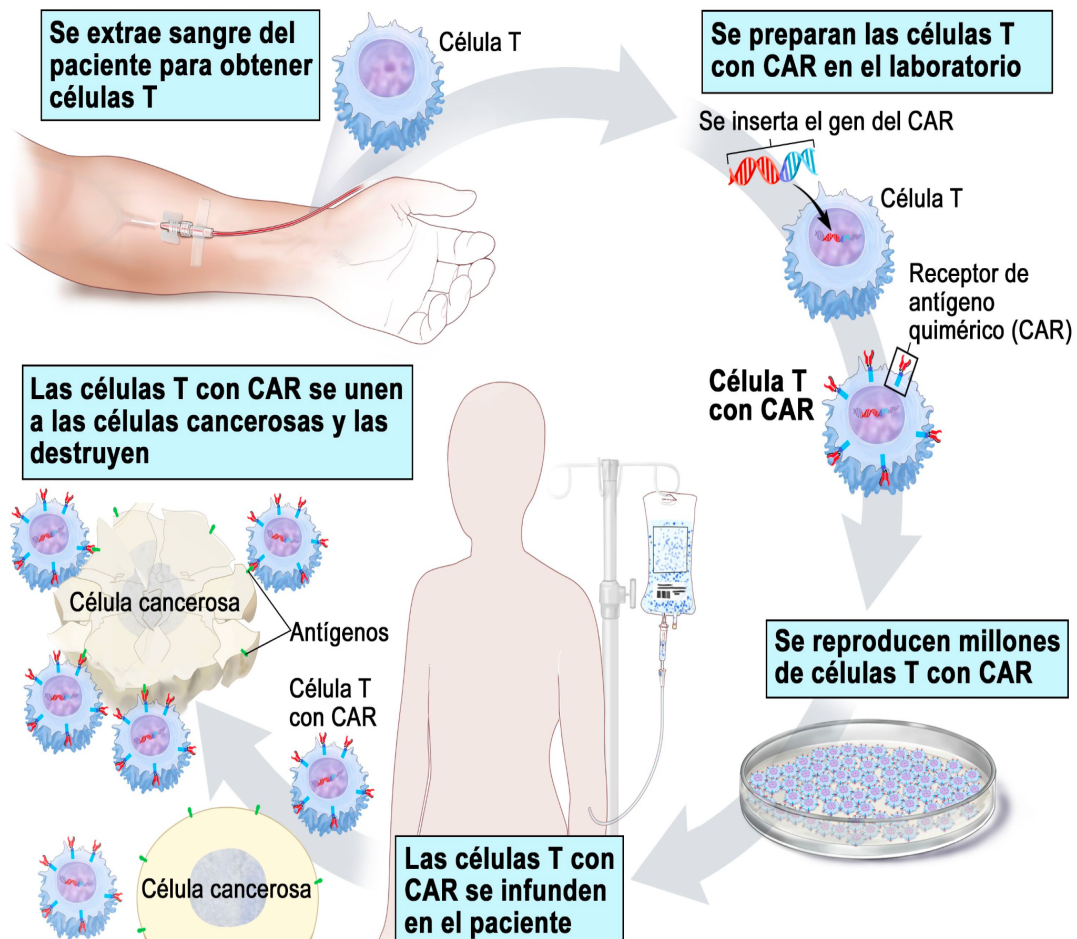


IMMUNOTERÀPIA CAR-T, LA TERÀPIA DEL FUTUR CONTRA EL CÀNCER

Terapia de células T con CAR



Pseudònim: Klein

Aquest treball el dedico als meus dos avis,
al meu oncle que està lluitant contra el càncer
i a tots els pacients que pateixen o han patit aquesta malaltia.

“Cuando alguien tiene cáncer, la familia entera y todo el que lo ama,
también.”

Terri Clark.

Índex

	Pàg.
1. Introducció.....	7
2. Marc teòric.....	10
2.1. Càncer.....	10
2.2. Sistema immunològic i càncer.....	12
2.3. Etapes d'una cèl·lula tumoral i estadificació del càncer.....	15
2.4. Estadístiques del càncer.....	17
2.5. Causes del càncer.....	20
2.6. Genètica del càncer.....	25
2.7. Tractaments contra el càncer.....	30
2.8. Tipus de càncers.....	34
3. Part experimental/explicativa.....	41
3.1. Introducció a la teràpia CAR-T.....	41
3.2. Selecció de pacients per a la immunoteràpia CAR-T (ARI-0001)...	43
3.3. Afèresi (leucoafèresi).....	47
3.4. Reprogramació cel·lular.....	53
3.4.1. Introducció i preparació de la mostra.....	53
3.4.2. Separació de les cèl·lules.....	55
3.4.3. Activació.....	58
3.4.4. Transducció del lentivirus.....	59
3.4.5. Expansió dels limfòcits T.....	61
3.5. Preparació del pacient/Infusió.....	62
3.6. Atac de cèl·lules.....	65
3.7. Efectes secundaris de la teràpia.....	66
3.8. La teràpia durant el coronavirus.....	68
3.9. Actualitat del tractament (Hospital Clínic).....	71
4. Conclusions.....	72
5. Agraïments.....	75
6. Bibliografia.....	76

Abstract i summary

- Abstract

El cáncer es una de las enfermedades que más muertes causa en todo el mundo. Sin embargo, no parece que esto disminuya, sinó que se espera que en el 2040 esta cifra se eleve un 70%. Por ello, aunque los tratamientos convencionales sean útiles, es necesario encontrar otros que sean más específicos y solo se dirijan a las células tumorales. Desde hace tiempo estas terapias se encuentran en auge y son llamadas inmunoterapias. Concretamente, este TR (Treball de Recerca) se ha centrado en la inmunoterapia CAR-T que consiste en la modificación genética de los linfocitos T mediante distintas técnicas para posteriormente, detectar las células cancerígenas y eliminarlas. Se usa exclusivamente en pacientes con cánceres refractarios o con aquellos que hayan sufrido muchas recaídas. Existen dos tipos de CAR-T que son los comerciales y los académicos. En el HCB (Hospital Clínic de Barcelona), donde he tenido la oportunidad de presenciar el funcionamiento de este tratamiento, se trabaja académicamente con el ARI-0001. Se ha intentado averiguar si esta terapia será efectiva en el futuro para distintos tipos de cánceres. Mediante la búsqueda de distintos estudios e información cedida por los profesionales médicos he podido obtener documentos en los cuales se presencia que la evolución de la vitalidad de los pacientes va en aumento y además, he podido observar que se está investigando el uso de otros CAR, ya que hasta ahora esta inmunoterapia únicamente puede tratar unos tipos de neoplasias. No obstante, se ha podido establecer un ensayo clínico del CAR-T ARI-0002h, un CAR específico contra el mieloma múltiple. Evaluando los resultados se puede determinar que la inmunoterapia CAR-T será uno de los tratamientos más usados en el futuro por su alta eficacia y su especificidad en el momento de detectar las células malignas.

● Summary

Cancer is one of the most deadly illnesses all over the world. Nevertheless, it seems this fact will not decrease, otherwise it is believed to mushroom up to 70%. Thus, even though conventional treatments are useful, it is necessary to search for a more specific alternative that only targets tumorous cells. Since a long time these are in a boom, they are called immunotherapies. Concretely, this TR has focused on CAR T-cell therapy that consists of the genetic modification of T lymphocytes using several techniques to subsequently, identify cancerous cells and kill them. It is used exclusively in patients suffering from refractory cancers or with the ones that have undergone some relapses. We can contrast the academic CAR-T with the commercial ones. At HCB (Hospital Clínic de Barcelona), where I have had the opportunity to observe the process of this treatment, working with ARI-0001. It has been used to find out whether this therapy will be effective in the future to treat different cancer types. Having searched for some studies and information given by medical professionals I have been able to obtain documents in which the increase of survival can be seen. Apart from that, I have noticed that scientifics are researching the use of new CAR, given that until now this immunotherapy has only been used with certain neoplasms. Nevertheless, it has been able to establish a clinical trial of CAR-T ARI-0002h, a specific CAR against multiple myeloma. Analysing the results it can be concluded that CAR T-cell immunotherapy will be one of the most used treatments in the future due to its highly efficacy and specificity when detecting malignant cells.

1. Introducció

Des de fa temps que el càncer és una de les malalties que més ens afecta. Pot arribar a causar grans seqüeles per aquells que l'hagin superat, o pels que no, la mort.

Aquesta malaltia és una de les principals causes de morts a tot el món. Segons un estudi de l'Agència Internacional per a la Investigació del Càncer, al 2018, hi va haver 18 milions de casos i 9 milions d'habitants van acabar defallint. Aquest estudi també preveu que a l'any 2040 augmentin ambdues xifres en un 70%, aquest increment important vindria donat per causes generals com les exposicions a radiacions elevades, els diferents agents cancerígens i diversos problemes mediambientals. ^[1]

Aquesta patologia no només afecta a les persones de països subdesenvolupats, sinó que també afecta als més avançats, un 65% i un 35%, respectivament. Concretament, les principals casuístiques en els estats de menys ingressos són la malnutrició, infeccions pels virus d'hepatitis i papiloma, mentre que als altres països són el consum elevat de tabac i alcohol, la falta d'esport i un elevat índex de massa corporal. ^[1]

El terme càncer abarca més de 100 diferents tipus. Cadascun té els seus factors de causa, el seus símptomes, el pronòstic i un tractament particular. A més a més, existeix la possibilitat de que aquestes cèl·lules tumorals s'escampin per tot el cos provocant una metàstasi. Els més coneguts són: el carcinoma, el sarcoma, leucèmia i limfoma.

En contra, hi ha diversos tractaments per intentar combatre aquesta malaltia. Alguns tractaments poden ser la quimioteràpia, la radioteràpia, la cirurgia, transplants de cèl·lules mare o immunoteràpia. La majoria de càncers són tractats amb una combinació de la quimioteràpia i radioteràpia, que són les més conegudes.

Entre els tractaments menys utilitzats però que actualment s'està aplicant amb bastant potència es troba la immunoteràpia, un tractament que ajuda al mateix sistema immunitari per lluitar contra aquesta malaltia. En aquest treball es parlarà d'una teràpia particular de immunoteràpia. Concretament, es tractarà la teràpia amb transferència de cèl·lules T o també anomenada CAR-T (de l'anglès *Chimeric Antigen Receptor T*). Altres tipus de immunoteràpies són els inhibidors de punts de control immunitaris, anticossos monoclonals, immunomoduladors, etc...

El tractament amb cèl·lules CAR-T es porta duent a terme als Estats Units des de fa temps, però a Europa va una mica endarrerit, això és pels interessos d'empreses privades que inverteixen molta quantitat de diners amb la finalitat de fer estudis i investigacions allà. No obstant això, fa poc que a l'Hospital Clínic s'ha desenvolupat el primer tractament CAR-T públic de tot Europa. Aquesta novetat ha permès que altres centres sanitaris puguin optar a aquesta tecnologia.

Aquesta teràpia s'origina gràcies al gran esforç d'Ariana Benedé Jover, una noia que amb 13 anys va ser diagnosticada amb leucèmia, però llastimosament va morir al 2016 amb 18 anys. Gràcies al seus familiars i companys, que van liderar una campanya de recaudament benèfic de diners, van promoure aquesta immunoteràpia amb ajuda dels investigadors i metges del Clínic. Fins al 10 de febrer de 2021, ja s'aplicava una teràpia semblant a pacients pediàtrics i adults joves de fins a 25 anys que patien leucèmia limfoblàstica aguda. Segons les dades de l'hospital Sant Joan de Déu, hospital pediàtric associat a l'Hospital Clínic, als 2 anys de la teràpia un 80% dels casos tractats sobreviuen. ^[2]

No obstant això, el 10 de febrer de 2021 es publica una notícia que ho canviava tot. El títol de la primícia era *“L'AEMPS autoritza al CAR-T ARI-0001 de l'Hospital Clínic per a pacients amb leucèmia limfoblàstica aguda”*. Resulta que L'Agencia Espanyola del Medicamento y Productos Sanitarios (AEMPS) havia autoritzat l'ús d'aquest medicament de teràpia avançada de fabricació no industrial. En contrast amb l'altre tractament, aquest es pot usar només en pacients majors de 25 anys, que també pateixen leucèmia limfoblàstica aguda. Igualment que la teràpia aplicada a pediatria, només s'aplica en casos en què els tractaments convencionals no siguin efectius o en pacients que hagin patit una recaiguda de la seva malaltia. ^[2]

Gràcies a l'anterior article vaig decidir investigar i llegir més sobre el CAR-T. Això em va intrigar tant que vaig decidir que aquest seria el tema del Treball de Recerca (TR) que es presenta a continuació. El fet que al futur poguéssim curar el càncer a partir de cèl·lules del nostre propi cos i que a més fos una teràpia personalitzada em va semblar una utopia. També, em va inspirar a fer aquest TR la possibilitat d'explicar el tractament d'una forma senzilla i clara a la gent que no el coneguéssim i transmetre l'evolució de la medicina juntament amb la tecnologia que està involucrada en el procés.

