



Revista Colombiana de Hematología y Oncología

Enero - Junio de 2025 • Volumen 12 - Número 1

REVISIÓN

In-House CAR-T: una revisión

In House CAR-T: a review

» Diego Fernando Martínez Moreno ¹



¹ Clínica IMAT AUNA, Montería, Colombia

Recibido el 13 de febrero de 2024; aceptado el 6 de diciembre de 2024

Doi: <https://doi.org/10.51643/22562915.733>

Resumen

Introducción: La terapia con CAR-T plantea múltiples barreras, como elevado costo y limitada disponibilidad de los productos comercialmente patentados. En diferentes centros hospitalarios y académicos, la producción de CAR-T in-house se ha venido desarrollando como alternativa para superar dichos obstáculos. El objetivo de esta revisión narrativa fue describir la información reportada en cuanto a fabricación, efectividad y seguridad de productos CAR-T in-house o “académicos”, mediante una búsqueda no sistemática de la literatura en bases de datos. **Métodos:** Se incluyeron series y reportes de casos, así como estudios fase I y II disponibles en inglés y español. **Resultados:** En esta revisión se identificaron reportes de España, India, Canadá, China, Israel y Brasil, mostrando la factibilidad de la producción de CAR-T en centros académicos con baja frecuencia de fallas en producción, con resultados clínicos favorables y perfil de toxicidad predecible, y potencial ahorro significativo de recursos. **Discusión:** En particular, el desarrollo de los CAR-T académicos como ARI-0001 y su aprobación para uso hospitalario en España, abre una gran oportunidad para mejorar el acceso de la terapia CAR-T en Europa, y potencialmente en países de menores recursos como los ubicados en Latinoamérica.

Palabras Clave: receptor de células T químérico; mieloma múltiple; leucemia linfoblástica aguda; inmunoterapia celular adoptiva; estudios de factibilidad; centros médicos universitarios.

* Autor para correspondencia: Diego Fernando Martínez. Clínica IMAT AUNA.

Correo electrónico: dfmartinezmunal@gmail.com

Doi: <https://doi.org/10.51643/22562915.688>

Asociación Colombiana de Hematología y Oncología. Este es un artículo Open Access bajo la licencia CC BY-NC-ND. <http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>

Abstract

Introduction: CAR-T therapy poses multiple barriers, such as high cost and limited availability of commercially patented products. In different hospital and academic centers, the production of CAR-T “in house” has been developed as an alternative to overcome these obstacles. The objective of this narrative review is to describe the information reported regarding the manufacturing, effectiveness and safety of “in house” or “academic” CAR-T products. **Methods:** Through a non-systematic search of the literature in the NCBI-PUBMED databases, series and case reports were included, as well as Phase I and II studies available in English and Spanish. **Results:** In this review, reports from Spain, India, Canada, China, Israel, and Brazil have been identified, showing the feasibility of CAR-T production in academic centers with a low frequency of production failures, with favorable clinical results, predictable toxicity profile, and potential significant resource savings. **Discussion:** In particular, the development of academic CAR-Ts such as ARI-0001 and its approval for hospital use in Spain opens a great opportunity to improve access to CAR-T therapy in Europe, and potentially in lower-resource countries such as Latin America.

Keywords: chimeric antigen receptors; multiple myeloma; acute lymphoblastic leukemia; immunotherapy adoptive; feasibility studies; academic medical centers.

Introducción

En el campo de la inmunoterapia en cáncer, el desarrollo de células T modificadas ha sido un tratamiento de vanguardia; en particular, las células T con receptor de antígeno químérico (CAR-T) han logrado aprobación en años recientes por las agencias reguladoras internacionales para el tratamiento de neoplasias hematológicas de tipo linfoide.¹ A pesar de ser una terapia altamente innovadora, las CAR-T plantean múltiples barreras y desafíos, como el elevado costo de los productos patentados por la industria farmacéutica y el limitado número de centros certificados para administrarla.² La fabricación es altamente dispendiosa y regulada y puede tardar varias semanas, con riesgo estimado en el 10 % de los casos de presentarse fallas en la producción. Como resultado, el tiempo “vena a vena” (entre la recolección de células T y la infusión de CAR-T) suele ser de tres a cinco semanas, llegando a ser muy prolongado para pacientes que necesiten tratamiento urgente.^{3,4} Una posible solución para estas barreras es la producción descentralizada

en sitios académicos/hospitalarios, con resultados favorables en el tiempo y costos reportados en varios países.⁵ Sigue existiendo así, la necesidad de fabricar células CAR-T “in-house”, con procesos más escalables, simplificados y rentables.⁶ En este trabajo se busca revisar el funcionamiento de las CAR-T, el proceso técnico de fabricación, la experiencia y resultados de producción local a nivel hospitalario-académico, para asegurar una terapia más accesible y potencialmente aplicable a países con menores recursos.

Materiales y métodos

Se trata de una revisión narrativa, que tiene como objetivo proporcionar una visión integral y actualizada sobre la terapia con células T con receptor de antígeno químérico (CAR-T). Muchos de los estudios sobre CAR-T *in-house/académicos* son muy heterogéneos en cuanto a diseño, tamaños de muestra, tipos de enfermedad y resultados. Por este motivo se realizó

una revisión narrativa, para tener un abordaje más amplio.

Búsqueda de la Literatura

Se realizó una búsqueda exhaustiva de artículos relevantes en diversas bases de datos científicas, tales como PubMed, Scopus y Google Scholar. Los términos de búsqueda utilizados incluyeron combinaciones de palabras clave como: “In-house CAR-T therapy”, “academic CAR-T therapy”, “toxicities”, “clinical outcomes”, “cost and logistic”, “manufacturing”. La búsqueda abarcó publicaciones desde el año 2010 hasta febrero de 2024. Se incluyeron estudios publicados solo en inglés, abarcando series de casos, ensayos clínicos, revisiones sistemáticas y narrativas. La selección de los artículos se realizó en dos etapas. En primer lugar, se revisaron los títulos y resúmenes de los estudios recuperados en la búsqueda ($n=222$). Posteriormente, se procedió a la lectura completa de aquellos artículos preseleccionados para evaluar su relevancia de acuerdo con los criterios establecidos ($n=53$).

Resultados

Aspectos generales: funcionamiento de la terapia CAR-T

Uno de los principales logros del desarrollo de las CAR-T es la capacidad de reconocer directamente al antígeno tumoral por medio de su receptor químérico, independiente de la presentación a través del complejo mayor de histocompatibilidad (HLA). Este receptor CAR se compone de un dominio extracelular, un dominio transmembrana y un dominio intracelular de señalización.¹ En el dominio extracelular se encuentra la zona de unión al antígeno, compuesta por un fragmento único de cadena variable (scFv), derivado de un anti-

cuerpo específico contra el antígeno diana. Luego se encuentra un dominio “bisagra”, que conecta el dominio de unión al antígeno con el dominio de anclaje transmembrana, derivados ambos de segmentos de las moléculas CD28 o CD8alfa.⁷ El dominio intracelular está conformado por la cadena Z de la molécula CD3. Los receptores de primera generación contienen solo CD3Z, pero los de segunda generación en uso clínico actual incluyen un dominio coestimulador (4-1BB o CD28).⁸

