénicas, dado que el cáncer es una enfermedad genética derivada de estas aberraciones acumulativas.

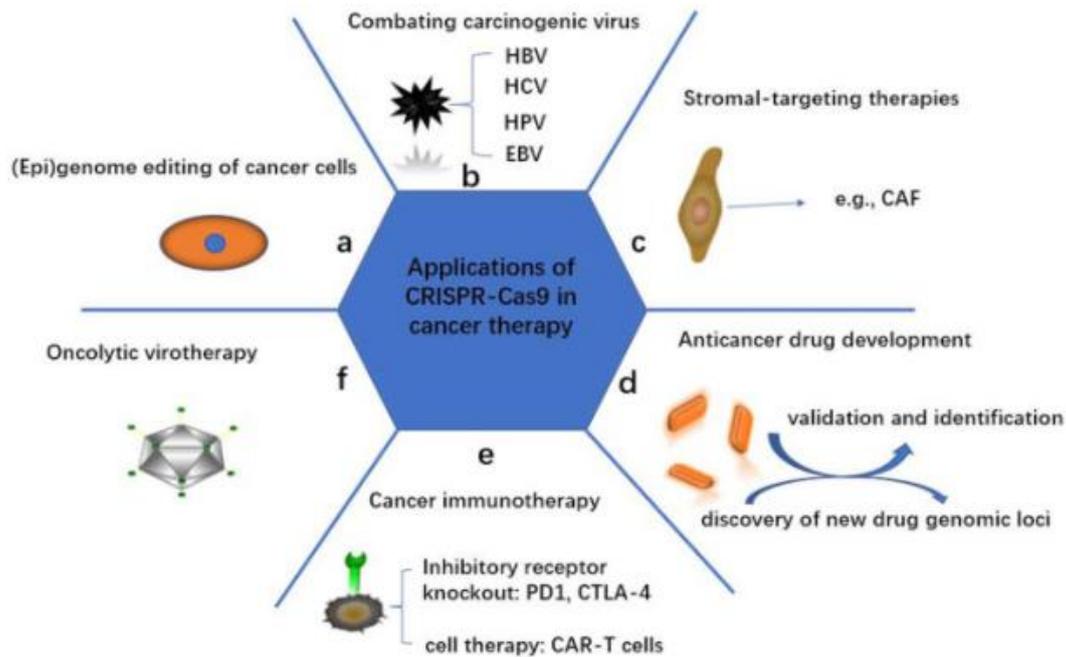


Figura 11. Potencial de aplicación de la técnica CRISPR/Cas9 en la terapia del cáncer. Tomado de Chen et al. (2019).

- A. Epi edición del genoma de células tumorales.** La eliminación de genes implicados en el crecimiento y supervivencia de las células tumorales promueve la apoptosis, inhibiendo el crecimiento tumoral.
- B. Lucha contra la infección por virus cancerígenos.** Los oncogenes virales se pueden eliminar directamente mediante un Cas9-sgRNA específico de su genoma, incluidos los genes para la replicación del virus. Todo esto contribuye a supresión de la expresión e inducción de la muerte de la célula cancerosa.
- C. Terapia dirigida al estroma.** Se utiliza para reprogramar el estroma tumoral y conseguir efectos cancerígenos.
- D. Desarrollo de fármacos contra el cáncer.** La tecnología CRISPR permite validar e identificar dianas para fármacos y genes de resistencia, y encontrar nuevos objetivos de fármacos gracias a su elevada eficiencia. Esto facilita el desarrollo de fármacos contra el cáncer.
- E. Inmunoterapia contra el cáncer.** Con la tecnología CRISPR mejora la eficacia de la terapia de células T. Una estrategia llevada ya a la clínica ha sido la eliminación de puntos de control inmunitarios como CTLA-4 (antígeno 4 de linfocitos T) y el gen *PD-1* (ligando de muerte celular programada) utilizando CRISPR/Cas9, la cual ha mejorado la eficacia de la respuesta inmunitaria de las células T frente a las células cancerosas.

Otra estrategia prometedora es la terapia de células CAR-T. Usando el sistema CRISPR/Cas9, se pueden alterar secuencias genómicas y producir células CAR-T deficientes en el gen *PD-1*, receptor de células T (TCR), entre otros.