Així que vaig tenir l'oportunitat de fer una entrevista amb l'hematòloga Ana Merino que em va explicar les nocions bàsiques dels diferents tipus de càncers i sobretot sobre la leucèmia limfoblàstica aguda o LLA. A més, em va donar el contacte de l'hematòleg Valentín Ortiz-Maldonado, un antic estudiant seu que ara es troba treballant a l'àrea de la immunoteràpia CAR-T, que m'ha permès visitar pacients amb ell i m'ha donat informació. A continuació, el Dr. Lozano (cap de secció d'hemoteràpia) em va fer una presentació de l'afèresi. Finalment, les Dres. Mariona Pascal i Marta Español em van mostrar la secció d'immunoteràpia avançada i em van explicar el procediment de la recombinació genètica.

Tota aquesta informació recollida, va donar com a fruit una sèrie de dubtes que intentaria anant ressolent amb els coneixements que aniria assolint al llarg del desenvolupament d'aquest treball de recerca.

Les principals preguntes que van sorgir van ser:

“Com funciona aquesta teràpia?”, “Quins són els factors que fan que alguns tipus de càncers puguin ser tractats amb aquesta teràpia i altres no?”, “Serà viable aquesta teràpia amb altres tipus de càncers?”, “Quina diferència hi ha entre aplicar aquest tractament amb pacients pediàtrics o pacients majors de 25 anys?”, “Si hi ha efectes secundaris, estan justificats respecte els beneficis que té?”, “Per què no s'aplica aquesta immunoteràpia com a primera opció i no com a última?”, “Quan es triga per fer aquest tipus de teràpia?”, “Com es va idear aquest procediment a l'Hospital Clínic i com va ser la fase de prova de l'assaig clínic?”.

La cerca d'informació per resoldre aquestes qüestions van concloure a formular la meua hipòtesi:

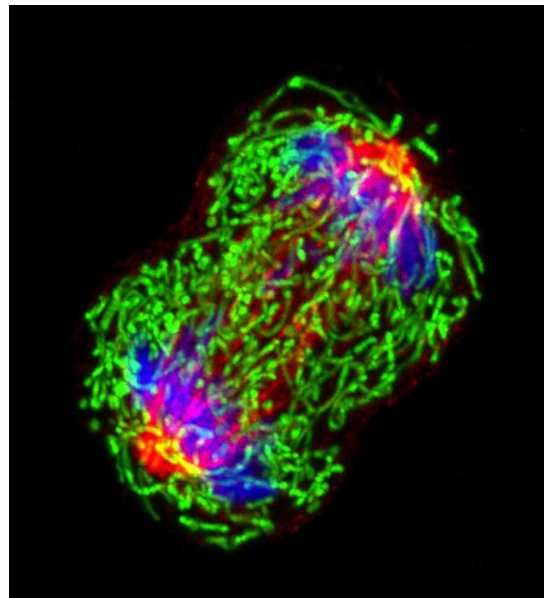
“Al futur, es podran tractar la majoria de càncers amb aquesta teràpia i tenir una gran eficàcia en la vitalitat dels pacients.”

2. Marc teòric

2.1. Càncer

Nosaltres, els éssers humans estem formats per milions de cèl·lules que creixen i es divideixen per formar-ne de noves quan les necessitem per substituir-ne de velles o reparar algun teixit. No obstant això, aquest procés cel·lular es pot descontrolar i com a conseqüència donar lloc al càncer.

El càncer és una malaltia genètica causada per mutacions¹ en els gens que controlen la nostra divisió cel·lular. Les mutacions es poden heretar dels nostres pares, però també poden estar causades per diversos factors del medi ambient. Les heretables són perquè han tingut lloc a les cèl·lules germinals com els òvuls o espermatozoides. El càncer de cada persona serà únic i diferent als altres, això sí, quan el càncer segueix creixent les cèl·lules canceroses poden tenir mutacions diferents. És a dir, una cèl·lula tumoral d'un òrgan pot tenir canvis genètics diferents que una d'un altre teixit.^[3,4,5]



Imatge 1. Cèl·lula de càncer en procés de divisió cel·lular.^[6]

Les cèl·lules canceroses són cèl·lules que han sobreviscut al seu cicle de vida o que s'han format quan no hauria d'haver passat (Vegeu Imatge 1). El càncer, és un procés en què les cèl·lules es divideixen sense parar, es pot dividir en dos grans grups: els càncers hematològics² o líquids i càncers sòlids que formen tumors. Quan el càncer s'espargeix per altres teixits del cos a través dels vasos sanguinis o limfàtics produeix metàstasi.

Un tumor és una masa o bossoga constituïda per un conjunt de cèl·lules canceroses que es divideixen sense cap interrupció. Poden ser de dos tipus, els benignes i malignes. Els primers no són cancerosos, fet pel qual no s'estenen cap a altres teixits. No són tan perillosos com els malignes però s'han de controlar ja que poden ser d'una gran mida i poden afectar a certes funcions vitals. Augmenten el nombre de cèl·lules, però el seu funcionament i la seva

¹ **Mutacions:** Modificacions en la seqüència genètica.

² **Càncers hematològics:** Són els càncers que afecten a la sang, és a dir a les cèl·lules sanguínies. Poden ser la leucèmia, el limfoma o mieloma múltiple.

estructura segueixen normals. Els segons són cancerosos, és a dir que poden envair altres teixits del cos humà. Les seves cèl·lules creixen de manera incontrolada i perden la seva forma natural. [3,4,5]

Les cèl·lules que provoquen càncer tenen certes característiques que s'anomenen *hallmarks*³ que les fan diferents a la resta. Hi ha característiques generals com les alteracions en les pròpies cèl·lules tumorals que presenten antígens⁴ diferents respecte les cèl·lules normals, però també n'hi ha de més específiques. Primer de tot, les canceroses no estan tan especialitzades com les normals, això fa que es puguin dividir sense parar. Normalment, les cèl·lules especialitzades ja no es poden dividir més. En segon lloc, les cèl·lules canceroses poden evitar rebre les senyals que envia el nostre cos a les cèl·lules perquè es deixin de dividir o facin apoptosi⁵. Una altra característica que posseeixen és que poden ser no detectades pel nostre sistema immunitari, el procés s'explicarà en el següent punt. Aquest sistema està format per teixits i cèl·lules especialitzades com els leucòcits⁶. En quart lloc, poden utilitzar el sistema immunitari pel seu benefici. Això és perquè poden fer que alguns leucòcits canviïn el seu funcionament natural i fer que no reconeguin a les canceroses. Per últim, tenen la capacitat per crear un microambient al voltant de les cèl·lules normals, es caracteritza per la formació de petits vasos sanguinis que formen per atacar les normals amb la finalitat d'extreure els nutrients i l'oxigen per a viure. A més, poden dipositar les seves restes en aquests vasos. [7,8]

³ **Hallmarks**: Característiques distintives del càncer que s'adquireixen durant les diferents etapes dels tumors. Aquest concepte va ser ideat per Douglas Hanahan i Robert Weinberg l'any 2000.

⁴ **Antígens**: Molècules que es troba en la membrana cel·lular i identifica la cèl·lula. Poden induir a la formació d'anticossos o una resposta immunitària. Generalment, són proteïnes.

⁵ **Apoptosi**: Procés que utilitza el cos per desfer-se de les cèl·lules que ja no necessita. Es coneix com mort cel·lular programada.

⁶ **Leucòcits**: Cèl·lules sanguínies que formen part del nostre sistema immunitari. Són els granulòcits, limfòcits i monòcits.

2.2. Sistema immunològic i càncer

El nostre sistema immunològic té la capacitat d'identificar i eliminar les cèl·lules tumorals, aquest procés s'anomena vigilància immunològica. Aquesta característica va ser descoberta pel biòleg Macfarlane Burnett a l'any 1950 gràcies a un experiment amb ratolins. Des d'aquell moment es va començar a pensar que el nostre sistema pot desenvolupar la funció de tractament contra el càncer. ^[9]

En condicions normals, les nostres cèl·lules expressen antígens a la seva superfície que serveixen per identificar-les. En aquest cas, les cèl·lules són reconegudes com a pròpies pel nostre sistema immunitari i per tant, no són atacades. Aquest mecanisme de reconeixement s'anomena tolerància immunitària. En canvi, si en el nostre cos hi haguessin virus i bacteries que no són naturals del nostre cos i per això tenen antígens diferents, el nostre sistema immunològic els detectaria com a forans i els destruiria. Aquest procediment es diu resposta immunitària. ^[10,11,12]

Les cèl·lules tumorals també manifesten antígens que tenen relació amb el tumor. Els antígens tumorals són reconeguts pel nostre sistema immunològic perquè quan les cèl·lules normals esdevenen canceroses, alguns dels antígens de la superfície també canvien o muten.

Els antígens tumorals s'organitzen en 2 grans grups. Els primers són els antígens específics de tumor, que són propis de les cèl·lules canceroses però no de les normals. Per exemple, els que provenen de proteïnes que es troben presents en nounats i que en etapes adultes no haurien d'estar-hi, però s'activen en les cèl·lules cancerígenes. ^[9,10,11,12]

Els segons són els antígens associats als tumors, que s'expressen tant en cèl·lules canceroses com en cèl·lules normals. La principal diferència és que es troben en molta quantitat, amb molt poc control i amb regulació anòmala. El sistema immunològic realitza una vigilància constant per trobar aquestes anomalies i poder destruir les cèl·lules que puguin esdevenir un tumor. ^[10,11,12,13]

El tipus d'immunitat es classifica segons l'especialització de cadascuna. La immunitat innata és la que tenim des de que naixem. Correspon als leucòcits i molècules que actuen més ràpid si hi ha microorganismes invasius al nostre cos. No és específica i tampoc té memòria immunològica. Els òrgans o teixits que conformen la immunitat innata són la pell i les mucoses que segreguen substàncies antimicrobianes. A més a més, també estan presents els

macròfags i les cèl·lules citocines naturals o NK (de l'anglès *Natural Killer*). Encara que les NK es trobin en la immunitat innata, hi ha evidències científiques que les relacionen amb capacitats antitumorals. ^[11,13]

Per altra banda, el sistema immunitari adaptatiu està més relacionat amb la resposta contra els tumors. Es desenvolupa després del primer contacte amb agents forans i queda controlada en els receptors de membrana dels limfòcits, això habilita una memòria immunitària. En una altra ocasió, si el nostre sistema immunitari se n'adona de la presència del mateix agent intrusiu podrà prendre les mesures correctes i procedirà a eliminar-lo.

Quan hi ha respostes immunitàries contra tumors es troben presents tant la adaptativa com la innata. Com s'ha mencionat anteriorment, el nostre sistema immunitari pot detectar els tumors degut als seus antígens. Les cèl·lules dendrítiques i els macròfags, que són cèl·lules presentadores d'antígens, detecten i capturen les tumorals. Aleshores, les cèl·lules dendrítiques i els macròfags presenten fragments dels antígens tumorals als limfòcits T. Des d'aquest moment, les cèl·lules T ja detecten els antígens tumorals com a estranys i perillosos. Per tant, quan va per l'organisme i troba una cèl·lula amb aquesta característica l'elimina. És un procés específic perquè només pot reconèixer aquest únic antígen. ^[10,11,12,13]

Tanmateix, el sistema immunitari no sempre funciona de manera tan eficaç. Hi ha bastants tumors que expressen una baixa quantitat d'antígens que poden ser reconeguts com forans i per tant, és difícil que siguin reconeguts. També cal dir que l'alta proliferació i propagació de les cèl·lules tumorals fa que els nostres mecanismes de defensa no donin abast. ^[11,12]

A més, els tumors tenen certs mecanismes especialitzats per eludir les respostes immunològiques del nostre organisme. Les cèl·lules canceroses poden disminuir o deixar d'expressar antígens a la seva superfície amb la finalitat de no ser detectats. També, secreten substàncies que redueixen la funció del sistema immunitari i dels limfòcits T. Per altra banda, el tumor pot créixer sense causar inflamació i com a conseqüència no manifestar símptomes. ^[11,12]

També, les cèl·lules immunitàries poden ser enganyades i reclutades pels tumors perquè els ajudin a créixer amb més velocitat. Aquest cas, es pot apreciar gràcies a un estudi que es duu a terme pels investigadors del Laboratori Cold Spring Harbor dels Estats Units. Han arribat

fins a la conclusió que els neutròfils, que són els glòbuls blancs que tenim en més abundància, poden arribar a ajudar a les cèl·lules cancerígenes per produir metàstasi. ^[13,14]

Els neutròfils conformen entre el 60 i 70% de tots els leucòcits per defensar el nostre cos davant els diferents agents invasors que penetren el nostre organisme, com els fongs o els bacteris. Seguidament, els neutròfils alliberen unes xarxes d'ADN, que s'anomenen trampes extracel·lulars de neutròfils o NET, amb les quals capturen i eliminen els agents forans. Aquestes xarxes estan plenes d'enzims digestius que els acaben destruint. No obstant això, les cèl·lules tumorals confonen els nostres neutròfils perquè aquests llencin les xarxes sense que hi hagi cap invasor, i així utilitzar les NET per intentar moure's més fàcilment pel nostre organisme i arribar fins als altres òrgans. Els científics creuen que les NET ajuden a trencar les proteïnes que conformen les membranes dels teixits. Amb aquest procés, s'obren petits forats que permeten les cèl·lules canceroses passar cap a altres llocs diferents del tumor *in situ*. ^[13,14]

La investigació va determinar un possible tractament, que s'utilitza també per a la fibrosi quística. La teràpia consisteix en l'administració de fàrmacs que contenen un enzim (ADNasa) que elimina les NET ja que estan formades d'ADN. En l'experiment amb ratolins es va administrar un medicament amb les mateixes característiques. Els resultats van determinar que els fragments d'ADNasa van ser capaços de disminuir la metàstasi cap als pulmons. ^[14,15]

⁷ **In situ**: En el lloc original. És a dir que les cèl·lules canceroses no s'han disseminat.