Cuando la región de unión al antígeno reconoce su epítope, se forma una sinapsis inmunológica entre la célula CAR-T y la célula diana, generando una cascada de fosforilación de moléculas que conlleva a la activación y expansión clonal de la célula CAR-T. Este proceso se lleva a cabo a través de dos principales señales; la primera señal depende del dominio CD3Z, el cual contiene tres motivos ITAMS (motivos de activación de inmunorreceptores de tirosina), que son fosforilados por quinasas como Lyn, Fyn, Lck, activando vías de señalización cuesta abajo NFAT, NF-KB y mTOR. El mantenimiento y persistencia de la activación de la célula CAR-T depende también de una segunda señal, dada por la activación de dominios coestimuladores como CD28 o 4-1BB.^{7,9} Existen diferencias en sus características; CD28 se asocia a una activación más rápida y “explosiva” y a un fenotipo de memoria efector, mientras que 4-1BB tiene una activación menos intensa, pero se asocia a un fenotipo de célula T de memoria central y a una mayor persistencia.^{9,10,11} Finalmente, la destrucción de la célula diana se orquesta a través de dos grandes vías: la expresión de ligandos de la familia del factor de necrosis tumoral (TNF) y la exocitosis de perforina y granzima en las células CAR-T.^{12,13}

Para que las células CAR-T logren su objetivo terapéutico, deben ser infundidas en el paciente, previa administración de un régimen de quimioterapia de acondicionamiento. Para certificarse como centro de administración de

terapia CAR-T se debe cumplir con una normatividad estricta, siguiendo la aprobación y acreditación de la Fundación para la Acreditación de Terapia Celular (FACT)-JACIE.^{14,15}

Producción de CAR-T

La producción de los CAR-T incluye un número de pasos consecutivos, que inician cuando el paciente es identificado y autoriza su participación, y termina en la infusión.^{16,17}

Recolección de los linfocitos autólogos vía aféresis: los equipos homologados incluyen el COBE Spectra, el Spectra Optia (TerumoBCT Inc.) y el separador de células Amicus (Fenwal Inc./Fresenius Kabi AG).¹⁸ Se utiliza también el enriquecimiento de subconjuntos de células usando el sistema CliniMACS, a través de anticuerpos conjugados a esferas paramagnéticas, con el fin de obtener poblaciones específicas CD4/CD8 o CD62L memoria central.¹⁹

Producción celular, es núcleo central del proceso y se profundizará más adelante.¹⁷

Control de calidad del producto final: medición de la viabilidad celular, pureza, eficiencia de la transducción, potencia y esterilidad.¹⁷

Monitoría inmunológica del paciente: (i) citometría de flujo para poblaciones T-B-NK, (ii) cuantificación de células CAR-T+ por citometría de flujo y PCR cuantitativa, y (iii) determinación de anticuerpos anti-murino humano, también por citometría de flujo.¹⁷

En el tema de producción celular, el objetivo final es integrar en el genoma de la célula T el constructo o secuencia sintética de DNA que codifica para la molécula CAR. Se inicia con la activación de los linfocitos, siendo un paso requerido para la transducción lentiviral efectiva. In vitro se lleva a cabo por métodos como Dynabeads, compuesto por esferas superpara-

magnéticas unidas a anticuerpos CD3/CD28.²⁰

Para la modificación genética, los lentivirus son los vectores más usados por su capacidad de introducir e integrar material genético exógeno en células humanas que no estén en fase de división, con bajo riesgo de mutagénesis y alta estabilidad a largo plazo.²⁰ La fabricación del vector viral requiere de la línea celular HEK293T; dichas células son transfectadas con plásmidos que codifican la información genética necesaria para producir los componentes estructurales de la partícula lentiviral.²¹ Estos plásmidos se componen de: 1) secuencia empaquetamiento Gag/Pol; 2) secuencia que codifica glicoproteína de envoltura (VSV-G); 3) secuencia para la expresión de la proteína accesoria viral Rev y, 4) el plásmido vectorial que codifica el constructo CAR.²¹ Dentro de las 48 horas de la transfección, las células HEK293T comienzan a liberar el vector lentiviral, el cual es recolectado del medio de cultivo, de acuerdo a las normas GMP (Buenas Prácticas de Manufactura)²¹. Para transducir las células T autólogas, el vector viral se mezcla en cultivo con las células T, se adhiere a la membrana celular e introduce el material genético en forma de ARN que codifica el constructo CAR. El ARN se transcribe de forma inversa en ADN y se integra permanentemente en el genoma de las células T del paciente; finalmente las células T transcriben y traducen el CAR, generando la proteína funcional localizada en la superficie de la membrana lista para unirse a su antígeno diana.²¹

Para la expansión de las CAR-T existen varias plataformas con el fin de generar la cantidad terapéutica suficiente, siendo la tecnología de bioreactores ampliamente usada, con rápida expansión de más de 10^7 células soportando hasta volúmenes de 25 L de cultivo.²⁰ Entre las tecnologías más utilizadas se encuentra el biorreactor oscilante GE WAVE, el cual es un sistema de cultivo cerrado que comprende una bolsa de cultivo permeable a gases (Cellbag; GE Healthcare Life Sciences) colocada sobre una plata-

forma oscilante.²² En una revisión sistemática con 295 de 679 productos CART evaluables, la combinación de activación con esferas, transducción viral y expansión en el bioreactor fue el método de producción más común en un 43%.¹⁹ Teniendo en cuenta el panorama anterior donde gran parte de los estudios reportados de producción de CAR-T dependen de sistemas de múltiples pasos, se ha buscado que la fabricación de las células CAR-T se vuelva decididamente más automatizada con el desarrollo y despliegue de nuevos equipos que encapsulan una gama cada vez más diversa de funciones, como el sistema CliniMACS Prodigy de Miltenyi Biotec.^{23,24} Consiste en un sistema de 24 válvulas conectado a un sistema de tubos estériles, que contiene a su vez la cámara de cultivo y la unidad de centrifugación CentriCult. El proceso inicia con la transferencia al sistema de las células mononucleares suspendidas en Buffer PBS/EDTA; en el primer paso se adiciona el reactivo de separación CD4/CD8. Las células separadas se cultivan en un medio con IL-7 e IL-15 y se adiciona el reactivo de activación TransAct T. En las siguientes 24 horas se adicionan las partículas lentivirales las cuales se lavan luego de dos días. Las células finales se suspenden en medio TexMACS y se congelan con 5 % de albúmina y 10 % de DMSO.²⁵ Con este método se permite la consolidación de procesos clave más automatizados, reportando valores para la producción de dosis de CAR-T en iniciativas académicas con precios tan bajos como \$ 6.000 a \$ 20.000 dólares.²³

CAR-T in-house: experiencia y resultados

Los primeros estudios que se describen a continuación evaluaron la viabilidad técnica de fabricación de CAR-T funcionales en centros académicos; Mock *et al.* demostraron la factibilidad del sistema CliniMACS con el constructo CD19/4-1BB/CD3z, con una eficiencia de transducción media del 51.8 % y pureza media del 92.3 % de células T CD3. La cantidad total en promedio de células generadas fue óptima,

alrededor de $7.9 \times 10^8 \pm 4.0$ CAR-T. En cuanto al fenotipo, un 82.4 % se componía de T memoria central + T stem de memoria. Su función efectora fue verificada en cocultivo con la línea celular SupT1 CD19+, ante el estímulo antígeno se evidenció producción de TNFa e IFNy. Los autores concluyen que el estudio demostró la eficacia de fabricación de células CAR-T por la metodología automatizada CliniMACS.²⁶ En el estudio de Loock *et al.*, también se utilizó el sistema CliniMACS para la producción de CAR-T anti CD20, logrando una expansión a escala terapéutica apropiada, con células fenotípica y funcionalmente activas en cuanto a actividad antitumoral.²⁷ La factibilidad técnica también se demostró con la misma plataforma en un estudio reportado de la Universidad de Colorado, con 65 % de efectividad en transducción y expansión de 16 veces la cantidad inicial. El costo reportado fue de 25.000 dólares y el tiempo de producción fue de ocho días.²⁸