Además de estas opciones terapéuticas, la edición de genes podría utilizarse para introducir el propio CAR específico en las células T del paciente.

- F. Viroterapia oncolítica.** Algunos virus pueden modificarse mediante edición genética para replicarse de forma eficaz dentro del hospedador, y posteriormente, inducir respuestas inmunitarias contra el cáncer.

4.3.3.4. Tipos de cáncer más tratados

En comparación con los tumores no sólidos como la leucemia, los tumores sólidos, como el cáncer de mama, hígado, pulmón, próstata y colorrectal, mostraron peores progresos en los tratamientos basados en terapia génica (Hazafa et al., 2020). Por lo tanto, el desarrollo de CRISPR/Cas9 mejoró la situación. Ensayos realizados demuestran que CRISPR/Cas9 puede inhibir el crecimiento tumoral inhibiendo la proliferación y metástasis e induciendo la apoptosis.

Por otra parte, la eficacia de la terapia de células CAR-T frente a tumores sólidos sigue siendo limitada. Por ello, los investigadores desarrollaron otro enfoque potencial, las células CAR-T diseñadas mediante ingeniería con la herramienta CRISPR/Cas9 ex vivo, muy prometedora para la inmunoterapia contra el cáncer.

Por ejemplo, la actividad de las células T se regula mediante el receptor PD-1. La inhibición sistémica del *gen PD-1* por electroporación del plásmido CRISPR/Cas en células T, puede mejorar la citotoxicidad hacia las células cancerosas. Por tanto, Knockout genético del *PDCD1* puede mejorar la actividad de las células T humanas (Hamilton and Doudna, 2020).

La edición genómica de los sistemas CRISPR/Cas9 se ha estudiado en ensayos clínicos para mejorar la longevidad de la actividad de las células T.

Ahora es un desafío conseguir alta eficiencia de edición genética ex vivo usando vectores virales o electroporación. La electroporación es el método más utilizado, debido a su alta eficiencia para transferir los sistemas CRISPR a las células T, células B y células NK (Hazafa et al., 2020; Song et al., 2021).

Cáncer de pulmón

El cáncer de pulmón representa la principal causa de muerte por cáncer en la actualidad, a pesar de los avances en cirugía, radioterapia y quimioterapia (Montaño-Samaniego et al., 2020).

Los inhibidores del punto de control anti-PD1, como pembrolizumab, son considerados la terapia de primera línea para el cáncer de pulmón de células no pequeñas avanzado. Los pacientes alcanzan tasas de supervivencia a 5 años con este inhibidor como agente único.

En los últimos años se ha llevado a cabo un primer ensayo de fase I de células T CRISPR/Cas9 PD-1 editadas en pacientes con cáncer de pulmón avanzado de células no pequeñas (NCT02793856), como figura en la tabla 6. Este estudio consistía en eliminar el gen *PD-1* de las células T y una vez editadas, se expandían ex vivo y se volvían a introducir como linfocitos T terapéuticos. Los plásmidos sgRNA y Cas9 se cotransfectaron a las células T a través de electroporación. El objetivo principal era evaluar la viabilidad y seguridad de la terapia con células T editadas genéticamente (Hazafa et al., 2020).

Cáncer de mama

El cáncer de mama es una de las principales causas de muerte en mujeres, y supone el 30 % de los diagnósticos a nivel mundial. Existen varios subtipos de cáncer asociados al receptor de estrógenos (ER), que son el cáncer de mama luminal A, luminal B, triple negativo y enriquecido en Her2. Los subtipos luminales se caracterizan por ser los más letales, y el TNBC por una alta metástasis, donde la quimiocina CXCL12 y los receptores CXR4 y CXR7 juegan un papel importante. La incidencia del TNBC es mucho más reducida, alrededor de un 15 % aproximadamente, y la única opción terapéutica es la quimioterapia, donde las líneas celulares son más sensibles concretamente a tres fármacos, docetaxel, gemcitabina y doxorubicina.