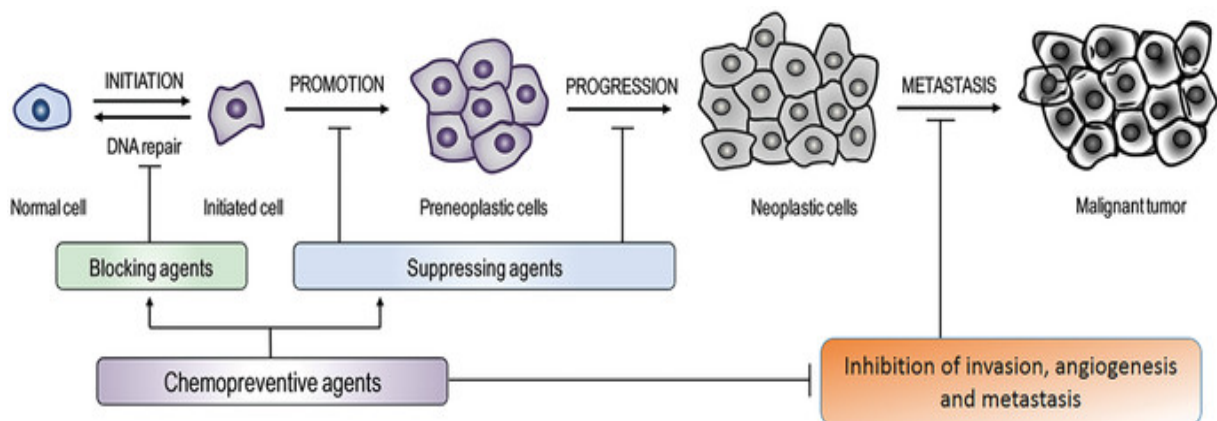
2.3. Etapes d'una cèl·lula tumoral i estadificació del càncer

La transformació d'una cèl·lula normal a una de cancerosa és un procés que pot durar bastants anys i està compost per unes etapes ben diferenciades. S'anomena carcinogènesi i consta de quatre fases (Vegeu Imatge 2). Aquestes, comprenen des de el moment en el qual una cèl·lula pateix una mutació i comença a proliferar de manera anormal fins l'escampament de metàstasi del tumor per la resta del cos.

El càncer s'origina quan un dels gens d'una cèl·lula queda mutat fent que la cèl·lula no dugui a terme el procés d'apoptosi. Els errors en la seqüència d'ADN són causats per diferents substàncies que es poden trobar dins del nostre cos (àcid biliar o altes quantitats d'oxigen entre d'altres) o fora del nostre cos (la radiació, el fum de les cigarretes, etc.).

Quan la cèl·lula ja ha passat l'etapa d'iniciació, continua la de promoció. Les cèl·lules que ja han patit les primeres mutacions comencen a expandir-se incontroladament perquè els gens que suprimeixen els tumors estan desactivats i els protooncogenes⁸ s'activen permanentment. És en aquest punt del procés en el qual es forma el tumor. ^[16]

Les últimes dues fases s'anomenen progressió i malignitat. El tumor inicia l'angiogènesi, que és un procés que consisteix en crear nous vasos sanguinis a partir dels ja existents amb la finalitat de subministrar-se els nutrients i oxigen necessari per a sobreviure. Cal dir que la majoria de tumors, i en aquest cas també la leucèmia limfoblàstica aguda, es propaguen mitjançant els vasos limfàtics. ^[16]



Imatge 2. Etapes de la transformació d'una cèl·lula normal a una cèl·lula cancerosa. ^[17]

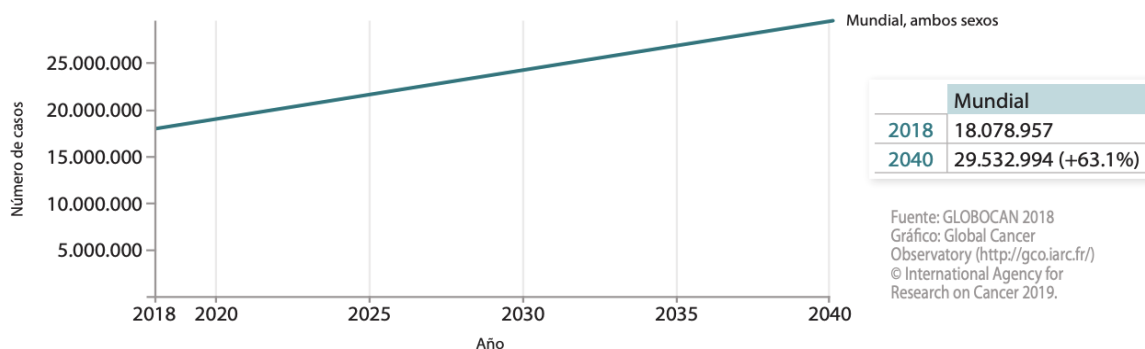
⁸ **Protooncogenes:** Són els gens que controlen la divisió cel·lular.

L'estadificació consisteix en una classificació que permet avaluar la gravetat del càncer amb la intenció de fer un pronòstic adequat i poder assignar el millor tractament possible al pacient. Aquesta distribució es fa amb un sistema que es diu TNM i darrere de cada lletra es col·loca un número que aporta més informació sobre el càncer. La lletra T fa referència a la mida del tumor i si ha envaït algun teixit circumdant; la M ens comunica si el tumor principal ha produït metàstasi; la N informa si les cèl·lules tumorals s'han estès pels ganglis limfàtics. ^[18,19]

A més d'aquesta classificació, s'empra una altra que es basa en estadis. L'estadi 0 indica que hi ha presència de cèl·lules anormals però que no s'han disseminat pel voltant, també s'anomena carcinoma in situ. En l'estadi I, II i III s'observa que hi ha càncer; si el número és més elevat, més gran és el tumor i més s'ha escampat. Finalment, el pacient es troba en l'estadi IV si té metàstasi. És important explicar que no sempre hi ha la possibilitat d'assignar una estadificació al tumor. ^[18,19]

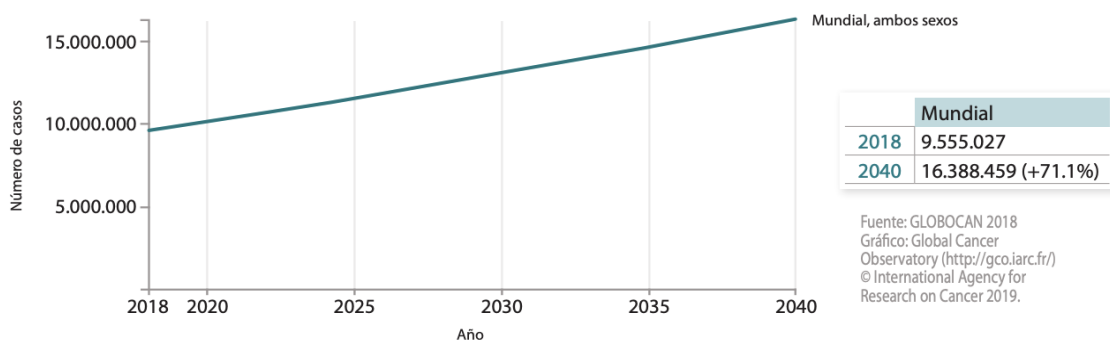
2.4. Estadístiques del càncer

Com és sabut, el càncer és una de les malalties que més casos i morts provoca en tot el món. Concretament, a l'any 2018 hi va haver una incidència de 18 milions d'afectats. Encara que les tecnologies i tractaments que sorgeixen cada dia són més innovadores i més efectives, s'espera que al 2040 hi hagi 29.500.000 casos. La incidència és l'increment de nous casos d'una malaltia en una població i període determinats (Vegeu gràfic 1).^[1]



Gràfic 1. Representació gràfica on es dona una estimació de la incidència del càncer al món. Gràfic aconseguit de *International Agency for Research on Cancer 2019*.

A més, el càncer té una mortalitat bastant alta, encara que en aquests últims anys les xifres han crescut més lentament (Vegeu gràfic 2). Això és degut a les diferents mesures que s'han pres. Per exemple com: xerrades i campanyes portades a càrrec pels governs i autoritats sanitàries per a conscienciar la ciutadania, un augment en el nombre d'estudis en persones que tenen més factors de risc i un increment en els impostos de les substàncies més perjudicials (tabac, alcohol, begudes ensucrades...).^[1]



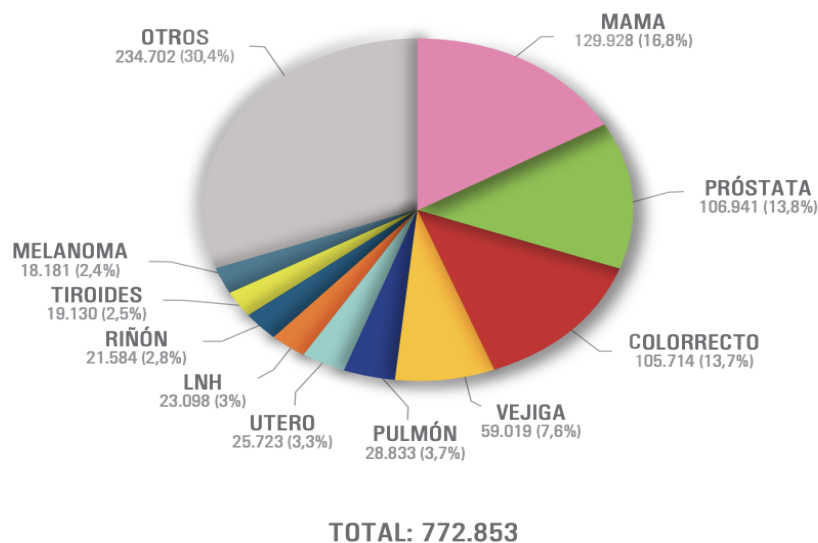
Gràfic 2. Representació gràfica on es dona una estimació del número de morts pel càncer al món. Gràfic aconseguit de *International Agency for Research on Cancer 2019*.

A banda de les dos consideracions anteriors (incidència i número de morts), també s'ha de tenir en compte un altre terme important, la prevalença.

Aquest terme proporciona el percentatge de persones que han estat afectades per aquesta patologia en un temps determinat. Aquesta dada inclou tota la població que hagi patit la malaltia que estigui viva, és a dir, que la pot seguir tenint o l'hagi superat.

La prevalença és un indicador que ve determinat per la supervivència dels càncers. Per exemple, un càncer amb bastanta prevalença vol dir que hi ha hagut molts supervivents; mentre que un que en tingui poca, voldrà dir que hi haurà més morts o menys nombre de casos d'aquest càncer en concret (Vegeu gràfic 3).

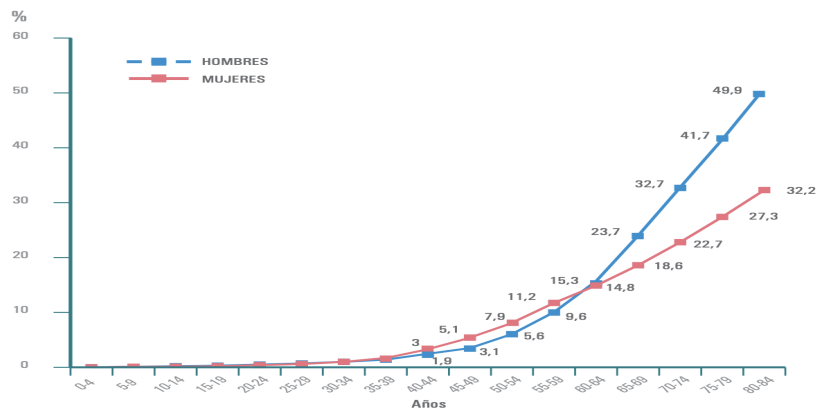
Es pot observar la prevalença de 5 anys de diferents tipus de càncers a Espanya l'any 2018. Com es pot analitzar, el càncer de mama i el càncer de pròstata són els dos més prevalents degut els grans avenços en els diferents àmbits tecnològics per curar-los. No obstant això, el càncer de pulmó no és tant prevalent encara que es detectin molts casos. Això és perquè no hi ha tanta supervivència comparat amb els altres dos. Cal destacar el tipus de càncer LNH, que és un limfoma no Hodgkin. ^[1]



Gràfic 3. Representació gràfica on es dona una estimació de la prevalença del càncer a Espanya. Gràfic aconseguit de International Agency for Research on Cancer 2019.