Se publicaron los resultados de un estudio fase I en India con 17 pacientes con neoplasias B recaídas/refractarias (R/R). Las células CD3 fueron enriquecidas y activadas usando el sistema Dynabeads y transducidas con vector Lentiviral con CAR-T CD19. Todos los pasos se realizaron en bolsas cerradas permeables a los gases y en todos los pacientes elegidos para aféresis el producto fue fabricado exitosamente, en promedio en ocho días; aunque no se reportan datos clínicos, el estudio tiene como primer objetivo modelar los costos, con un estimado de 30.000 dólares por dosis incluyendo logística, costos del vector lentiviral y control de calidad.²⁹ En otro estudio de la India con datos del mundo real en un enfoque descentralizado para la fabricación de células CAR-T, se evaluó el costo del proceso de producción usando el sistema CliniMACS®. Partiendo de aféresis de linfocitos de dos pacientes y un voluntario sano, se generaron tres productos celulares CAR-T finales; se reportó una expansión final de 25-47 veces la cantidad inicial de células T y una eficiencia de transducción del 48.8 %. La suma del gasto final fue de 35.107 dólares EE.

UU. por producto.³⁰ Investigadores de España reportaron resultados con un constructo académico dual 4-1BB/CD22/CD19, combinando el reconocimiento de los dos antígenos en células de leucemia linfoblástica aguda, con el fin de evitar falla en la terapia. En este trabajo preclínico se demostró la factibilidad de producción académica de este tipo de CAR-T dual, su capacidad de expansión y actividad antitumoral en modelos murinos, lo cual demuestra potencial en el desarrollo clínico a futuro de este tipo de CAR-T duales.³¹

Entrando ya en el ámbito de aplicación y resultados clínicos, se describen estudios de series de casos y ensayos fase I/II; en el reporte del Medical Center en Israel de un estudio fase 1b/2, se evaluó en niños y adultos jóvenes con leucemia linfoblástica recaída/refractaria (R/R) un producto CAR-T fabricado localmente, iniciando por aféresis en sangre periférica, activación y transducción de células T con vector Gama-retroviral, generando CAR-T anti CD19/CD28/CD3z. De 21 pacientes seleccionados, 20 fueron infundidos; solo se reportó una falla de producción, eficiencia de transducción del 77 %, expansión media de 28.7 veces la cantidad de las células T iniciales, y el tiempo de producción fue de nueve a diez días, con la ventaja de infusión del producto en fresco. Clínicamente, el 80 % experimentó síndrome de liberación de citoquinas (CRS), 60 % grado 1, 30 % de neurotoxicidad (ICANS) grado 2-4. En 18/20 pacientes se logró remisión completa, 78 % estatus de enfermedad mínima residual no detectable por PCR. Luego de nueve meses de seguimiento, cuatro pacientes recayeron, con 73 % de sobrevida libre de evento y un 90 % tuvo sobrevida global a un año.^{32,33}

En un estudio conjunto de investigadores de la Universidad de Washington y el centro pediátrico Dmitriy Rogachev, se reportaron 27 pacientes con uso compasivo de un CAR-T anti CD19 en leucemia linfoblástica aguda. La plataforma utilizada para la manufactura fue

CliniMACS con constructo CD19/4-1BB/CD3Z. La eficiencia de transducción reportada fue del 60 % y expansión celular de hasta 51 veces. El tiempo medio de producción fue de diez días y el producto fue infundido en fresco. Un 87 % logró respuesta con enfermedad mínima residual negativa, pero con recaída alrededor del 33 %.³⁴ Resultados similares se dieron a conocer en un reporte posterior en otros tres pacientes.³⁵

Buscando reducir los tiempos críticos de manufactura, un grupo de investigadores reporta los resultados del protocolo FasT CAR-T³⁶; inicia con leucoaféresis, aislamiento de CD3 con el sistema Dynabeads CD3/CD28 y transducción al siguiente día con el constructo CAR CD19 lenti-viral. Las células CAR-T son recolectadas sin ser sometidas a cultivos de expansión, luego son lavadas y puestas a prueba de calidad. El proceso total es de un día de producción más siete días de control de calidad. Los pacientes seleccionados fueron 25 niños y adultos jóvenes con leucemia linfoblástica R/R. Como control, en paralelo de procesaron células CAR-T con el protocolo de producción convencional; comparativamente *in vitro*, las células Fast CAR-T demostraron mayor expansión al contacto antigenico, con un fenotipo menos diferenciado y menos exhausto. La cantidad de células infundidas fue menor que CAR-T convencionales en el orden de $10^4\text{-}10^5$ células/kg, con un tiempo medio vena a vena (tiempo desde la linfoaféresis hasta la infusión del producto CAR-T) de 14 días. Luego de siete a diez días de la infusión, la monitoría por citometría de flujo y PCR demuestran alta expansión *in vivo* de las Fast-CAR-T. El síndrome de liberación de citoquinas fue observado en 96 %, siendo en 72 % grado 1-2, ICANS 28 % y 8 % grado 3. El 100 % de los pacientes logró remisión morfológica y 92 % con enfermedad mínima residual negativa y 20 pacientes procedieron a alotransplante. Este estudio clínico reportado en China demostró que CD19 F-CAR-T mostró eficacia prometedora con un perfil de seguridad manejable en pacientes pediátricos y adultos con B-ALL. La plataforma de fabricación Fast

CAR-T podría representar una solución más rentable al reducir significativamente el tiempo de fabricación, costo y estancia hospitalaria de los pacientes.³⁶

El grupo del Hospital Clinic Barcelona decidió iniciar el desarrollo de un constructo CAR CD19 denominado ARI-0001, compuesto por un scFv anti CD19 propio (A3B1), unido a 4-1BB y CD3z, basando la producción en la plataforma Clin-MACS. Inicia con la aféresis y selección de células CD4 y CD8, 100×10^6 células son cultivadas y activadas con anticuerpos anti CD3 y anti CD28 por 24 horas. Luego son transducidas con el vector lentiviral, seguido de cultivo con IL7 + IL15 por ocho a nueve días. El objetivo fue lograr 35×10^6 células con al menos 20 % de eficiencia de transducción. En los estudios preclínicos, se comprobó la citotoxicidad de las células CAR-T ARI-0001 en ensayo *in vitro* de erradicación de la línea celular NALM6 CD19+, al igual que su potencial de proliferación y producción de IL-2. Ensayos murinos demostraron la capacidad del CART de unión a células CD19+ y erradicación tumoral. Se reportó también la plataforma para producción a mayor escala del vector lentiviral y el desarrollo de la infraestructura necesaria para poner a la cabecera del paciente el producto final ARI-0001.^{37,38}

Con la aprobación de ARI-0001 por la agencia reguladora, se inició un ensayo clínico con 58 pacientes, 54 seleccionados finalmente con leucemia linfoblástica y neoplasias B maduras R/R. Se utilizó un régimen de acondicionamiento con fludarabina y ciclofosfamida, y tiempo de vena a vena hasta la infusión promedio de 42 días. EL CRS reportado en el 55.3 % de los pacientes y hasta 20 % grado al menos 3. En los pacientes con LLA, el 84.2 % tuvo enfermedad mínima residual negativa al día +100, sobrevida libre de progresión del 47 % y sobrevida global a un año de 47 y 68 %, respectivamente. En el caso de linfoma no Hodgkin la respuesta global fue del 75 % y respuesta completa del 50 %. Se completó así unos de los primeros ensayos

europeos de origen académico con CAR-T usando el constructo A3B1:CD8:4-1BB:CD3z, demostrando un perfil de seguridad similar al reportado en otros estudios y productos, al igual que en términos de efectividad.^{37,39} En un reporte más reciente del mismo grupo, se actualizan los desenlaces de todos los pacientes con LNH R/R tratados con ARI-0001 en el ensayo clínico CART19-BE-019 (10 pacientes) y posteriormente en uso comparativo (41 pacientes). Se trató de una población altamente pretratada, con una mediana de 4 líneas de terapia previas y trasplante autólogo y alogénico previo en el 35 % y el 16 %, respectivamente.