Recientemente, la técnica CRISPR/Cas9 ha demostrado ser un objetivo terapéutico eficaz en el cáncer de mama. Se llevó a cabo un estudio donde se usó la técnica CRISPR/Cas9 para la eliminación conjunta e independiente de los genes *CXR4* y *CXR7* en la línea celular TNBC MDA-MB-231. Según los resultados, se demostró que la eliminación conjunta de estos genes inhibía la proliferación, migración e invasión de células TNBC de manera mucho más eficaz.

Cáncer de colon

El cáncer de colon (CCR) es el tercero con mayor tasa de incidencia mundial, y el segundo con mayor mortalidad (Montaño-Samaniego et al., 2020).

Entre los tratamientos convencionales encontramos los agentes antitumorales anti-EGFR y anti-VEGF, pero se limitan a un entorno metastásico y presentan una estrecha eficacia.

En los últimos años, Li y col. realizó un ensayo in vitro, demostrando que la introducción de un sistema Cas9/sgRNA en la línea celular CaCO2 inactivaba la función de Par3L en las células de CCR. Par3L inhibe la vía Lkb1/AMPK, permitiendo la supervivencia de las células del CCR, ya que Lkb1 es una proteína supresora de tumores y AMPK regula el metabolismo y la apoptosis celular. De tal forma que la eliminación de *Par3L* inhibía la proliferación y promovía la apoptosis en las células CCR.

Además, las células knockout de Par3L son más sensibles a las terapias antitumorales, considerando a las mismas una buena diana para la tecnología CRISPR/Cas9 (Li et al., 2017).

Tabla 6. Tipos de cáncer más tratados mediante la tecnología CRISPR-Cas9. Elaboración propia.

Tipo de cáncer	Elección de destino	Línea celular/gen	Tipo de estudio	Vector	Referencias
Cáncer de mama	<i>TNBC</i>	MDA-MB-231	In vitro	Lentiviral	(Yang et al., 2019)
Cáncer de pulmón	<i>PD-1</i>	Células T	Ensayo clínico de fase I	Plásmido de CRISPR/Cas, electroporación ex vivo.	(Lu et al., 2020)
Cáncer de colon	<i>Par3L</i>	CaCO-2	In vitro	Plásmido	(Li et al., 2017)

Por otra parte, nuevos estudios basados en la técnica CRISPR/Cas9 permiten por primera vez rastrear el linaje de cada célula cancerosa y monitorear los procesos metastásicos en tiempo real, es decir, encontrar el momento en el que una sola célula tumoral se propaga a un órgano distinto de aquel en el que se inició.

Gran porcentaje de la mortalidad asociada al cáncer es debido a su capacidad de extenderse y producir metástasis. Identificar los genes asociados a metástasis podría ser de gran utilidad para los investigadores, ya que, enfocando las terapias anticancerosas en estos centros, se podría ralentizar e incluso prevenir la metástasis (National Geographic, 2021).

4.3.4. Otros tipos de cáncer y terapias empleadas

En los últimos años, las tecnologías de transferencia de genes han progresado considerablemente. Esta amplia variedad de estrategias moleculares, junto con los vectores de administración, se están utilizando para establecer nuevos tratamientos y complementar terapias convencionales, mejorando significativamente su efecto terapéutico.

Tabla 7. Cánceres más comunes tratados con terapia génica. Adaptado de Montaña-Samaniego et al. (2020).

Tipo de cáncer	Tipo de gen/proteína utilizado	Observación	Referencias
<i>Cáncer hepatocelular</i>	Gen suicida HSV1-tk	Aumenta sensibilidad del tumor a la quimioterapia	<i>(Park et al., 2015)</i>
	Adenovirus oncolítico E1A	Oncolisis de células tumorales	<i>(Yoon et al., 2018)</i>
	Gen suicida HSV1-tk	Aumenta sensibilidad del tumor a la quimioterapia	<i>(Maeda et al., 2001)</i>
<i>Cáncer de mama</i>	Supresor de tumores miR-7	Vector de expresión que disminuye el crecimiento tumoral, migración y metástasis de células de cáncer de pulmón in vitro e in vivo.	<i>(Lei et al., 2017)</i>
	Combinaciones: Gen suicida HSV1-tk y gen IL-12	La terapia génica suicida combinada con la terapia génica inmunitaria proporciona un efecto antitumoral más fuerte que la terapia génica con un solo gen.	<i>(Hao et al., 2018)</i>
<i>Cáncer de pulmón</i>	Suicidio gen E y fármaco PTX	Aumenta la sensibilidad del fármaco antitumoral PTX.	<i>(Qiu et al., 2012)</i>
<i>Cáncer colorrectal</i>	Gen adenoviral E1A	Oncolisis de células tumorales	<i>(Higashi et al., 2014)</i>
	Gen adenoviral E1A; combinación del gen	La terapia génica suicida combinada con la terapia génica inmunitaria proporciona una inmunidad antitumoral específica,	<i>(Higashi et al., 2014)</i>