En últim lloc, l'edat és un dels factors de risc més important (Vegeu gràfic 4). Representa el percentatge de la probabilitat de patir càncer en els diferents rangs d'edat a Espanya. Es pot analitzar que a partir dels 40 als 60 anys els homes tenen menys probabilitat de patir càncer que les dones. En canvi, a partir dels 60 el risc dels homes es dispara considerablement

respecte al de les dones. Aquestes principals diferències es poden veure relacionades amb l'exposició de diferents factors de risc. Alguns estudis indiquen que aquesta diferència pot ser a causa de les diferents hormones dels dos sexes i la seva relació amb el sistema immunitari. [1]



Gràfic 4. Representació gràfica on es dona una estimació de la probabilitat de patir càncer (no melanoma) per sexes a Espanya l'any 2018. Gràfic aconseguit de *International Agency for Research on Cancer 2019*.

2.5. Causes del càncer

En general, no es pot saber amb tota seguretat què és el que causa càncer en algunes persones i en altres no. Però les grans recerques i reculls de dades han pogut definir certs factors de risc que poden augmentar la possibilitat d'una persona de patir aquesta malaltia. A més, el conjunt d'alguns factors fan que el càncer es desenvolupi més ràpidament. Per aquesta raó, els metges pensen que es tracta d'una alteració multifactorial.

Molts oncòlegs i investigadors dirigeixen estudis científics per determinar noves causes que poden provocar la malaltia. Fins ara, s'han trobat aproximadament uns 200 factors que s'agrupen en dos grups: els exògens i endògens. Aquestes investigacions comparen pacients amb càncer i altres que no amb la intenció de determinar factors als quals s'hagin exposat els afectats. Però, un únic estudi no pot determinar els factors concrets, sinó que han de coincidir molts. Hi ha alguns factors que es poden evitar, en canvi, altres com l'edat no. ^[18]

Els factors endògens es poden definir com els que engloben les alteracions genètiques del metabolisme d'una persona. Generalment, són hereditaris, això implica que un avantpassat pugui haver tingut la malaltia i l'hagi passat de generació en generació. Només entre un 5 i 10% dels casos són hereditaris, fet pel qual existeixen proves d'anàlisis genètics per a controlar aquest tipus de mutacions. ^[20]

Els factors exògens són totes les causes relacionades amb l'exterior; és a dir, factors que provenen de fora i poden induir a la formació d'un càncer. Aquests factors es poden evitar ja que els podem escollir. Normalment, són exposicions a diferents substàncies cancerígenes o mals hàbits quotidians. Els agents relacionats amb el càncer es poden agrupar en diferents àmbits de la ciència; biologia, física i química. ^[21]

Tal com es comenta anteriorment, l'edat és un factor molt important. Encara que el càncer es pot manifestar en totes les edats, un 60% de persones afectades per aquestes malalties tenen 65 anys o més. Això ocorre perquè s'acumulen les alteracions i modificacions genètiques. Com a conseqüència, les mutacions afecten més a la divisió cel·lular i l'organisme es troba més dèbil per a donar una resposta immunitària.

Les hormones són necessàries per a algunes funcions fisiològiques del nostre cos. Però, tres càncers molt comuns estan indirectament relacionats amb aquestes substàncies; el de mama, el d'ovaris i el de pròstata. Les hormones poden reactivar el tumor una vegada que ha entrat

en remissió. També, poden incitar als tumors en algunes zones sensibles i fer-lo créixer i propagar-se més ràpidament. [20,21,22,23,24]

L'obesitat també s'ha de tenir en compte. Les persones que pateixen obesitat o sobrepès tenen una possibilitat més alta de desenvolupar alguns càncers específics com el de mama, el de còlon o el de pàncrees. No només és un factor preocupant per aquesta malaltia, sinó que també és un gran risc amb altres patologies. Algunes d'aquestes podrien ser la diabetis, artrosi, complicacions cardíacaes o símptomes més greus de la COVID-19.

Tenir una dieta equilibrada i variada pot prevenir l'aparició d' algun tipus de càncer o certes malalties cardiovasculars. Per una altra banda, s'ha d'evitar ingerir aliments processats o carns vermelles ja que augmenten el risc de contreure càncer de recte. Així mateix, aliments salats, encurtits o fumats incrementen la possibilitat de càncer d'estómac. Val la pena dir que fer esport regularment pot contribuir a una millora en la salut de les persones i en la prevenció de patologies. [20]

Seguint amb el mateix fil, hi ha altres hàbits que són perjudicials, aquests són el tabac i l'alcohol. Prendre alcohol amb regularitat és molt danyós pel nostre fetge, per això es relaciona amb càncers hepàtics o d'esòfag. La quantitat d'alcohol consumida és directament proporcional amb els factors de risc. Tanmateix, pres amb tabac, provoca un efecte amplificador de tenir la malaltia. El tabac, és el principal factor de càncer i és el que causa més morts. El tabac no es pot consumir de manera regulada perquè només el fet de fumar ja afecta negativament a la nostra salut. Durant els anys, s'ha pogut detectar 4000 substàncies nocives en el tabac, de les quals 60 són cancerígenes. El benzè⁹ i el quitrà¹⁰ són dues substàncies cancerígenes que conté el tabac. El 22% de morts per la malaltia són degut el tabaquisme. Cal destacar, que no només afecta als fumadors, sinó que les persones que es troben al voltant (fumadors passius) també introdueixen els hidrocarburs als seus organismes. En particular el tabac està connectat amb el càncer de pulmó. [20,21,22,23,24]

Un altre factor que ha de ser considerat són les relacions sexuals sense proteccions. Moltes malalties de transmissió sexual (MTS) poden contribuir en l'aparició de càncers com l'anal, el de penis o vaginal. Les MTS més relacionades amb aquestes patologies són el virus del papiloma humà (VPH) o el virus del SIDA (VIH). Per exemple, el VPH pot infectar les

⁹ **Benzè**: Hidrocarbur cíclic aromàtic de 6 carbonis que forma un anell hexagonal.

¹⁰ **Quitrà**: Hidrocarbur aromàtic policíclic compost per fenols i amines.

cèl·lules del nostre cos i convertir aquestes en cèl·lules precanceroses. Si aquestes no s'eliminen poden créixer i causar càncer. Per altra banda, el VIH és un virus que infecta i mata les cèl·lules T¹¹. Les persones infectades en tindran menys i per tant tenen més possibilitat de ser afectades per les MTS. [20,21,22,23,24]

La immunosupressió per medicaments específics, malalties del sistema immunitari o el VIH poden fer que el sistema immunitari tingui més debilitat i menys capacitat per detectar les mutacions de les cèl·lules cancerígenes o combatre altres patologies derivades del càncer.

Un altre punt és la inflamació provocada per altres trastorns. La inflamació pot ser puntual o crònica, si es crònica s'ha de vigilar més ja que comporta un risc més elevat. Es pot definir com la resposta immunològica a agents exteriors o "agressions" al nostre organisme. Poden ser: infeccions, bacteris, virus, ferides o substàncies tòxiques. El procés es caracteritza per l'arribada continua de glòbuls blancs degut la constant segregació de moduladors químics durant les infeccions. La inflamació crònica pot ser causada per un desequilibri al nostre sistema immunitari o per l'obesitat. L'obesitat és una malaltia causada per una acumulació excessiva de greix en el teixit adipós. Això causa que els adipòcits¹² necessitin més oxigen i per tant deixen de poder emmagatzemar triglicèrids. Aquests àcids grassos es poden acumular en altres òrgans o en els vasos limfàtics. Quan això es dona, els adipòcits alliberen unes molècules anomenades adipoquines¹³, que poden causar la inflamació. Amb el temps, això pot afectar l'ADN i provocar mutacions que desemboquin en un càncer. La inflamació produeix molècules que contenen oxigen i nitrogen. Per tant, oxiden l'ADN i redueixen la reparació de les mutacions en la divisió cel·lular. Per aquesta raó, les mutacions que no es poden reparar fan que les cèl·lules es divideixin més ràpid i puguin produir càncer. Hi ha altres malalties com la colitis ulcerosa o la malaltia de Crohn que propicia el càncer de còlon.

Les infeccions per patògens poden ser bastant greus i col·laborar en el desenvolupament del càncer. Alguns virus, bacteris o paràsits tenen la capacitat d'introduir elements i codificacions genètiques en el nostre ADN. Nosaltres, com a conseqüència, expressem uns altres gens diferents als inicials per la recombinació genètica¹⁴. Els nous gens poden afectar al creixement i divisió cel·lular, debilitar el nostre sistema immunitari i produir inflamació

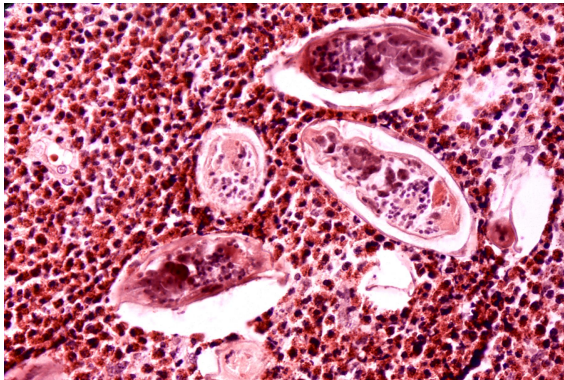
¹¹ **Cèl·lules T:** També anomenats limfòcits T, són glòbuls blancs formats a la medul·la òssia que protegeixen el nostre organisme de diverses infeccions i combateixen el càncer.

¹² **Adipòcits:** Són les cèl·lules animals que tenen la funció d'emmagatzemar greixos.

¹³ **Adipoquines:** Molècules de senyalització cel·lular (citoquines) amb funcions relacionades amb el metabolisme, inflamació, obesitat...

¹⁴ **Recombinació genètica:** Procés que consisteix en la producció de noves combinacions genètiques a partir de les generades per la mutació. Concretament, es fa un encreuament dels 2 ADN i fan aparèixer les noves combinacions.

crònica. Hi ha virus com els de l'hepatitis B i C que estan relacionats amb el càncer hepàtic; el VPH, amb el càncer de coll uterí; el VIH, amb limfomes no Hodgkin; el virus Epstein-Barr, amb el limfoma de Burkitt. També, existeixen bacteris infecciosos com el *Helicobacter pylori* que augmenta les possibilitats de patir càncer d'estómac. Al mateix temps, paràsits com *Schistosoma haematobium* i *Opisthorchis sinensis* poden causar càncers de bufeta i hepàtics, respectivament (Vegeu Imatges 3 i 4).^[20,21,24]



Imatge 3. *Schistosoma haematobium*.^[25]



Imatge 4. *Opisthorchis sinensis*.^[26]

Un apartat que s'ha de mencionar són les substàncies químiques que es troben dissipades per l'ambient. La contaminació atmosfèrica causada pels fums que s'alliberen en les indústries o per l'amiant que es troba en edificacions antigues són força perjudicials. També, alguns pesticides que s'usen avui en dia poden afectar-nos greument. Per això, les persones que s'exposen a aquestes substàncies tenen més possibilitats de patir la malaltia.

Els medicaments i tractaments estan fets per ajudar-nos a combatre les malalties que patim. No obstant això, poden tenir efectes secundaris que facin aparèixer certs tumors. Hi ha fàrmacs com el dietilestilbestrol (DES), compostats per estrògens que augmenten els riscos de tenir càncer de mama. Altres substàncies mèdiques com els esteroides anabòlics també són danyoses. És important dir que els tractaments de quimioteràpies o radioteràpies poden fer sorgir un segon tumor. Per altra banda, els riscos creixen amb l'administració d'immunosupressors pels transplantaments d'òrgans.