En cuanto a los resultados, la incidencia acumulada de mortalidad no relacionada a la enfermedad fue del 0 % en el día +100 y 7 % a los tres años. El CRS (cualquier grado) se produjo en 38/45 pacientes infundidos (84 %, IC 95 %: 71-94). Se reportaron dos casos de grado ≥ 3 de CRS (4 %) y tres casos de ICANS (7 %). La tasa de respuesta global evaluada en el día +100 fue del 73 % (IC del 95 %: 58-85), con una tasa de respuesta completa del 64 % (IC del 95 %: 49-78) para toda la población. A los tres años, la sobrevida libre de progresión y la sobrevida global se estimaron en 40 % (IC 95 %: 26-61) y 52 % (IC 95 %: 36-76) respectivamente. El tiempo vena a vena es de 29 días en promedio, que muestra una mejora en comparación a los pacientes tratados originalmente en el estudio CART19-BE-01. En el ámbito económico, el precio del producto se acordó con el Ministerio de Sanidad español en 89.270 €, evidentemente menor a los productos comerciales.⁴⁰

En China, Relma-cel (JWCAR029) es un CAR-T de segunda generación dirigido a CD19 con un dominio coestimulador 4-1BB; se evaluó en un ensayo clínico multicéntrico en linfoma B difuso de célula grande R/R. Cincuenta y ocho pacientes fueron evaluables para resultados de eficacia, con el objetivo principal de valoración de tres meses con tasa de respuesta global del 60.3 %. Con una mediana de seguimiento de 8.9

meses, la mediana de sobrevida global no fue alcanzada (IC del 95 %, 10.3 a NA). Las medianas de sobrevida libre de progresión y duración de la respuesta fueron 7.0 y 8.0 meses. Las toxicidades comúnmente asociadas con anti-CD19 CAR-T fueron relativamente bajas con cualquier grado y CRS grave en 47.5 % y 5.1 %, respectivamente, y cualquier grado y neurotoxicidad severa en 20.3 % y 5.1 %, respectivamente.⁴¹

En un estudio fase 1 reportado en Canadá, se desarrolló el producto académico CD19/4-1BB CLIC-01, en pacientes adultos con leucemia linfoblástica, leucemia linfocítica o linfoma B no Hodgkin R/R. En cuanto a la producción del constructo, el dominio de unión al antígeno fue derivado del anticuerpo murino FMC63, y el sistema de fabricación utilizado fue Miltenyi CliniMACS. La infusión fue con un mínimo de 1×10^6 CAR-T/Kg en fresco. Fueron seleccionados 35 pacientes y 30 infundidos. Un 23.3 % tuvo CRS grado 3 o 4, con tasas de respuesta global del 76.6 %, sobrevida global de 11 meses y mediana de sobrevida libre de progresión de 6 meses. El tiempo vena a vena informado fue en promedio doce días.⁴²

Fueron reportados resultados alentadores para pacientes en recaída luego de una terapia con CAR-T o con baja persistencia del producto celular, desde el Hospital Infantil de Filadelfia en Estados Unidos. Se desarrolló un CAR-T CD19/4-1BB creado con dominio de unión al antígeno completamente de origen humano producido localmente y denominado huCART19, en 79 pacientes niños y adultos jóvenes (33 ya tratados con CAR-T), con tasas de respuesta del 100 % a un mes en pacientes naïve y de 64 % en pretratados. A los seis meses se demostró persistencia del CAR-T en 73 % y 52 % en cada grupo. Se demuestra así la factibilidad de producción de un huCART a nivel académico, con menor riesgo de inmunogenicidad del producto CAR-T y potencial efectividad en pacientes pretratados.⁴³

La Universidad de Manchester reporta la actividad de un CAR-T de primera generación aCD19z T. El estudio incluyó pacientes con linfoma no Hodgkin CD19 positivo con evidencia de persistencia o recurrencia de la enfermedad después de un tratamiento previo. Los ocho pacientes recibieron quimioterapia de acondicionamiento seguida de las células T aCD19z y luego infusión de L2 intravenosa. Seis de ocho pacientes (75 %) lograron respuestas objetivas (todos fueron respuestas parciales), con una duración de la respuesta que oscila entre 3 y 28 meses. Las medianas de sobrevida libre de progresión y global fueron 5.3 y 16.25 meses, respectivamente. El tratamiento fue bien tolerado; dos pacientes desarrollaron CRS grado 2 y uno desarrolló ICANS grado 1 que se resolvió en menos de 48 h con medidas de soporte. En este reporte con CAR-T de primera generación, su actividad clínica y tasa de efectos adversos hacen interesante a este tipo de constructos como alternativa a evaluar a más a fondo en futuros estudios.⁴⁴

En el campo de las neoplasias de células plasmáticas también se han hecho propuestas de CAR-T académicos, como en el caso del ensayo fase I con el CAR-T HBl0101. En cuatro pacientes con amiloidosis primaria R/R, se mostraron respuestas completas, sostenidas por alrededor de 5.2 meses de seguimiento. La toxicidad por liberación de citoquinas fue similar a lo reportado en otros estudios, pero se debe usar con precaución por el riesgo de descompensación cardiaca.⁴⁵

La Universidad Hebreo de Jerusalén reporta los resultados de un estudio fase I, con un CAR-T académico anti BCMA designado como HBl0101; se incluyeron 20 pacientes con mieloma múltiple R/R al menos 3 líneas de tratamiento. Las células HBl0101 fueron infundidas en dosis escalonadas en tres cohortes, 150- (cohorte 1), 450- (cohorte 2) y 800×10^6 (cohorte 3). Se evidenció CRS grado 2 en 3/7, 4/7, 1/6 en los pacientes de cada cohorte. Se utilizó tocilizumab en el 40 % de los pacientes con una mediana de una

dosis administrada (rango 1-4). No se observó ningún evento ICANS y ninguno de los pacientes requirió glucocorticoides. La tasa de respuesta global fue del 75 %; las mejores respuestas de todos los pacientes se lograron un mes después de la infusión. Cabe resaltar que en este estudio una vez más se demostró la capacidad de un centro académico local en Israel de llevar a cabo todo el desarrollo del producto CAR-T, desde la prueba de concepto *in vitro* e *in vivo*, la gestión de aprobación por parte de las autoridades reguladoras, la producción local en una instalación GMP, hasta la entrega a los pacientes en la clínica.⁴⁶

CARTBCMA-HCB-01 es un estudio abierto de un solo brazo realizado en cinco centros académicos de España, en pacientes con mieloma múltiple recaído/refractario a al menos 2 líneas de terapia. A diferencia de estudios previos, los investigadores adoptaron tres estrategias para mejorar los resultados; en primer lugar, se humanizó el fragmento variable monocatenario murino (scFv) obtenido del anticuerpo J22.9, para reducir la inmunogenicidad. En segundo lugar, la primera dosis se dividió en tres alícuotas para reducir la toxicidad. Finalmente, se planificó una segunda infusión (dosis de refuerzo) de AR10002h al menos tres meses después de la primera infusión. Se incluyeron 30 pacientes que recibieron AR10002h, seis presentaban compromiso extramedular y cinco pacientes no recibieron la tercera fracción de la primera dosis de AR10002h debido al síndrome de liberación de citocinas. En los pacientes evaluados no se observaron casos de ICANS o eventos neurológicos tardíos, con síndrome de liberación de citoquinas en 24 (80 %) de 30 pacientes. La tasa de respuesta general durante los primeros 100 días desde la infusión fue del 100 %, incluidos 24 (80 %) de 30 pacientes con una respuesta parcial muy buena o mejor (15 [50 %] con respuesta completa, nueve [30 %] con respuesta parcial muy buena respuesta, y seis [20 %] con respuesta parcial).