	suicida HSV1-tk y el gen IL-18	eliminando total o parcialmente los tumores	
	Gen suicida HSV1-tk	Aumenta sensibilidad del tumor a la quimioterapia (GCV).	<i>(Rama et al., 2015)</i>
	Combinación de genes suicidas HSV1-tk y CD	Altamente susceptibles a los profármacos de 5-FC y ganciclovir	<i>(Rama et al., 2015)</i>
Cáncer de próstata	Gen suicida HSV1-TK junto con la administración de ganciclovir (GCV).	Aumenta la sensibilidad del tumor a la quimioterapia (GCV).	<i>(Azahara y Mesa, 2021).</i>
	Combinación de MPPa-PDT y HSV1-TK/GCV	La tasa de supervivencia celular del grupo de tratamiento combinado disminuyó en comparación con el grupo MPPa-PDT puro y el grupo HSV-1 TK/GCV puro.	<i>(Azahara y Mesa, 2021).</i>

5. CONCLUSIÓN

La terapia génica está dirigida a reforzar y favorecer la autodestrucción neoplásica por diferentes vías. Dentro de ella, las terapias de células CAR-T ya han conseguido excelentes resultados en los cánceres relacionados con la sangre, como el linfoma y la leucemia, al lograr una remisión duradera.

Por otro lado, la terapia oncolítica ha mostrado buenos resultados, al igual que la inactivación de genes dirigida (knockout) mediante CRISPR-Cas9, que ha mejorado la acción de las células T potenciando la aplicación de la terapia a más tipos de cáncer. El descubrimiento de las proteínas CRISPR ha contribuido en gran parte al gran salto de la terapia génica.

En cuanto a la LLA r/r, se debe optimizar la toxicidad y eficacia, para ello la dosificación fraccionada que utiliza CTL019 es la técnica más prometedora, optimizando la seguridad y conservando la eficacia.

A pesar de su inmunogenicidad, los vectores virales se utilizan más que los no virales, sobre todo en la terapia in vivo, como la terapia de células CAR-T, porque facilitan la llegada al lugar de acción. No obstante, los vectores no virales demuestran ser más seguros cuando se administra terapia in vivo, incluso siendo menos eficientes. Por lo tanto, la búsqueda de un vector específico, más eficiente y seguro aún está presente.

En base a lo que he leído, merece la pena seguir investigando, considero que la terapia génica, en general, es imprescindible para la supervivencia de aquellos pacientes con tumores intratables.

Por otra parte, el coste de la terapia hace que su uso se limite a aquellos casos donde sólo sea factible su aplicación. Por eso, consideraría de vital importancia una reestructuración de la producción, sobre todo, de terapias con células CAR-T y sistemas de entrega CRISPR-Cas9, que consigan reducir los costos y poder modular la dosis atendiendo a las características del individuo, y así poder aumentar la accesibilidad de estos tratamientos a la mayoría de los pacientes e instituciones.

Es evidente que los avances en los últimos años han mejorado la supervivencia de pacientes que, de otra manera, fallecerían muy temprano. No obstante, queda mucho por investigar para ofrecer esquemas de tratamiento que, no sólo mejoren la supervivencia, sino también la calidad de vida de estos pacientes.

Aún no es la cura para esta patología, pero cada vez son más los protocolos aprobados y resultados alentadores. Los expertos aseguran que, a día de hoy, la terapia génica resulta muy eficaz, segura y poco tóxica. Por eso, es muy importante, que no sólo se quede en los ensayos, sino que se perfeccionen las herramientas para poder convertirse en una realidad clínica, haciendo frente a muchos tipos de cáncer que hoy son incurables.