Per acabar, les radiacions d'ones i la llum solar també contribueixen al desenvolupament de la patologia. La radiació ultraviolada fa malbé el ADN formant dímers de timidina¹⁵ que afecten a l'hora de sintetitzar les cadenes d'ADN. Els pacients amb defectes de pigmentació

¹⁵ **Timidina:** Nucleòsid format per la timina unida a una desoxirribosa amb un enllaç glucosídic β -N₃. Normalment, es relaciona amb la divisió cel·lular.

tenen més risc de patir càncer de pell a l'estar exposats als raigs ultraviolats. El radó, és un gas radioactiu que s'allibera de forma natural per la Terra. Si els fumadors estan altament exposats al gas, poden contraure càncer. Finalment, la radiació ionitzant és preocupant si n'estem amb contacte molt de temps. Consisteix en treure els electrons que es troben units als àtoms de la matèria produint mutacions en el material genètic. Les podem trobar en les explosions de bombes, en els raigs X de les radiografies, en elements radioactius... ^[20,24]

2.6. Genètica del càncer

Des de l'antiguitat, quan van sorgir els primers casos de càncer, es pensava que aquesta malaltia era completament hereditària. És a dir, es creia que els descendents d'un afectat el tindrien també. En canvi, actualment se sap que el major nombre de càncers descoberts són causat per factors externs que alteren els nostres gens. Es considera una malaltia genètica perquè està causada per canvis en els gens que controlen el creixement i la forma de les nostres cèl·lules. Cal dir que hi ha un petit percentatge de càncers, com el de còlon o el de mama, que són hereditaris ja que afecten els gens de les cèl·lules reproductores. Un gen és una seqüència lineal d'ADN que té la funció de passar els caràcters hereditaris de pares a fills. Normalment, els gens tenen la informació necessària per a fabricar una proteïna específica. Els canvis que hi ha en els gens que codifiquen molècules per controlar la divisió de les cèl·lules o els que vigilen que no hi hagi cap error en la codificació genètica són la major causa del càncer. ^[27]

Hi ha dos grans grups de gens diferents segons la funció que fan a les nostres cèl·lules. Els primers (anomenats oncogèns), són els gens que generen proteïnes estimuladores de la divisió de les cèl·lules o els que ajuden a fer créixer al tumor perquè inhibeixen l'apoptosi. Els segons (anomenats supressors de tumors), conformen els gens que produeixen productes proteics que prevenen la divisió cel·lular i condueixen directament a la mort cel·lular. ^[28]

Molts gens que conformen el nostre cos són protooncogèns. Aquests són responsables de estimular a les nostres cèl·lules amb la finalitat de fer la divisió cel·lular. A més, alguns també controlen l'apoptosi. Quan els protooncogèns pateixen variacions o mutacions en la seva seqüència es transformen en els oncogèns, que poden provocar que la cèl·lula tingui una divisió de manera incontrolada, irregular i desproporcionada. Hi ha uns 100 oncogèns descoberts que poden afavorir l'aparició d'una neoplàsia. La proteïna ras, generada per un d'aquest, es troba mutada en un 25% dels casos de càncer. Per entendre millor aquest concepte es pot fer un símil amb un cotxe. Els protooncogèns serien l'accelerador del cotxe, i només acceleraria si aquests volguessin. Per contra, els oncogèns farien que l'automòbil no necessités accelerador per accelerar, o sigui que avançaria sol. ^[29]

Els gens supressors de tumors tenen moltes funcions importants. Detecten si hi ha senyals de creixement irregular o d'errors genètics en l'ADN de les cèl·lules. En el segon cas, supervisen la reparació d'aquest. També poden induir a la mort cel·lular. Els gens supressors

fan que la cèl·lula es deixi de dividir quan funcionen amb dues còpies a la vegada, ja que es troben en parella. Si qualsevol de les dues còpies fallés, l'altra podria continuar la seva funció però no amb tanta eficàcia. Quan les dues còpies fallen, la cèl·lula ja no pot controlar ni prevenir el creixement excessiu. La proteïna que es troba més afectada és la p53, que té una funció imprescindible dins la cèl·lula. Si féssim l'analogia amb el cotxe, direm que els gens supressors de tumors serien els frens del cotxe. Quan una de les còpies no funcionés correctament, seria com si s'aturés el cotxe només amb el fre de mà. El cotxe encara continuaria frenant però amb menys funcionalitat. Si les dues còpies estiguessin mutades, diríem que el cotxe no podria frenar i per tant acceleraria sense parar. En aquest cas serien les cèl·lules cancerígenes que tindrien una divisió cel·lular incontrolable. [29]

Fa uns 30 anys es va descobrir un nou tipus d'ARN que es diu MicroARN (que s'abreua miARN). És una molècula que només té uns dotze nucleòtids de llarg. El seu procés per arribar fins a miARN té molts passos i generalment la informació prové dels introns¹⁶. El MicroARN pot augmentar o disminuir la funció d'alguns gens.

Molts investigadors han determinat que aquests fragments tenen molta relació amb el càncer (com la detecció o el tractament). [29,30]

Degut que el miARN té la capacitat de controlar l'activitat d'alguns gens, es pot arribar a considerar com a oncogèn o com a gens supressors de tumor, depenent de si disminueixen la velocitat i indueixen a l'apoptosi o si incrementen l'acceleració de la divisió cel·lular.

També, es coneix que les cèl·lules tumorals depenen de la glucòlisi¹⁷ anaeròbica per a sobreviure, això és degut que necessiten molta energia. El mecanisme s'anomena efecte Warburg. A més, les cèl·lules cancerígenes també produeixen àcid làctic en més quantitat, fet que fa que alteri l'homeòstasi¹⁸. S'ha arribat a apreciar que els miARN poden produir l'efecte Warburg i ser còmplice d'accelerar el metabolisme tumoral. [29,30]

Una altra característica del miARN és que pot servir com a biomarcador en les anàlisi de sang ja que han estat relacionats amb la malaltia.

Finalment, un estudi de 2012 va comprovar que la progesterona produïa que les cèl·lules canceroses s'assemblassin a les cèl·lules mare. No obstant això, es va concloure que el causant d'aquest canvi era la eliminació d'un grup de miARN. Actualment, es vol trobar un

¹⁶ **Introns:** Regió de l'ADN que es troba en la seqüència de codificació però que no s'acaba expressant. Normalment, impedeix que la part que codifica pels gens importants quedi afectada per les mutacions.

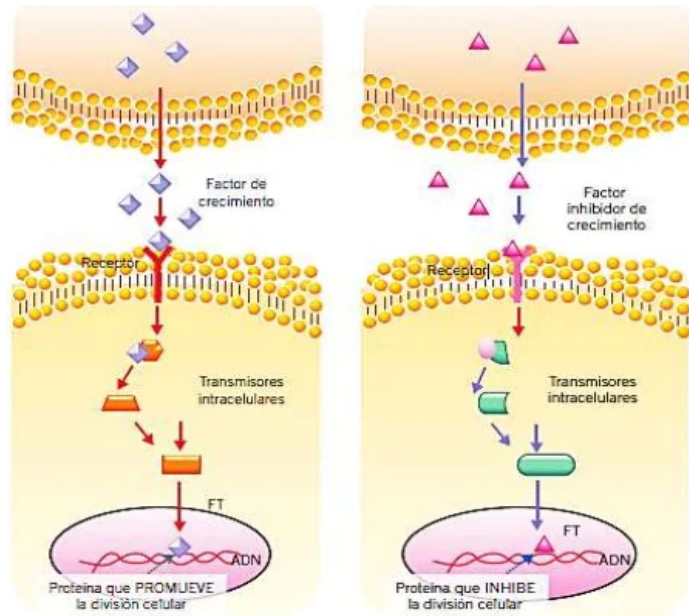
¹⁷ **Glucòlisi:** Degradació anaeròbica dels glúcids (1 molècula de glucosa) en la qual s'obté 2 molècules d'àcid pirúvic i energia en forma d'ATP i ADP.

¹⁸ **Homeòstasi:** Equilibri i estabilitat del metabolisme cel·lular i del medi intern.

tractament que activi aquests miARN amb la finalitat de disminuir l'aparència de cèl·lules mare de les cèl·lules neoplàsiques. [29,30]

No només els gens poden estimular i aturar la divisió cel·lular, sinó que també existeixen unes substàncies químiques externes, normalment provinent de cèl·lules veïnes, que poden complir la mateixa funció dels oncogenes o gens supressors de tumors. Són anomenats factors de creixement (Vegeu imatge 5).

Aquests s'uneixen a receptors específics que activen els transmissors intracel·lulars. Els transmissors activats tenen la capacitat d'entrar al nucli i funcionar com a factors de transcripció per a crear noves proteïnes que inhibeixen o promouen la divisió cel·lular.



Imatge 5. Factors estimuladors i inhibidors del creixement tumoral.^[31]

El cicle cel·lular és un procés molt important que va relacionat amb la divisió de les cèl·lules. Es pot definir com una sèrie organitzada de passos i canvis en la mida de les cèl·lules, a part de la quantitat d'informació genètica i el nombre d'òrgànuls. Comença a partir d'una cèl·lula mare i finalitza quan aquesta s'ha dividit en dues cèl·lules filles idèntiques (si parlem de la mitosi, ja que en la meiosi les cèl·lules filles tenen informació genètica diferent). [32,33,34,35]

El cicle cel·lular de les nostres cèl·lules consta de dues fases:

1. Interfase: És l'etapa que ocupa la major part del temps dels cicles cel·lulars. Hi ha una gran activitat metabòlica ja que es produeix la transcripció i traducció (síntesi de proteïnes) i la cèl·lula duplica el seu material genètic perquè es prepara per la divisió cel·lular. Està dividit en 3 parts (fase G1, S i G2).

1. Fase G1: La cèl·lula té molta activitat bioquímica en la fase G1 ja que es dupliquen la majoria d'òrgànuls cel·lulars. Només hi ha algunes excepcions com el nucli (que està format per la membrana nuclear, l'ADN juntament amb les histones¹⁹ i el nuclèol²⁰).

¹⁹ **Histones:** Proteïnes que conformen l'estructura dels cromosomes.

²⁰ **Nuclèol:** Òrgànul que es troba dins del nucli. La seva funció principal és la síntesi i maduració de l'ARN.

També s'incrementa la mida de la membrana citoplasmàtica i hi ha una ampliació del volum cel·lular.

Quan la cèl·lula es queda sense energia o sense lípids, glúcids i altres molècules necessàries, la cèl·lula passa a una subfase anomenada G0. A la G0, la cèl·lula espera per obtenir els nutrients que necessita per continuar la duplicació cel·lular.

Al final d'aquesta fase, hi ha un punt R o de restricció que controla que la G1 hagi estat correcte. Si no és així, torna a la G0.

2. Fase S (o síntesi): És la fase en la qual la cèl·lula duplica el seu material genètic. El nombre de cromosomes no es duplica sinó que el cromosoma acaba tenint dos cromàtides germanes idèntiques que s'uneixen per un centròmer. A més, es comencen a duplicar els centríols donant lloc a 2 precentrosomes o 4 precentríols.
3. Fase G2: L'ADN es segueix trobant en forma de cromosoma perquè desapareix la membrana nuclear i, com a conseqüència els enzims digestius podrien destruir el material genètic si es trobés en forma de cromatina.

Hi ha un altre punt de restricció que permet passar les cèl·lules que estiguin preparades per passar a la fase M. ^[31,35,36]

Cal dir que quan alguna cèl·lula evita els punts R és molt possible que proliferi i es reproduïxi molt ràpid provocant l'aparició d'un tumor. Un altre factor que explica l'aparició de càncer és que una cèl·lula superi el nombre límit de vegades que pot dividir-se. Pel funcionament correcte, caldria que la cèl·lula entrés a la fase G0 quan portés 50 divisions adquirint l'etapa de senescència²¹. Després, hi hauria la mort programada o apoptosi. ^[29]

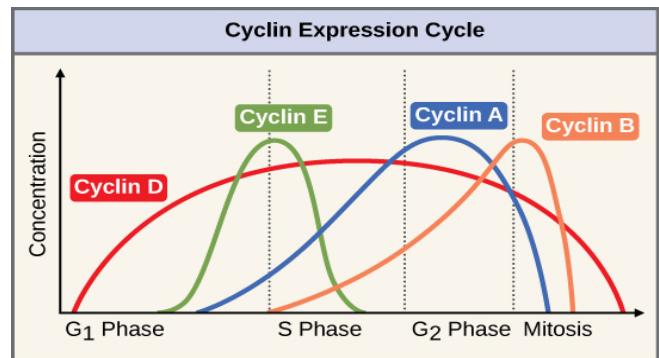
2. Divisió: Període que està compost de la fase M o mitosi (en la qual es divideix el nucli) i la citocinesi (en què es divideix el citoplasma). Es reparteixen els orgànuls i el material genètic equitativament a ambdues cèl·lules filles.

1. Mitosi: Etapa en la qual es divideix el nucli (cariocinesi) i el citoesquelet reparteix els orgànuls i cromosomes. Té quatre fases diferents (profase, metafase, anafase i telofase). Com a la interfase també podem trobar punts de restricció entre la metafase i l'anafase. La finalitat de la mitosi en la divisió cel·lular és créixer en nombre, recuperar-se si ha estat danyada o regenerar-se.
2. Citocinesi: Etapa en la qual es divideix el citoplasma i les cèl·lules filles s'acaben separant. En el cas de les cèl·lules animals, es fa una invaginació en la part central de la cèl·lula mare on es dona l'estrangulació que resulta en les dues cèl·lules filles.