A mayo del 2022,

la duración de la respuesta y la sobrevida global no tenían aún mediana alcanzada. En un análisis *post hoc*, el tiempo medio de vena a vena fue de 43 días. Se demostró así que AR10002h, una terapia de células T con CAR desarrollada en el mundo académico y administrada de manera fraccionada con la opción de agregar una dosis de refuerzo después del día 100, puede proporcionar respuestas profundas y sostenidas con toxicidad de bajo grado en pacientes con una enfermedad de alto riesgo.⁴⁷

Para finalizar, y de forma muy importante en el contexto latinoamericano, en 2021 se reportaron los resultados del grupo del Dr. Renato Guerino-Cunha de la Universidad de São Paulo, desarrollando una plataforma de producción de CAR-T basada en su experiencia previa en terapia celular con células stem mesenquimales. Primero, se llevó a cabo el desarrollo y validación *in vitro* e *in vivo* del constructo anti CD19, verificando su expresión, expansión y citotoxicidad. Luego se estandarizaron los protocolos de producción local lentiviral, para generar un producto CAR-T anti CD19 bajo las normas de regulación nacional de Brasil (ANVISA). Los dos pacientes mencionados en el reporte clínico del CAR-T fueron enviados al centro de referencia para considerar el uso compasivo del tratamiento en el contexto de linfoma B difuso refractario; se llevó a cabo la aféresis y criopreservación, luego de la terapia puente se administró acondicionamiento con ciclofosfamida y fludarabina. Al día 30, se registró una respuesta completa y una respuesta parcial, con CRS grado 3 y 4 respectivamente, y solo uno presentó ICANS. Los dos pacientes fallecieron, uno por infección y el otro luego de sangrado intracerebral por un accidente doméstico.⁴⁸ Más allá de los resultados, se demostró la factibilidad de desarrollar una plataforma CAR-T en países de medianos ingresos y el futuro potencial en Latinoamérica. A modo de resumen, se presentan los principales resultados en la Tabla 1.

Tabla 1.

Síntesis de resultados

Referencia	Pacientes/enfermedad	Sistema de producción	Toxicidad	Desenlaces	País
Molostova, et al., 2019 ^{34,35}	37, LLA-B R/R	CliniMACS Prodigy T cell transduction (TCT) process	CRS 59 %, ICANS 40 %	87 % RC & EMR Neg	Rusia
Jacoby et al., 2018 ³²	21, LLA-B R/R	CD19 CAR T de producción local, transducción y expansión retroviral en botellas de cultivo T175	CRS 80 %, ICANS 55 %	90 % CR, 78 % EMR Neg	Israel
Itzhaki et al., 2020 ³³	37 LL-B R/R; 53 LNH R/R	CD19 CAR T de producción local, transducción y expansión retroviral en botellas de cultivo T175	NR	67 % RC & EMR Neg LLA-B; 62 % CR LNH	Israel
Yang et al., 2022 ³⁶	25, LLA-B RR	(Fast-CAR-T) plataforma de fabricación al día siguiente	CRS 96 %, ICANS 28 %	87 % RC & EMR Neg	China
Ortiz-Maldonado et al., 2021 ³⁹	38 LLA-B R/R, 8 LNH R/R	CliniMACS Prodigy T cell transduction (TCT) process	CRS 55.3 % LLA-B, CRS 87.5 % LNH. ICANS (grado 3) 2.6 %	84.2 % RC & EMR Neg LLA-B; 50 % CR LNH	España
Martínez-Cibrián et al., 2021 ³⁹	51 LNH R/R	CliniMACS Prodigy T cell transduction (TCT) process	CRS 84 %, ICANS (grado 3) 7 %	64 % RC LNH. DOR 65 % tres años	España
Ying et al., 2021 ⁴¹	68 LNH R/R	vector lentiviral no replicativo autoactivante (SIN) expandido en cultivo celular localmente	CRS 47.5 %, ICANS 20.3 %	51.7 % RC	China
Ketre et al., 2022 ⁴²	5 LL-B R/R; 25 LNH R/R	CD19 CAR T de producción local, transducción y expansión retroviral en botellas de cultivo	CRS 60 %, ICANS 6.7 %	76.7 % ORR	Canadá
Meyers et al., 2021 ⁴³	74 LLA-B RR	CD19 CAR T de producción local, transducción y expansión retroviral en botellas de cultivo	CRS 90 %, ICANS 41 %	98 % CR naive, 78 % CAR-T retratados	Estados Unidos
Shohdy et al., 2023 ⁴⁴	17 LNH R/R	CD19 CAR T 1. ^a generación, de producción local, transducción y expansión retroviral en botellas de cultivo	CRS 2/17, ICANS 1/17	75 % ORR	Reino Unido
Kfir-Erenfeld et al., 2022 ⁴⁵	4 amiloidosis AL R/R	BCMA CAR T de producción local, transducción y expansión retroviral en botellas de cultivo	CRS 3/4, ICANS 0/4	4/4 CR	Israel
Asherie et al., 2023 ⁴⁶	20 mieloma múltiple R/R	BCMA CAR T de producción local, transducción y expansión retroviral en botellas de cultivo	CRS 90 % (grado 1-2)	75 % ORR	Israel
Oliver-Caldés et al., 2023 ⁴⁷	35 mieloma múltiple R/R	CliniMACS Prodigy T cell transduction (TCT) process	CRS 90 % (grado 1-2), ICANS 0 %	100 % ORR	España
Guerino-Cunha et al., 2021 ⁴⁸	2 LNH R/R	CD19 CAR T de producción local, transducción y expansión retroviral en botellas de cultivo	CRS 2/2, ICANS 1/1	1 RC; 1 RP	Brasil

Nota: LLA-B= leucemia linfoblástica aguda B; LNH= linfoma no Hodgkin. R/R, recaído/refractario; CRS= síndrome de liberación de citoquinas; ICANS= síndrome de neurotoxicidad asociada a células inmunoefectoras; RC= respuesta completa; PR= respuesta parcial; DOR= duración de la respuesta; ORR= tasa de respuesta global.