6. BIBLIOGRAFÍA

ACS. ¿Qué es el cáncer? [en línea]. [Consultado en feb. De 2021]. Disponible en: <https://www.cancer.org/es/cancer/aspectos-basicos-sobre-el-cancer/que-es-el-cancer.html>

Agarwal S, Weidner T, Thalheimer FB, Buchholz CJ. In vivo generated human CAR T cells eradicate tumor cells. *Oncoimmunology* 2019;8. <https://doi.org/10.1080/2162402X.2019.1671761>.

Altmann M. Virus Proteins Prevent Cell Suicide Long Enough to Establish Latent Infection. *PLoS Biol* 2005;3:e430. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.0030430>.

Azahara N, Mesa L. 5. Hipofraccionamiento extremo en cáncer de próstata 2021;IV:107–29.

Brundo J. Facts about chimeric antigen receptor (CAR) T-cell therapy. *Leuk Lymphoma Soc* 2018:1–10.

Cemazar M, Ambrozic Avgustin J, Pavlin D, Sersa G, Poli A, Krhac Levacic A, et al. Efficacy and safety of electrochemotherapy combined with peritumoral IL-12 gene electrotransfer of canine mast cell tumours. *Vet Comp Oncol* 2017;15:641–54. <https://doi.org/10.1111/vco.12208>.

Chen M, Mao A, Xu M, Weng Q, Mao J, Ji J. CRISPR-Cas9 for cancer therapy: Opportunities and challenges. *Cancer Lett* 2019;447:48–55. <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2019.01.017>.

China Rodríguez BE, Blanes ÓE. Terapia Génica: Vectores Virales y sus Aplicaciones Gene therapy: Viral vectors and applications. *Psychol Lat Copyr* 2018;Especial:67–9.

Clínic Barcelona. La AEMPS autoriza el CAR-T ARI-0001 del Hospital Clínic para pacientes con leucemia linfoblástica aguda [en línea]. [Consultado en feb. De 2021]. Disponible en: <https://www.clinicbarcelona.org/noticias/la-aemps-autoriza-el-car-t-ari-0001-del-hospital-clinic-para-pacientes-con-leucemia-linfoblastica-aguda>

Date V, Nair S. Emerging vistas in CAR T-cell therapy: challenges and opportunities in solid tumors. *Expert Opin Biol Ther* 2021;21:145–60. <https://doi.org/10.1080/14712598.2020.1819978>.

Forbes NS, Coffin RS, Deng L, Evgin L, Fiering S, Giacalone M, et al. White paper on microbial anti-cancer therapy and prevention. *J Immunother Cancer* 2018;6:1–24. <https://doi.org/10.1186/s40425-018-0381-3>.

Frey N. The what, when and how of CAR T cell therapy for ALL. *Best Pract Res Clin Haematol* 2017;30:275–81. <https://doi.org/10.1016/j.beha.2017.07.009>.

Frey N V., Shaw PA, Hexner EO, Pequignot E, Gill S, Luger SM, et al. Optimizing chimeric antigen receptor T-cell therapy for adults with acute lymphoblastic leukemia. *J Clin Oncol* 2020;38:415–22. <https://doi.org/10.1200/JCO.19.01892>.

Halfon-Domenech C. Leucemia linfoblástica aguda del ni no y el adolescente 2021;56:1–9. [https://doi.org/10.1016/S1245-1789\(21\)44720-7](https://doi.org/10.1016/S1245-1789(21)44720-7).

Gamberale R. CAR T cells: Fundamentos de esta prometedora terapia inmunológica. *Hematología* 2014;18:28–31.

Ginsburg O, Bray F, Coleman MP, Vanderpuye V, Eniu A, Kotha SR, et al. The global burden of women’s cancers: a grand challenge in global health. *Lancet* 2017;389:847–60. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(16\)31392-7](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(16)31392-7).

Gregg JR, Thompson TC. Considering the potential for gene-based therapy in prostate cancer. *Nat Rev Urol* 2021;18:170–84. <https://doi.org/10.1038/s41585-021-00431-x>.

Hamilton JR, Doudna JA. Knocking out barriers to engineered cell activity. *Science* (80-) 2020;367:976–7. <https://doi.org/10.1126/science.aba9844>.