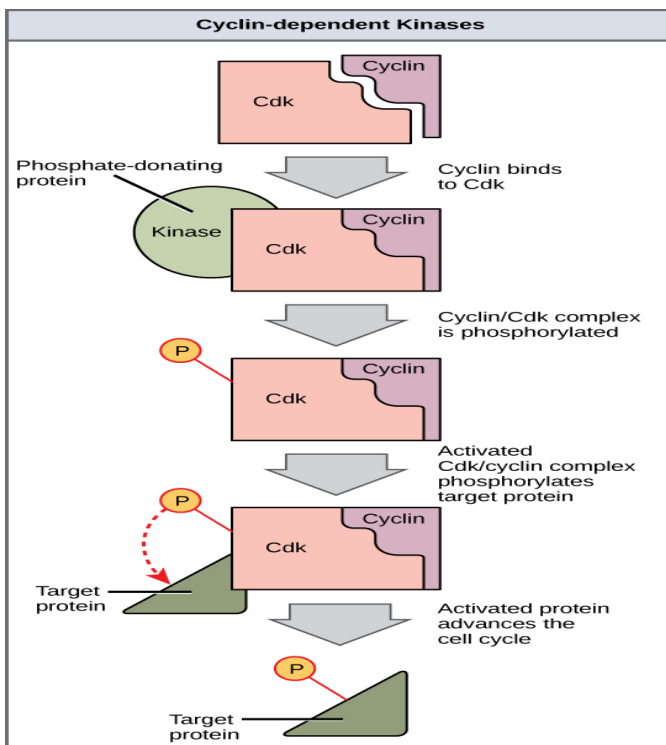
²¹ **Senescència:** Procés en el qual la cèl·lula es fa vella i deixa de dividir-se.

Com s'ha explicat anteriorment, les cèl·lules canceroses poden evitar certs punts de restricció. Generalment, el fet que produeixin tumors ve donat d'errors a la divisió o al cicle cel·lular. Per tant, s'ha d'establir control i seguretat per assegurar-se que la progressió sigui correcta. Per garantir la vigilància, existeixen unes proteïnes que s'anomenen ciclines i CDKs (quinases dependents de ciclines). Aquestes, comproven que el cicle cel·lular funcioni adequadament. Per a que les CDKs s'activin, s'han d'unir a les ciclines. Però no sempre les CDKs es poden activar ja que també estan controlades per factors externs (Vegeu Imatge 6). Això és perquè la cèl·lula es pot trobar en perill per dur a terme la divisió cel·lular (degut la mida, el volum o el nombre d'òrgànuls). [35,37,38]

Habitualment, les CDKs s'activen quan es troben en els punts R o de restricció. Hi ha quinases dependents de ciclines específiques que actuen en cada punt de control, per tant augmenta la seva quantitat. Quan la cèl·lula supera els punts R, els enzims citoplasmàtics ataquen les ciclines i les destrueixen. Com a resultat, ambdues molècules deixen d'estar unides. [35,37,38]



Imatge 6. Cicle d'expressió de les ciclines.[39]



És necessari que la unió entre les CDKs i les ciclines estigui fosforilada. Com totes les quinases les CDKs són enzims que fosforilen altres proteïnes. Aleshores, en el complex de les quinases dependents de ciclines i les ciclines s'incorpora un grup fosfat que activa una certa proteïna. Seguidament, la proteïna fosforitzada fa que la cèl·lula pugui passar al següent fase de la divisió cel·lular (Vegeu Imatge 7). [35,37,38]

Imatge 7. Procés en què s'aconsegueix fosforitzar una proteïna controladora del cicle cel·lular.[40]

2.7. Tractaments contra el càncer

Actualment, com s'ha pogut observar en els gràfics anteriors, els casos de càncer estan augmentant cada vegada més. Això és un problema considerable ja que es necessiten diferents tractaments per tractar aquesta malaltia. No obstant això, gràcies a les noves tecnologies s'estan trobant nous tipus més efectius que els convencionals. Òbviament, les teràpies no tindrien la mateixa funcionalitat sense els diferents professionals de l'àmbit sanitari que les supervisen en cada cas específic.

Cal destacar que curar el càncer significa eliminar totes les cèl·lules que siguin capaces de causar càncer en alguna persona, ja que una única cèl·lula cancerosa pot derivar fins a l'aparició d'un tumor. Les principals modalitats terapèutiques són la cirurgia, la radioteràpia i el tractament farmacològic. A més, el tipus de tractament es específic per cadascú, depèn de les característiques del pacient, del tipus i la fase del càncer.

La cirurgia és la teràpia més antiga per tractar el càncer. Es pot utilitzar com a única opció o es pot combinar amb altres tractaments. La cirurgia és molt efectiva en els tumors sòlids localitzats que estan en fases primerenques. Consisteix en l'extirpació del tumor o tumors, però s'ha d'establir una zona de marge al voltant per assegurar-se de la completa eliminació de totes les cèl·lules tumorals.

La cirurgia no només s'empra per a extirpar el tumor, sinó que es pot usar per a disminuir la mida d'aquest quan pot haver lesions en altres òrgans importants. També, es pot utilitzar com a tractament paliatiu quan el tumor causa dolor i exerceix pressió en els teixits.

A vegades, els ganglis limfàtics s'extreuen amb cirurgia per avaluar l'expansió de la malaltia i reduir la possibilitat d'expansió del càncer.

És necessari mencionar que gràcies a les noves tecnologies hi ha noves formes de tractament quirúrgic que no requereixen el bisturí. Hi ha algunes d'aquestes que encara es troben en estudis clínics. Per exemple, s'està innovant a l'exposició del teixit a baixes i altes temperatures (criocirurgia i hipertèrmia respectivament) i també amb teràpia fotodinàmica (medicaments que reaccionen a certs tipus de llum) i làsers. ^[41,42,43,44]

La radioteràpia és un altre dels tractaments que s'usen freqüentment. La seva eficàcia és gràcies a la radiació, que és un tipus d'energia molt potent que està generada per substàncies radioactives o un accelerador de partícules atòmiques. La radiació és altament eficaç perquè destrueix en primer lloc a les cèl·lules que es divideixen amb més rapidesa i tenen més dificultat per a reparar l'ADN. Per tant, les cèl·lules que més es destrueixen són les

canceroses ja que tenen les característiques anteriorment esmentades. Per altra banda, en algunes ocasions la teràpia no acaba funcionant degut la resistència que presenten les cèl·lules que provoquen càncer.

Hi ha diversos tipus de radioteràpia que s'empren en l'actualitat, però la més utilitzada és l'externa. Consisteix en una màquina que aplica raigs d'energia cap al cos amb una gran intensitat. A més, és un tractament localitzat perquè tracta una part específica del cos. Els rajos poden ser de tres tipus: de fotons, d'electrons o de protons.

Els primers poden arribar fins a tumors que es troben profunds i són difícils d'arribar. No obstant això, els feixos de radiació no s'aturen quan arriben al tumor, sinó que s'escampen pels diferents teixits. Els segons són partícules de càrrega negativa que no poden arribar a tots els teixits, per tant s'apliquen en càncers superficials com els melanomes. Els tercers són partícules carregades positivament que arriben fins a tumors difícils d'arribar. A diferència dels fotons, quan l'energia arriba al tumor no s'escampa pels altres teixits i per tant ajuda a disminuir la toxicitat.

Per utilitzar aquesta forma de radioteràpia, els metges s'ajuden de tecnologies d'imatge per saber on han de dirigir la radiació. Algunes són la tomoteràpia o radiació tridimensional.

Un altre tipus de radioteràpia és la interna o braquiteràpia. Consisteix en aplicar càpsules, que contenen radioactivitat en el seu interior, a prop o dins del tumor. És un tractament molt específic i d'alta potència que escampa poca toxicitat als teixits del voltant.

Per acabar, hi ha un tractament anomenat radioteràpia intraoperatòria en el qual s'administra energia ionitzant en una àrea concreta mentre s'està operant al pacient amb la finalitat de controlar el tumor. ^[41,42,43,44]

La quimioteràpia és un altre tractament que s'utilitza per a tractar el càncer. És un dels més usats i a diferència dels dos anteriors la seva eficàcia es basa en l'administrament de medicaments antineoplàstics²² al pacient. Els fàrmacs tenen la capacitat d'eliminar les cèl·lules que es multipliquen amb més rapidesa i sense control, en aquest cas, destrueixen les cèl·lules canceroses. És una teràpia, que malauradament, també afecta a cèl·lules del nostre cos que es divideixen amb molta velocitat (com les de la medul·la òssia o les de l'intestí). Avui en dia, les noves investigacions estan intentant trobar fàrmacs més selectius per evitar els possibles efectes secundaris que es poden desenvolupar. La quimioteràpia es pot administrar com a únic tractament o es pot aplicar com una combinació dels altres.

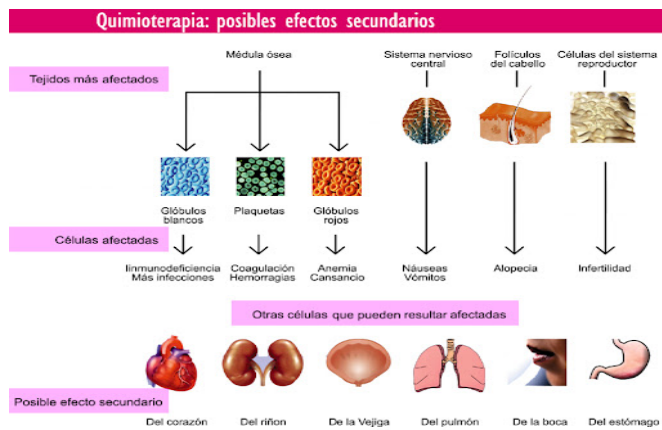
Com a conseqüència dels efectes secundaris i per a millorar l'eficàcia s'han començat a usar fàrmacs diana que tenen la funció d'atacar a llocs específics. Per exemple, aturen la divisió

²² **Medicaments antineoplàstics:** Fàrmac que prevé de l'aparició de tumors de teixit anormals.

cel·lular i impedeixen que les cèl·lules canceroses afectin l'estructura de les cèl·lules sense alteracions. A més, alguns medicaments impedeixen que es creïn els vasos sanguinis que proporcionen els nutrients i oxigen necessaris a les cèl·lules cancerígenes.

Malgrat tenir bastants beneficis també té considerables inconvenients. La seva eficàcia es veu limitada ja que no es pot aplicar un gran nombre d'administracions dels fàrmacs i tampoc es pot fer molt llarga la durada del tractament. Addicionalment, els pacients també queden

bastant afectats, durant i a posteriori de la quimioteràpia, degut als efectes secundaris que pot causar. Alguns d'aquests poden ser les nàusees o els vòmits, també disminueix considerablement el nombre de cèl·lules sanguínies (fet pel qual els pacients acaben patint anèmia) i l'elevada fatiga o cansament (Vegeu Imatge 8).^[41,42,43]



Imatge 8. Possibles efectes secundaris de la quimioteràpia en els pacients.^[45]

La hormonoteràpia és un altre tractament en què s'utilitzen medicaments per a modificar les hormones²³ i reduir el creixement d'alguns tumors. Aquests eviten la seva síntesi i alteren el seu comportament natural davant les cèl·lules canceroses. Ara bé, la teràpia només funciona si les cèl·lules tumorals presenten receptors a la seva superfície, això és perquè les hormones estimulen el creixement del càncer quan s'uneixen amb aquests. Per aquesta raó s'intenten bloquejar les seves funcions. Els càncers que majoritàriament es tracten amb la hormonoteràpia són el de mama i el de pròstata, encara que el d'ovari o el d'endometri²⁴també.^[46,47]

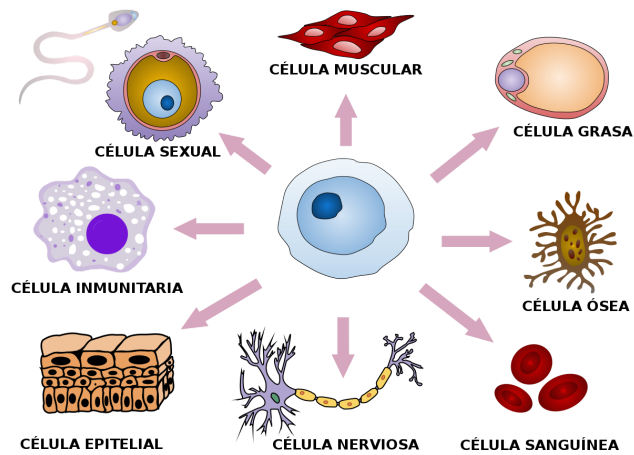
El trasplantament amb medul·la òssia és un procediment que consisteix en substituir les cèl·lules mare dels pacients que hagin quedat afectades per les altes dosis de quimioteràpia o radioteràpia. Les cèl·lules mare són cèl·lules immadures que quan maduren es poden especialitzar en altres cèl·lules del nostre cos o bé poden tornar a ésser mare. Majoritàriament es troben en l'interior dels ossos de la sang com la pelvis, però també es

²³ **Hormones:** Substàncies químiques (generalment proteïnes) que són elaborades per les glàndules del nostre cos que actuen com a missatgers intracel·lulars que canvien el metabolisme de les cèl·lules. Algunes hormones són la insulina o els estrògens.

²⁴ **Endometri:** Mucosa o teixit que recobreix l'interior de l'úter.

poden trobar, amb menys quantitat, per la sang. Són essencials ja que a partir d'aquestes es creen les cèl·lules sanguínies (glòbuls vermells, blancs i plaquetes) que necessitem per a viure (Vegeu Imatge 9). Els donants poden ser el mateix pacient (abans del tractament), familiars o persones que tinguin el mateix tipus de sang.