Discusión

De acuerdo a la reflexión compartida por varios autores, hay una forma de disminuir los costos y tiempos inmersos en la logística de la terapia con CAR-T, que consiste en permitir que los hospitales realicen todo el proceso. Inicialmente, los centros hospitalarios y académicos fabricaban las células CAR-T, como la Universidad de Pensilvania, el Instituto Nacional del Cáncer, el Centro de Cáncer Memorial Sloan Kettering, el Centro de Cáncer Fred Hutchinson, la Universidad de Baylor y otros, los cuales descubrieron cómo diseñar células CAR-T y realizaron los ensayos iniciales para probarlas. Posteriormente, las compañías farmacéuticas se involucraron como un medio para aumentar la producción, pero esto disparó los costos. Reportes de varios países como Suiza, en donde ya se está implementada la producción hospitalaria de CAR-T, afirman que se podría llegar a un ahorro millonario con las CAR-T académicos, con otras ventajas logísticas por el hecho de contar con los sitios de fabricación lo más cerca posible de los pacientes, facilitando la administración, la disponibilidad de células “frescas”, sin tener que criogenizar, y así reducir drásticamente el tiempo vena a vena.^{49,50}

En el ámbito legal, en los Estados Unidos la regulación de la terapia CAR-T se rige por la Administración de Alimentos y Medicamentos (FDA). En la Unión Europea las células CAR T se clasifican como medicamento de terapia avanzada (ATMP) y la responsabilidad regulatoria recae en el Agencia Europea de Medicamentos (EMA). En 2021 el producto medicina avanzado ARI-0001 fue aprobado bajo exención hospitalaria por la Agencia Española de Medicinas y dispositivos médicos, quedando el uso del producto determinado por las siguientes condiciones: 1) se limita a cada estado miembro de la Unión Europea bajo normativa específica; 2) es limitada al hospital autorizado y, 3) se utiliza bajo la responsabilidad de miembros del personal del hospital. De esta manera, el formato de exención hospitalaria es una oportunidad muy importante para la apro-

bación nuevos productos CAR-T académicos, expandiendo la terapia a otras indicaciones clínicas y a un número mayor de pacientes, que además conllevaría a un ahorro significativo de recursos.⁵¹

En esta revisión se han identificado reportes de España, India, Canadá, China, Israel y Brasil, mostrando la factibilidad de la producción de CAR-T en centros académicos con baja frecuencia de fallas en producción, cumpliendo con las normas técnicas de GMP. En la mayoría de pacientes incluidos de neoplasias B R/R, se registraron resultados clínicos muy prometedores como tasas de respuesta en linfomas mayores al 50 %, y en leucemia linfoblástica remisión completa con enfermedad mínima residual alrededor del 80 %. En los principales estudios reportados se concluye también perfil de toxicidad inmune como síndrome de liberación de citoquinas y neurotoxicidad en el rango de frecuencia reportado en los grandes ensayos de la industria. Sin embargo, aún hacen falta datos más claros sobre los costos reales que pueden tener las CAR-T a escala académica y hospitalaria, el seguimiento a largo plazo y una necesidad de poner en marcha estudios fase 3 internacionales para globalizar el acceso a la terapia especialmente en Latinoamérica.^{52,53}

Conclusión

Gracias a la creciente disponibilidad de sistemas de fabricación cerrados capaces de procesar el ciclo de producción de CAR-T en condiciones controladas, se logra que muchas instituciones académicas y hospitalarias puedan cumplir con los altos estándares de las Good Manufacturing Practices (GMP) para generar CAR-T descentralizados, que potencialmente puedan garantizar un acceso sostenible y equitativo a los tratamientos, especialmente en países en desarrollo con menor disponibilidad de recursos. Adicionalmente, es evidente la reducción en tiempos de fabricación, lo cual es altamente crítico en la evolución de la enfermedad de los pacientes

con neoplasias B recaídos/refractarios que requieren de tratamientos con rápida disponibilidad.

Agradecimientos

Al Dr. Carlos Solano, jefe del Servicio de Hematología, Hospital Clínico Universitario de Valencia, España, por su revisión y comentarios a este manuscrito, el cual fue presentado como trabajo de final del Máster Propio en Trasplante de Progenitores Hematopoyéticos-Inmunoterapia y Terapia Celular (2.^a Edición).

Conflictos de Interés

El autor declara que no presenta conflictos de interés en la redacción de este manuscrito.

Biografía del autor

Diego Fernando Martínez Moreno, Clínica IMAT AUNA, Montería Especialista en Hematología y Oncología Clínica, Universidad Militar Nueva Granada Máster en Trasplante de Progenitores Hematopoyéticos-Inmunoterapia y Terapia Celular, Universidad de Valencia Fellowship Trasplante de Células Hematopoyéticas/Terapia Celular, Instituto Catalán de Oncología

Referencias

- June C, Sadelain M. Chimeric Antigen Receptor Therapy. *N Engl J Med* [Internet]. 2018 Jul 5;379(1):64-73. Disponible en: <https://doi.org/10.1056/NEJMra1706169>
- Kamal-Bahl S, Puckett J, Bagchi I, Miller-Sonet E, Huntington S. Barriers and solutions to improve access for chimeric antigen receptor therapies. *Immunotherapy* [Internet]. 2022;14(9):741-753. Disponible en: <https://doi.org/10.2217/imt-2022-0037>.
- Westin J, Kersten M, Salles G, Abramson J, Schuster S, et al. Efficacy and safety of CD19-directed CAR-T cell therapies in patients with relapsed/refractory aggressive B-cell lymphomas: Observations from the JULIET, ZUMA-1, and TRANSCEND trials. *Am J Hematol [Internet]*. 2021 Oct 1;96(10):1295-1312. Disponible en: <https://doi.org/10.1002/ajh.26301>.
- Mikhael J, Fowler J, Shah N. Chimeric Antigen Receptor T-Cell Therapies: Barriers and Solutions to Access. *JCO Oncol Pract [Internet]*. 2022 Dec;18(12):800-807. Disponible en: <https://doi.org/10.1200/OP.22.00315>.
- Geethakumari P, Ramasamy D, Dholaria B, Berdeja J, Kansagra A. Balancing Quality, Cost, and Access During Delivery of Newer Cellular and Immunotherapy Treatments. *Curr Hematol Malig Rep [Internet]*. 2021 Aug;16(4):345-356. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s11899-021-00635-3>.
- Zhu F, Shah N, Xu H, Schneider D, Orentas R, Dropulic B, Hari P, Keever-Taylor C. Closed-system manufacturing of CD19 and dual-targeted CD20/19 chimeric antigen receptor T cells using the CliniMACS Prodigy device at an academic medical center. *Cytotherapy [Internet]*. 2018 Mar;20(3):394-406. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.jcyt.2017.09.005>.
- Lu J, Jiang G. The journey of CAR-T therapy in hematological malignancies. *Mol Cancer [Internet]*. 2022 Oct 8;21(1):194. Disponible en: <https://doi.org/10.1186/s12943-022-01663-0>.
- Feins S, Kong W, Williams E, Milone M, Fraietta J. An introduction to chimeric antigen receptor (CAR) T-cell immunotherapy for human cancer. *Am J Hematol [Internet]*. 2019 May;94(S1):S3-S9. Disponible en: <https://doi.org/10.1002/ajh.25418>.
- De Marco R, Monzo H, Ojala P. CAR T Cell Therapy: A Versatile Living Drug. *Int J Mol Sci [Internet]*. 2023 Mar 27;24(7):6300. Disponible en: <https://doi.org/10.3390/ijms24076300>.
- Lindner S, Johnson S, Brown C, Wan L. Chimeric antigen receptor signaling: Functional consequences and design impli-