Hao S, Du X, Song Y, Ren M, Yang Q, Wang A, et al. Targeted gene therapy of the HSV-TK/hIL-12 fusion gene controlled by the hSLPI gene promoter of human non-small cell lung cancer in vitro. *Oncol Lett* 2018;15:6503–12. <https://doi.org/10.3892/ol.2018.8148>.

Hazafa A, Mumtaz M, Farooq MF, Bilal S, Chaudhry SN, Firdous M, et al. CRISPR/Cas9: A powerful genome editing technique for the treatment of cancer cells with present challenges and future directions. *Life Sci* 2020;263:118525. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2020.118525>.

Higashi K, Hazama S, Araki A, Yoshimura K, Iizuka N, Yoshino S, et al. A novel cancer vaccine strategy with combined IL-18 and HSV-TK gene therapy driven by the hTERT promoter in a murine colorectal cancer model. *Int J Oncol* 2014;45:1412–20. <https://doi.org/10.3892/ijco.2014.2557>.

Lei L, Chen C, Zhao J, Wang HR, Guo M, Zhou Y, et al. Targeted Expression of miR-7 Operated by TTF-1 Promoter Inhibited the Growth of Human Lung Cancer through the NDUFA4 Pathway. *Mol Ther - Nucleic Acids* 2017;6:183–97. <https://doi.org/10.1016/j.omtn.2016.12.005>.

Liang L, Chen W, Tian Y. Combinación de terapia génica MPPa-PDT y HSV1-TK / GCV en el cáncer de próstata 2018.

Liu M, Rehman S, Tang X, Gu K, Fan Q, Chen D, et al. Methodologies for improving HDR efficiency. *Front Genet* 2019;10. <https://doi.org/10.3389/fgene.2018.00691>.

Lu Y, Xue J, Deng T, Zhou X, Yu K, Deng L, et al. Safety and feasibility of CRISPR-edited T cells in patients with refractory non-small-cell lung cancer. *Nat Med* 2020;26:732–40. <https://doi.org/10.1038/s41591-020-0840-5>.

Maeda T, O-Wang J, Matsubara H, Asano T, Ochiai T, Sakiyama S, et al. A minimum c-erbB-2 promoter-mediated expression of herpes simplex virus thymidine kinase gene confers selective cytotoxicity of human breast cancer cells to ganciclovir. *Cancer Gene Ther* 2001;8:890–6. <https://doi.org/10.1038/sj.cgt.7700389>.

Majem M, Manzano JL, Marquez-Rodas I, Mujika K, Muñoz-Couselo E, Pérez-Ruiz E, et al. SEOM clinical guideline for the management of cutaneous melanoma (2020). *Clin Transl Oncol* 2021;23:948–60. <https://doi.org/10.1007/s12094-020-02539-9>.

Marzal-alfaro B, Escudero-vilaplana V, Revuelta-herrero JL, Collado-borrell R, Herranz-alonso A, Sanjurjo-saez M. ChimericAntigen Receptor T Cell Therapy Management and Safety : A Practical Tool From a MultidisciplinaryTeamPerspective 2021;11:1–12. <https://doi.org/10.3389/fonc.2021.636068>.

Meng FD, Wang S, Jiang YH, Sui CG. Antitumor effect of dendritic cells transfected with prostate-specific membrane antigen recombinant adenovirus on prostate cancer: An in vitro study. *Mol Med Rep* 2016;13:2124–34. <https://doi.org/10.3892/mmr.2016.4754>.

Miguel C, Sánchez C, Adalys L, León G, Manuel P, Baeza L, et al. Terapia génica, una alternativa antineoplásica. *Scalpel* 2020;1:41–8.

Montaño-Samaniego M, Bravo-Estupiñan DM, Méndez-Guerrero O, Alarcón-Hernández E, Ibáñez-Hernández M. Strategies for Targeting Gene Therapy in Cancer Cells With Tumor-Specific Promoters. *Front Oncol* 2020;10:1–18. <https://doi.org/10.3389/fonc.2020.605380>.