[43]



Imatge 9. Especialitzacions de cèl·lules mare.^[48]

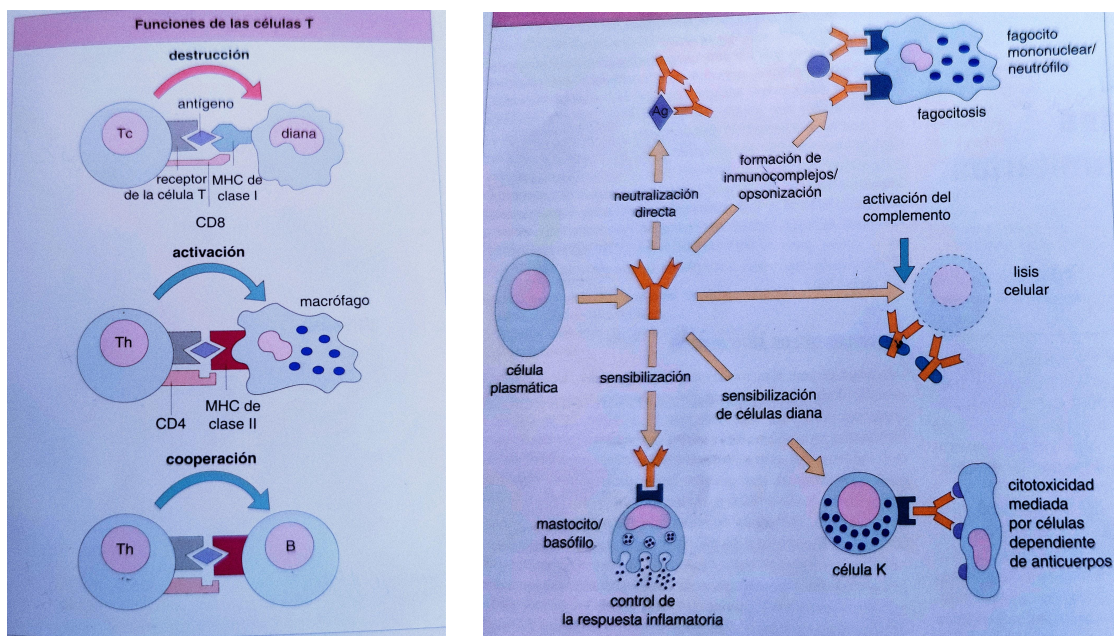
La immunoteràpia és un tractament personalitzat ja que ajuda al mateix sistema immunitari a reconèixer i atacar les cèl·lules cancerígenes. El nostre sistema immunitari està compost pels glòbuls blancs i pels òrgans i vasos limfàtics. És una de les teràpies més noves que tenim al nostre abast. Per aquesta raó només es pot aplicar en certs càncers i s'està investigant per aplicar-ho en tots. Hi ha diversos tipus d'immunoteràpia que s'utilitzen avui en dia com els anticossos monoclonals, els immunomoduladors, la teràpia gènica o inhibidors de punts de control immunitari.^[41,42,43]

Per acabar, cal dir que tots els anteriors mencionats van ser fa temps assajos clínics. Un assaig clínic és una investigació mèdica d'una nova teràpia que es realitza a pacients de manera voluntària. Els assajos poden comparar dos tractaments diferents per veure quin dels dos és més efectiu. També, serveixen per donar una última oportunitat als pacients que no hagin tingut cap millora amb els altres ja existents. Òbviament, aquests estudis es realitzen amb molt control i s'intenta sempre garantir la seguretat de les persones. Els estudis clínics són primordials perquè bastants països no permeten l'ús de nous medicaments o fàrmacs si no hi ha una eficàcia i mesures de seguretat establertes.^[44]

2.8. Tipus de càncers

Existeixen molts tipus de càncers diferents. Es calcula que n'hi ha més de 200 i cadascun té característiques específiques que els fa diferents a la resta (la causa, l'evolució i el tractament que s'aplica per a tractar-lo). És per això que en aquest TR només s'explicarà els tipus de càncer més importants relacionats amb la immunoteràpia CAR-T, que són majoritàriament els de les cèl·lules B. Per tant, a continuació s'informarà sobre els limfomes de Hodgkin i no Hodgkin, leucèmies (concretament la limfoblàstica aguda), càncer de pròstata i de mama.

- **Limfomes:** Són un tipus de càncer que afecta específicament als glòbuls blancs (leucòcits) anomenats limfòcits. Els limfomes poden desenvolupar-se a partir dels limfòcits B i T. Els limfòcits T participen en la resposta immunològica cel·lular (Vegeu Imatge 10). Són capaços de reconèixer i destruir els agents infecciosos (majoritàriament virus) i els teixits conformats per cèl·lules tumorals. La lletra T s'atribueix perquè maduren al tim²⁵. D'altra banda, els limfòcits B actuen en la resposta immunitària humoral (Vegeu Imatge 11). Identifiquen als antígens mitjançant els anticossos. També, poden convertir-se en plasmòcits (que creen anticossos) i poden ser cèl·lules presentadores d'antígens. Ambdós tipus de limfòcits són primordials pel sistema immunitari adaptatiu.



Imatge 10 i 11. a) Diferents funcions de les cèl·lules T **b)** Paper dels anticossos (produïts per cèl·lules B) en la resposta immunitària humoral. ^[49]

²⁵ **Tim:** Òrgan del sistema limfàtic ubicat a la cavitat toràcica on maduren els limfòcits T.

Els limfòcits es mouen pel torrent sanguini però també ho fan a través dels vasos limfàtics. En la llarga xarxa de vasos limfàtics podem trobar els ganglis limfàtics. En aquest òrgan es filtren i s'eliminen les cèl·lules mortes o canceroses gràcies a la gran concentració de limfòcits que hi ha. Quan els limfòcits es tornen neoplàsics es poden disseminar per la medul·la òssia, la melsa i la sang o poden romandre en un únic gangli. Existeixen dos tipus: Limfoma de Hodgkin i de no Hodgkin (que és més freqüent).^[47]

El limfoma de Hodgkin és una proliferació maligna del sistema limfàtic que principalment afecta els teixits dels ganglis limfàtics, el fetge, el tim i les amígdales. La principal característica fisiològica és la transformació que es dona en la clonació dels limfòcits B i com a resultat deriva en les cèl·lules multinuclears de Reed-Sternberg. Els símptomes són la febre, sudoracions nocturnes i la pèrdua de pes sobtada. El principal mètode de diagnòstic és la biòpsia dels ganglis limfàtics. Hi ha dos tipus ben diferenciats de limfomes de Hodgkin.

El primer és el limfoma de Hodgkin clàssic (cHL en anglès), en què les cèl·lules canceroses s'anomenen Reed-Sternberg. Els ganglis limfàtics es troben més engrandits degut a la inflamació que causen els leucòcits que es troben al voltant d'aquestes cèl·lules neoplàsiques. Hi ha 4 subtipus diferents de cHL que depenen de la infiltració del càncer en els ganglis. L'altre tipus és el limfoma de Hodgkin amb limfòcits nodulars predominants (NLPHL en anglès). Les cèl·lules d'aquest tipus es caracteritzen per ser més grans i són variacions de les cèl·lules de Reed-Sternberg. La principal diferència és que en el NLPHL s'expressa la proteïna CD20 que causa un creixement més ràpid del càncer i per tant requereix un tractament totalment diferent.^[50]

Els limfomes no Hodgkin (NHL en anglès) són un grup molt heterogeni de trastorns que es caracteritzen per la proliferació de cèl·lules limfoides malignes en el sistema limfàtic. La principal diferència que té si el comparem amb el limfoma de Hodgkin és la major probabilitat que existeix de disseminació del càncer pels altres teixits de l'organisme en el moment de ser diagnosticat. Un 90% dels NHL s'originen en limfòcits B, mentre que la resta ho fa en els limfòcits T i les cèl·lules Natural Killer. Depenent de l'etapa de diferenciació en què es trobi el limfòcit quan ocorre el procés neoplàsic, la determinació de la malaltia i la seva evolució seran distintes.

Els limfomes no Hodgkin es poden comparar segons la velocitat del creixement i propagació. Els limfomes indolents o d'escassa malignitat creixen i es propaguen lentament, normalment responen correctament al tractament administrat. Els limfomes agressius proliferen amb més rapidesa i per tant necessiten ser tractats amb immediatesa. ^[51,52]

A més, al 2016 la OMS (Organització Mundial de la Salut) va determinar un sistema de classificació pels limfomes. Els agrupa segons el tipus de limfòcit on va començar el càncer, l'aparència del limfoma quan s'observa en el microscopi, les característiques dels cromosomes de la cèl·lula limfàtica i les diferents proteïnes de membranes que es troben a la superfície de la cèl·lula. ^[52]

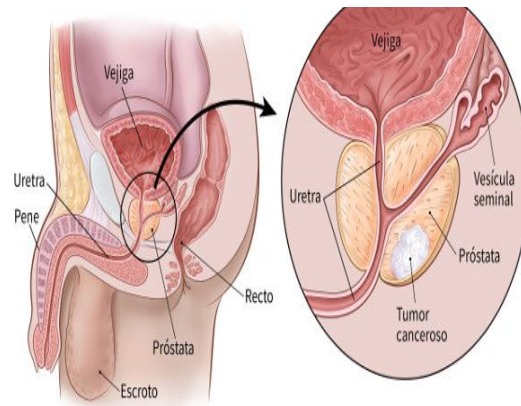
- Càncer de pròstata: El càncer de pròstata és el segon càncer que causa més mortalitat entre el gènere masculí. La pròstata és una glàndula que es troba sota la bufeta i davant del recte. La principal funció que desenvolupa és la producció d'un líquid que forma part del semen. Està comprovat que l'aparició d'aquest càncer pot estar relacionada amb l'herència, ja que hi ha gens que incrementen el risc de patir-lo (BRCA1 i BRCA2). És un tipus de càncer que creix molt lentament i per tant els símptomes poden tardar dècades fins a aparèixer. Per exemple, hi ha hagut pacients que van morir exempts de malalties i durant la realització de l'autòpsia els metges van descobrir que tenia càncer de pròstata. Els primer símptomes, casualment, poden fer confondre aquesta neoplàsia per una hiperplàsia²⁶ benigna. Això és degut perquè ambdues malalties produeixen dificultat i molèsties a l'hora d'orinar. Generalment, el tumor no tendeix a disseminar-se. Això no obstant, si hi ha metàstasi és molt probable que es doni en els ossos i en els ganglis limfàtics. ^[53,54]

Le principals maneres de detecció són a partir de la detecció del tumor a través del recte i realitzant un anàlisi de sang del PSA (antigen prostàtic específic).

La pròstata està diferenciada anatòmicament en tres zones diferents (Vegeu Imatge 12). La primera és la zona central, on es troben els conductes per on es produeix l'ejaculació. La segona es la zona de transició, on es produeix la hiperplàsia benigna.

²⁶ **Hiperplàsia:** Increment en la quantitat d'un teixit per l'augment del nombre de cèl·lules, però que conserven la seva funció i la seva mida.

La última és la perifèrica, on és més fàcil que es desenvolupi el càncer. La majoria dels càncers de pròstata són adenocarcinomes, que es desenvolupen en cèl·lules glandulars²⁷. [54]



Imatge 12. Càncer de pròstata.^[55]

- Càncer de mama: El càncer de mama s'origina quan les cèl·lules mamàries es comencen a dividir sense control. Per tant, s'acaben creant tumors que es poden detectar palpant la zona del pit. Ara bé, moltes d'aquestes masses son benignes i no acaben tenint més complicació. Això sí, en ambdós casos s'hauria d'anar al metge per a fer estudis i determinar la naturalesa del bony. [56]

El seu origen pot donar-se en distintes parts del pit. Pot començar en els conductes ductals, que són tubs encarregats de portar la llet als mugrons. També, en els lòbuls, glàndules productores de llet. Així mateix, es pot iniciar en el teixit fibrós i adipós del voltant de la mama.

Si el càncer s'inicia en els conductes s'anomena carcinoma ductal. Pot ser in situ (no es dissemina a altres teixits) o invasiu (es propaga a altres teixits). Si comença en els glòbuls rep el nom de carcinoma lobular invasiu. Hi ha altres tipus de càncers com la malaltia de Paget²⁸, però són menys freqüents.

Hi ha diferents característiques diferenciadores dels càncers de mama que permeten el professional sanitari administrar un tractament més adient. [56]

Poden presentar receptors d'estrogen (RE) o receptors de progesterona (RP). Les neoplàsies que tenen aquestes característiques depenen de les hormones per la proliferació de les cèl·lules canceroses. Per tant, el tractament més coherent en aquest cas és la hormonoteràpia. S'ha observat que la major afecció es troba en les dones que ja han passat la menopausa.

²⁷ **Cèl·lules glandulars:** Cèl·lules productores del líquid de la pròstata que s'agrega al semen.

²⁸ **Malaltia de Paget:** Malaltia que no s'ha de confondre amb la malaltia de Paget òssia. Càncer mamari del pit que s'estén fins als mugrons i, normalment el pacient també té un carcinoma ductal. És fàcil de detectar ja que hi ha nombroses manifestacions dermatològiques (color taronja i irritació).