- cations. *Sci Adv* [Internet]. 2020 May 20;6(21):eaaz3223. Disponible en: <https://doi.org/10.1126/sciadv.aaz3223>.
11. Honikel M, Olejniczak S. Co-Stimulatory Receptor Signaling in CAR-T Cells. *Biomolecules* [Internet]. 2022 Sep 15;12(9):1303. Disponible en: <https://doi.org/10.3390/biom12091303>.
 12. Benmebarek M, Karches C, Cadilha B, Lesch S, Endres S, Kobold S. Killing Mechanisms of Chimeric Antigen Receptor (CAR) T Cells. *Int J Mol Sci* [Internet]. 2019 Mar 14;20(6):1283. Disponible en: <https://doi.org/10.3390/ijms20061283>.
 13. Ivica N, Young C. Tracking the CAR-T Revolution: Analysis of Clinical Trials of CAR-T and TCR-T Therapies for the Treatment of Cancer (1997-2020). *Healthcare (Basel)* [Internet]. 2021 Aug 19;9(8):1062. Disponible en: <https://doi.org/10.3390/healthcare9081062>.
 14. Neelapu S. CAR-T efficacy: is conditioning the key? *Blood* [Internet]. 2019 Apr 25;133(17):1799-1800. Disponible en: <https://doi.org/10.1182/blood-2019-03-900928>.
 15. Hayden P, Roddie C, Bader P, Basak G, Bonig H, et al. Management of adults and children receiving CAR T-cell therapy: 2021 best practice recommendations of the European Society for Blood and Marrow Transplantation (EBMT) and the Joint Accreditation Committee of ISCT and EBMT (JACIE) and the European Haematology Association (EHA). *Ann Oncol* [Internet]. 2022 Mar;33(3):259-275. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.annonc.2021.12.003>.
 16. Gajra A, Zalenski A, Sannareddy A, Jeune-Smith Y, Kapinos K, Ankit Kansagra A. Barriers to Chimeric Antigen Receptor T-Cell (CAR-T) Therapies in Clinical Practice. *Pharmaceut Med* [Internet]. 2022;36(3):163-171. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s40290-022-00428-w>.
 17. Martinez-Cibrian N, Español-Rego M, Pascal M, Delgado J, Ortiz-Maldonado V. Practical aspects of chimeric antigen receptor T-cell administration: From commercial to point-of-care manufacturing. *Front Immunol* [Internet]. 2022 Sep 27;13:1005457. Disponible en: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.1005457>.
 18. Harrison R, Zylberberg E, Ellison S, Levine B. Chimeric antigen receptor-T cell therapy manufacturing: modelling the effect of offshore production on aggregate cost of goods. *Cytotherapy* [Internet]. 2019 Feb;21(2):224-233. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.jcyt.2019.01.003>.
 19. Vormittag P, Gunn R, Ghorashian S, Veraitch F. A guide to manufacturing CAR T cell therapies. *Curr Opin Biotechnol* [Internet]. 2018 Oct;53:164-181. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2018.01.025>.
 20. Wang X, Rivière I. Clinical manufacturing of CAR T cells: foundation of a promising therapy. *Mol Ther Oncolytics* [Internet]. 2016 Jun 15;3:16015. Disponible en: <https://doi.org/10.1038/mto.2016.15>.
 21. Levine B, Miskin J, Wonnacott K, Keir K. Global Manufacturing of CAR T Cell Therapy. *Mol Ther Methods Clin Dev* [Internet]. 2017 Mar 17;4:92-101. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.omtm.2016.12.006>.
 22. Scholler J, June C. Decade-long safety and function of retroviral-modified chimeric antigen receptor T cells. *Sci Transl Med* [Internet]. 2012 May 2;4(132):132ra53. Disponible en: <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.3003761>.
 23. Harrison R, Zylberberg E, Ellison S, Levine B. Chimeric antigen receptor-T cell therapy manufacturing: modelling the effect of offshore production on aggregate cost of goods. *Cytotherapy* [Internet]. 2019 Feb;21(2):224-233. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.jcyt.2019.01.003>.
 24. Zhu F, Shah N, Xu H, Schneider D, Orentas R, Dropulic B, Hari P, Keever-Taylor C. Closed-system manufacturing of CD19 and dual-targeted CD20/19 chimeric antigen receptor T cells using the CliniMACS Prodigy device at an academic medical center. *Cytotherapy* [Internet]. 2018 Mar;20(3):394-

406. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.jcyt.2017.09.005>.
25. Blaeschke F, Stenger D, Kaeuferle T, Willie rS, Lotfi R, Kaiser A, et al. Induction of a central memory and stem cell memory phenotype in functionally active CD4+ and CD8+ CAR T cells produced in an automated good manufacturing practice system for the treatment of CD19+ acute lymphoblastic leukemia. *Cancer Immunol Immunother [Internet]*. 2018 Jul;67(7):1053-1066. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s00262-018-2155-7>.
26. Kaiser A, Assenmacher M, Schröder B, Meyer M, Orentas R, Bethke U, Dropulic B. Towards a commercial process for the manufacture of genetically modified T cells for therapy. *Cancer Gene Ther [Internet]*. 2015 Mar;22(2):72-8. Disponible en: <https://doi.org/10.1038/cgt.2014.78>.
27. Mock U, Nickolay L, Philip B, Weng-Kit Cheung G, Zhan H, Johnston I, et al. Automated manufacturing of chimeric antigen receptor T cells for adoptive immunotherapy using CliniMACS prodigy. *Cytotherapy [Internet]*. 2016 Aug;18(8):1002-1011. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.jcyt.2016.05.009>.
28. Lock D, Mockel-Tenbrinck N, Drechsel K, Barth C, Mauer D, Schaser T, et al. Automated Manufacturing of Potent CD20-Directed Chimeric Antigen Receptor T Cells for Clinical Use. *Hum Gene Ther [Internet]*. 2017 Oct;28(10):914-925. Disponible en: <https://doi.org/10.1089/hum.2017.111>.
29. Karulkar A, Jain H, Shah S, Khan A, Jaiswal A, et al. Making Anti-CD19 CAR-T Cell Therapy Accessible and Affordable: First-in-Human Phase I Clinical Trial Experience from India. *Blood [Internet]*. 2022;140(Supplement 1):4610-4611. Disponible en: <https://doi.org/10.1182/blood-2022-168928>
30. Palani H, Arunachalam A, Yasar M, Venkatatram A, Kulkarni U, Lionel S, et al. Decentralized manufacturing of anti CD19 CAR-T cells using CliniMACS Prodigy®: real-world experience and cost analysis in India. *Bone Marrow Transplant [Internet]*. 2023 Feb;58(2):160-167. Disponible en: <https://doi.org/10.1038/s41409-022-01866-5>.
31. Zanetti S, Velasco-Hernandez T, Gutierrez-Agüera F, Díaz V, Romecín P, Roca-Ho H, et al. A novel and efficient tandem CD19- and CD22-directed CAR for B cell ALL. *Mol Ther [Internet]*. 2022 Feb 2;30(2):550-563. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.molther.2021.08.033>.
32. Jacoby E, Bielorai B, Avigdor A, Itzhaki O, Hutt D, Nussboim V, et al. Locally produced CD19 CAR T cells leading to clinical remissions in medullary and extramedullary relapsed acute lymphoblastic leukemia. *Am J Hematol [Internet]*. 2018 Dec;93(12):1485-1492. Disponible en: <https://doi.org/10.1002/ajh.25274>.
33. Itzhaki O, Jacoby E, Nissani A, Levi M, Nagler A, Kubi A, et al. Head-to-head comparison of in-house produced CD19 CAR-T cell in ALL and NHL patients. *J Immunother Cancer [Internet]*. 2020;8(1):e000148. Disponible en: <https://doi.org/10.1136/jitc-2019-000148>.
34. Molostova O, Shelikhova L, Muzalevsky Y, Kazachenok A, Pershin D, Elena Kurnikova E, et al. Point-of-Care Production of CD19 CAR-T Cells in an Automated Closed-System: Report of First Clinical Experience. *Blood [Internet]*. 2018;132(Supplement 1):5202. Disponible en: <https://doi.org/10.1182/blood-2018-99-118282>.
35. Molostova O, Maschan M et al. Local Manufacture of CD19 CAR-T Cells Using an Automated Closed-System: Robust Manufacturing and High Clinical Efficacy with Low Toxicities. *Blood [Internet]*. 2019;134(Supplement 1):2625. Disponible en: <https://doi.org/10.1182/blood-2019-130370>.
36. Yang J, He J, Zhang X, Li J, Wang Z, Zhang Y, et al. Next-day manufacture of a novel anti-CD19 CAR-T therapy for B-cell acute lymphoblastic leukemia: first-in-human clinical study. *Blood Cancer J [Internet]*. 2022 Jul 7;12(7):104. Disponible en: <https://doi.org/10.1038/s41408-022-00694-6>.
37. Castella M, Boronat A, Martín-Ibáñez R, Rodríguez