NCI. ¿Qué es el cáncer? [en línea]. [Consultado en feb. De 2021]. Disponible en: <https://www.cancer.gov/espanol/cancer/naturaleza/que-es>

Pan J, Niu Q, Deng B, Liu Shuangyou, Wu T, Gao Z, et al. CD22 CAR T-cell therapy in refractory or relapsed B acute lymphoblastic leukemia. *Leukemia* 2019;33:2854–66. <https://doi.org/10.1038/s41375-019-0488-7>.

Park JH, Kim KI, Lee KC, Lee YJ, Lee TS, Chung WS, et al. Assessment of α -fetoprotein targeted HSV1-tk expression in hepatocellular carcinoma with in vivo imaging. *Cancer Biother*

Qiu Y, Peng G, Liu Q, Li F, Zou X, He J. Selective killing of lung cancer cells using carcinoembryonic antigen promoter and double suicide genes, thymidine kinase and cytosine deaminase (pCEA-TK / CD) 2012;316:31–8. <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2011.10.015>.

Rama AR, Aguilera A, Melguizo C, Caba O, Prados J. Tissue Specific Promoters in Colorectal Cancer. *Dis Markers* 2015;2015. <https://doi.org/10.1155/2015/390161>.

Rangel-Sosa MM, Aguilar-Córdova E, Rojas-Martínez A. Inmunoterapia y terapia génica como nuevos tratamientos contra el cáncer. *ColombMed* 2017;48:137–46.

Ressler JM, Karasek M, Koch L, Silmbrod R, Mangana J, Latifyan S, et al. Real-life use of talimogene laherparepvec (T-VEC) in melanoma patients in centers in Austria, Switzerland and Germany. *J Immunother Cancer* 2021;9:1–9. <https://doi.org/10.1136/jitc-2020-001701>.

Rodríguez JA, Martínez LM, Cruz N, Cómbita AL. Terapia génica para el tratamiento del cáncer. *Rev ColombCancerol* 2014;18:27–40. [https://doi.org/10.1016/s0123-9015\(14\)70222-7](https://doi.org/10.1016/s0123-9015(14)70222-7).

Sheridan C. First approval in sight for Novartis' CAR-T therapy after panel vote. *Nat Biotechnol* 2017;35:691–3. <https://doi.org/10.1038/nbt0817-691>.

Silbert S, Yanik GA, Shuman AG. *AMA Journal of Ethics* ® 2019;21:844–51.

Song X, Liu C, Wang N, Huang H, He S, Gong C, et al. Delivery of CRISPR/Cas systems for cancer gene therapy and immunotherapy. *Adv Drug Deliv Rev* 2021;168:158–80. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2020.04.010>.

Tevfik Dorak M, Karpuzoglu E. Gender differences in cancer susceptibility: An inadequately addressed issue. *Front Genet* 2012;3:1–11. <https://doi.org/10.3389/fgene.2012.00268>.

Titov A, Valiullina A, Zmievskaia E, Zaikova E, Petukhov A, Miftakhova R, et al. Advancing CAR T-cell therapy for solid tumors: Lessons learned from lymphoma treatment. *Cancers (Basel)* 2020;12:1–22. <https://doi.org/10.3390/cancers12010125>.

Wei J, Han X, Bo J, Han W. Target selection for CAR-T therapy. *J Hematol Oncol* 2019;12:1–9. <https://doi.org/10.1186/s13045-019-0758-x>.

Xu X, Huang S, Xiao X, Sun Q, Liang X, Chen S, et al. Challenges and Clinical Strategies of CAR T-Cell Therapy for Acute Lymphoblastic Leukemia: Overview and Developments. *Front Immunol* 2021;11:1–18. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.569117>.

Yang M, Zeng C, Li P, Qian L, Ding B, Huang L, et al. Impact of CXCR4 and CXCR7 knockout by CRISPR/Cas9 on the function of triple-negative breast cancer cells. *Onco Targets Ther* 2019;12:3849–58. <https://doi.org/10.2147/OTT.S195661>.

Yoon AR, Hong JW, Kim M, Yun CO. Hepatocellular carcinoma-targeting oncolytic adenovirus overcomes hypoxic tumor microenvironment and effectively disperses through both central and peripheral tumor regions. *Sci Rep* 2018;8:1–14. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-20268-6>.

Zhang B. CRISPR/Cas gene therapy. *J Cell Physiol* 2021;236:2459–81. <https://doi.org/10.1002/jcp.30064>.