- guez V, Suñé G, Caballero M, et al. Development of a Novel Anti-CD19 Chimeric Antigen Receptor: A Paradigm for an Affordable CAR T Cell Production at Academic Institutions. *Mol Ther Methods Clin Dev* [Internet]. 2019 Mar 15;12:134-144. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.omtm.2018.11.010>
38. Castella M, Caballero-Baños M, Ortiz-Maldonado V, González-Navarro E, Suñé G, Antoñana-Vidósola A, et al. Point-Of-Care CAR T-Cell Production (ARI-0001) Using a Closed Semi-automatic Bioreactor: Experience From an Academic Phase I Clinical Trial. *Front Immunol* [Internet]. 2020 Mar 20;11:482. Disponible en: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.00482>.
39. Ortíz-Maldonado V, Rives S, Castellà M, Alonso-Saladrigues A, Benítez-Ribas D, Caballero-Baños M, et al. CART19-BE-01: A Multi-center Trial of ARI-0001 Cell Therapy in Patients with CD19+ Relapsed/Refractory Malignancies. *Mol Ther* [Internet]. 2021 Feb 3;29(2):636-644. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.ymthe.2020.09.027>.
40. Martínez-Cibrián N, Ortiz-Maldonado V, Español-Rego M, Blázquez A, Cid J, Lozano M, et al. The academic point-of-care anti-CD19 chimeric antigen receptor T-cell product varnimcabtagene autoleucel (ARI-0001 cells) shows efficacy and safety in the treatment of relapsed/refractory B-cell non-Hodgkin lymphoma. *Br J Haematol* [Internet]. 2023 Oct 31. Disponible en: <https://doi.org/10.1111/bjh.19170>.
41. Ying Z, Yang H, Guo Y, Li W, Zou D, Zhou D, et al. Relmacabtagene autoleucel (relma-cel) CD19 CAR-T therapy for adults with heavily pretreated relapsed/refractory large B-cell lymphoma in China. *Cancer Med* [Internet]. 2021 Feb;10(3):999-1011. Disponible en: <https://doi.org/10.1002/cam4.3686>.
42. Kekre N, Hay K, Webb J, Mallick R, Balasundaram M, Sigrist M, et al. CLIC-01: Manufacture and distribution of non-cryopreserved CAR-T cells for patients with CD19 positive hematologic malignancies. *Front Immunol* [Internet]. 2022 Dec 19;13:1074740.
- Disponible en: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.1074740>.
43. Myers R, Li Y, Leahy A, Barrett D, Teachey D, Callahan C, et al. Humanized CD19-Targeted Chimeric Antigen Receptor (CAR) T Cells in CAR-Naive and CAR-Exposed Children and Young Adults With Relapsed or Refractory Acute Lymphoblastic Leukemia. *J Clin Oncol* [Internet]. 2021 Sep 20;39(27):3044-3055. Disponible en: <https://doi.org/10.1200/JCO.20.03458>.
44. Shohdy K, Pillai M, Guest R, Rothwell D, Kirillova N, Chow S, et al. Evidence of clinical efficacy of a first generation CD19 CAR T cell in B cell malignancies. *EJHaem* [Internet]. 2023 Jun 24;4(3):882-885. Disponible en: <https://doi.org/10.1002/jha2.731>.
45. Kfir-Erenfeld S, Asherie N, Grisariu S, Avni B, Zimran E, Assayag M, et al. Feasibility of a Novel Academic BCMA-CART (HBI0101) for the Treatment of Relapsed and Refractory AL Amyloidosis. *Clin Cancer Res* [Internet]. 2022 Dec 1;28(23):5156-5166. Disponible en: <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-22-0637>.
46. Asherie N, Kfir-Erenfeld S, Avni B, Assayag M, Dubnikov T, Zalcman N, et al. Development and manufacture of novel locally produced anti-BCMA CAR T cells for the treatment of relapsed/refractory multiple myeloma: results from a phase I clinical trial. *Haematologica* [Internet]. 2023 Jul 1;108(7):1827-1839. Disponible en: <https://doi.org/10.3324/haematol.2022.281628>.
47. Oliver-Caldés A, González-Calle V, Cabañas V, Español-Rego M, Rodríguez-Otero P, Reguera J, et al. Fractionated initial infusion and booster dose of ARI0002h, a humanised, BCMA-directed CAR T-cell therapy, for patients with relapsed or refractory multiple myeloma (CARTBCMA-HCB-01): a single-arm, multicentre, academic pilot study. *Lancet Oncol* [Internet]. 2023 Aug;24(8):913-924. Disponible en: [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(23\)00222-X](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(23)00222-X).
48. Guerino-Cunha R, Clé D, Carvalho L, Dermínio C, Oliveira L, Oliveira P, et al.

- Viability of Chimeric Antigen Receptor T Cell Therapy in Latin America. *Blood* [Internet]. 2021;138(Supplement 1):4843-4843. Disponible en: <https://doi.org/10.1182/blood-2021-154217>.
49. Mitchell D, Kenderian S, Rajkumar V. Letting academic medical centers make CAR-T drugs would save billions. [Internet] [Nov. 20, 2019]. Available from: <https://www.statnews.com/2019/11/20/car-t-drugs-academic-medical-centers-save-billions/>.
50. Arnaudo L. On CAR-Ts, decentralized in-house models, and the hospital exception. Routes for sustainable access to innovative therapies. *J Law Biosci* [Internet]. 2022 Jul-Dec; 9(2):lsaco27. Disponible en: <https://doi.org/10.1093/jlb/lsaco27>.
51. Juan M, Delgado J, Calvo G, Trias E, Urbaño-Ispizua A. Is Hospital Exemption an Alternative or a Bridge to European Medi- cines Agency for Developing Academic Chimeric Antigen Receptor T-Cell in Europe? Our Experience with ARI-0001. *Hum Gene Ther* [Internet]. 2021 Oct;32(19-20):1004-1007. Disponible en: <https://doi.org/10.1089/hum.2021.168>.
52. Wang V, Gauthier M, Decot V, Loïc Reppel L, Bensoussan D. Systematic Review on CAR-T Cell Clinical Trials Up to 2022: Academic Center Input. *Cancers (Basel)* [Internet]. 2023 Feb 4;15(4):1003. Disponible en: <https://doi.org/10.3390/cancers15041003>.
53. Picanço-Castro V, Bonamino M, Ramos R, Guerino-Cunha R, Oliveira T, Rego E, et al. CAR-T cells: preclinical development-Safety and efficacy evaluation. *Hematol Transfus Cell Ther* [Internet]. 2021;43(S2):S54-S63. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.htct.2021.09.008>