Altres depenen d'un gen anomenat *receptor 2 del factor de creixement epidèrmic humà* (HER2 en anglès) per poder escampar-se. El gen HER2 produeix la proteïna HER2 que és necessària per el creixement de les cèl·lules tumorals. ^[57]

Com en el càncer de pròstata, els canvis en els gens BRCA1 i BRCA2 també dictaminen el desenvolupament del càncer. Aquests gens es poden detectar mitjançant diversos estudis i proves perquè està demostrat el caràcter hereditari d'aquests. ^[57]

Considerant que és un dels càncers que més morts causa entre la població mundial, hi ha noves tecnologies de detecció per actuar precoçment i procurar les menys complicacions possibles. De la mateixa manera, els tractaments estan avançant considerablement per a poder abordar-lo de moltes maneres. Fins i tot, s'està estudiant la possibilitat d'implementar la immunoteràpia CAR-T. ^[58,59]

- **Leucèmies/LLA:** Les leucèmies són un tipus de malalties malignes del sistema hematopoètic que afecten la medul·la òssia i els ganglis limfàtics. Es caracteritzen per la proliferació incontrolada de cèl·lules de la sang (leucòcits, hematies²⁹ i plaquetes).

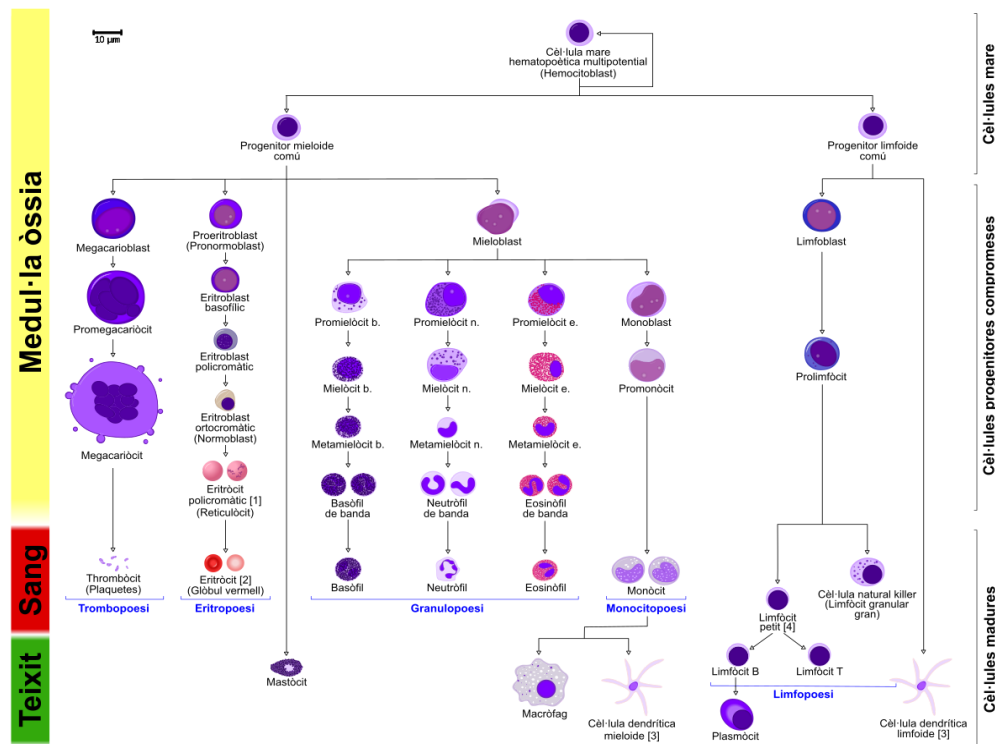
Al començament, es produeix un cúmul d'un gran número de glòbuls blancs en el seu lloc d'origen. Posteriorment, les cèl·lules s'infiltra en els òrgans hematopoètics. Mentre que el nombre de cèl·lules canceroses incrementa, la quantitat de cèl·lules normals disminueix. Conseqüentment, s'alliberen leucòcits immadurs que debiliten el sistema immunitari i fan que l'organisme sigui més susceptible a infeccions. Quan la neoplàsia es trobi molt avançada, la presència de cèl·lules normals serà quasi nul·la i predominaran les cancerígenes. ^[60]

Depenent de l'agressivitat i del grau de diferenciació/immaduresa de les cèl·lules neoplàsiques, les leucèmies es divideixen en dos tipus diferents. Les leucèmies agudes es caracteritzen per un conjunt de cèl·lules hematopoètiques immadures i amb naturalesa blàstica³⁰ en la medul·la òssia. És un tipus de leucèmies que apareix sobtadament i si no es tracten ràpidament poden derivar en la mort. ^[60,61]

²⁹ **Hematies:** Eritròcits o glòbuls vermells.

³⁰ **Naturalesa blàstica:** De naturalesa dels blasts, que són els precursors dels leucòcits. Els limfoblasts són precursors dels leucòcits; els mieloblasts, dels monòcits i granulòcits.

Per altra banda, les leucèmies cròniques s'identifiquen per la proliferació maligna de leucòcits morfològicament madurs (segueixen sent immadurs, però no tant com els de les leucèmies agudes). La principal diferència és que s'instauen més lentament i sense causar tants símptomes. També, la infiltració de cèl·lules malignes a la medul·la òssia no es tan veloç. Això s'explica per la maduresa que tenen els glòbuls blancs (Vegeu Imatge 13)^[60]



Imatge 13. Hematopoesi humana (procés de maduració de les cèl·lules sanguínies).^[62]

Hi ha molts tipus de leucèmies, però en aquest TR s'explicaran les que tinguin més relació amb el tractament. En concret, seran la leucèmia mieloide aguda i la leucèmia limfoblàstica aguda (en adults i infants).

La leucèmia mieloide aguda (LMA) és un tipus de leucèmia caracteritzada per la divisió sense control dels mieloblasts. S'ha de tenir en compte que el major nombre de casos es dona en persones més grans de 20 anys, però a partir dels 50 és quan incrementa la incidència.^[63]

La LMA comença en la medul·la òssia³¹, però freqüentment es dissemina cap a la sang. Quan això ocorre, és molt probable que els glòbuls vermells i les plaquetes

³¹ **Medul·la òssia:** Part tova de l'interior dels ossos on es produeixen les cèl·lules sanguínies.

disminueixin la seva concentració en sang. Aquesta disminució de les cèl·lules sanguínies provoquen anèmia (degut la manca de glòbuls vermells i per tant hemoglobina, el ferro es troba en baixa quantitat) i nombrosos sagnats o morats (ja que hi ha poques plaquetes). Hi ha estudis que classifiquen les leucèmies segons les anomalies cromosòmiques de les seves cèl·lules. Entre aquestes es troben les delecions, addicions o inversions cromosòmiques i translocacions del material genètic entre dos cromosomes. [61]

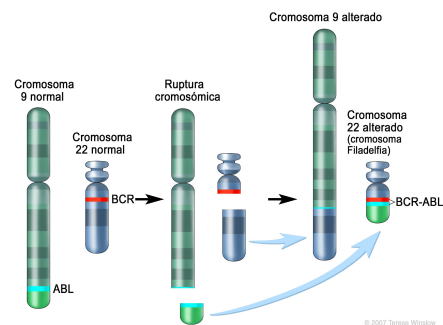
La leucèmia limfoblàstica aguda (LLA) és un tipus de leucèmia que es caracteritza per la proliferació descontrolada dels limfoblasts. Com la LMA, s'inicia en la medul·la òssia. És molt probable que hi hagi metàstasi i quedin afectats els testicles o el sistema nerviós central. Hi ha vegades en què es pot disseminar fins a la medul·la espinal i el cervell. És important destacar que la màxima incidència es troba entre els 2 i 15 anys d'edat. No obstant això, la LLA suposa un 40% de tots els casos de leucèmies en adults. [63]

Hi ha vegades que es confon amb els limfomes perquè ambdós tipus de càncer afecten els limfòcits. La LLA afecta principalment a la medul·la i a la sang, mentre que els limfomes generalment ho fan als ganglis limfàtics i altres òrgans. Com pot existir dificultat per determinar-los correctament, es fa un estudi de la medul·la òssia. Si un 20% d'aquesta està conformada per limfoblasts, es considera leucèmia.

S'ha detectat que en aquest tipus de leucèmia es troba un tipus de translocació coneguda com "cromosoma Filadelfia" en la qual hi ha una anomalia entre els cromosomes 9 i 22 (Vegeu Imatge 14).

És necessari comunicar que és una leucèmia amb moltes possibilitats de tractament.

Es pot tractar amb quimioteràpia en diferents fases, també es pot tractar amb radioteràpia si afecta el sistema nerviós central. Si no funcionés cap dels anteriors esmenats, es podria tractar amb trasplantaments de cèl·lules mare. Com a última opció o si hi hagués una recaiguda per part del pacient, es podria tractar amb immunoteràpia CAR-T. [63]



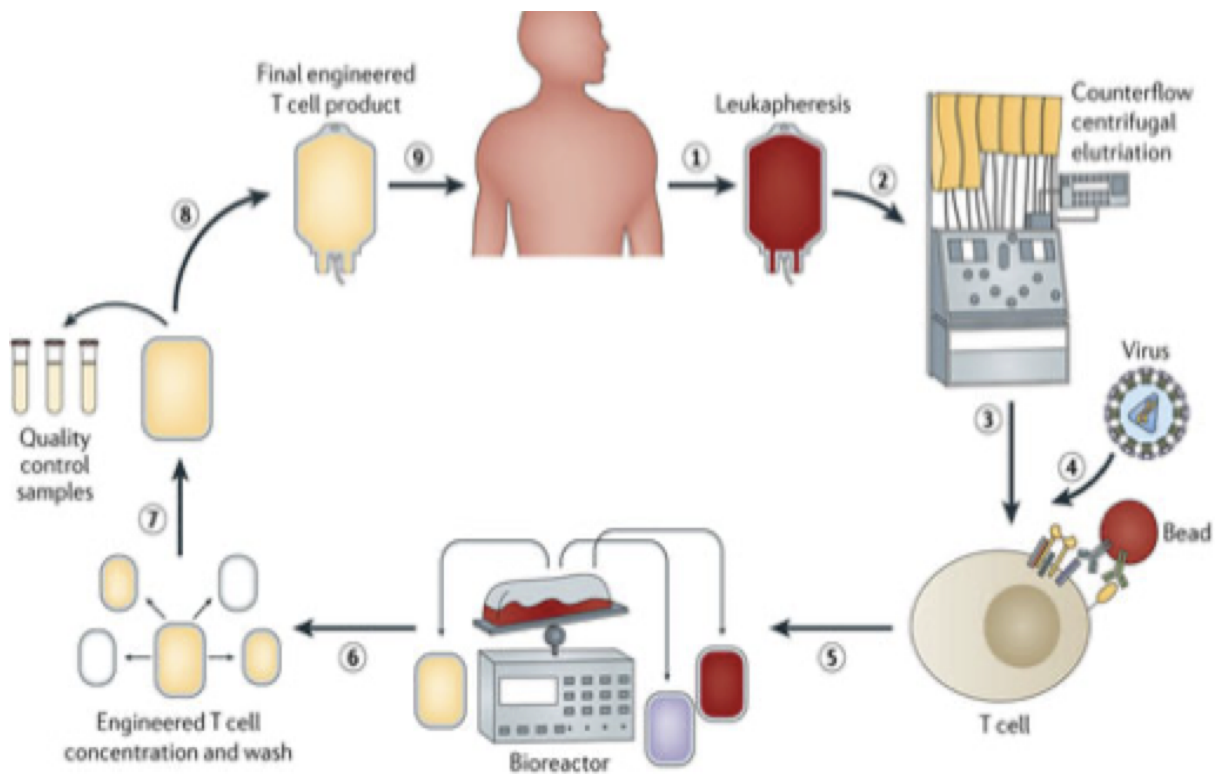
Imatge 14. Translocació "cromosoma Filadelfia". [64]

3. Part experimental/explicativa

3.1. Introducció a la teràpia CAR-T

La immunoteràpia CAR-T és un tractament, bastant recent, que utilitza les nostres pròpies cèl·lules per destruir les cèl·lules neoplàsiques. Es pot considerar una teràpia personalitzada ja que només es podran utilitzar les cèl·lules modificades amb el pacient que les ha donat. Bàsicament, consisteix en modificar els limfòcits T de l'afectat perquè tinguin la capacitat d'atacar les cèl·lules leucèmiques que presentin l'antigen CD19 (en el cas de LLA-B). [65]

Com a introducció, la teràpia consta de diverses fases diferenciades (Vegeu Imatge 15). Primerament, hi ha un gran període de temps on es segueixen una sèrie de tràmits burocràtics per acceptar al pacient a la teràpia. A més, cal dir que hi ha molts requisits mèdics que són estrictes. Seguidament, si el malalt ha estat acceptat, se'l sotmetrà a l'afèresi o leucoafèresi que es un procés mitjançant el qual s'extreuen glòbuls blancs (que inclouen els limfòcits T). A continuació, es modifiquen genèticament aquests limfòcits T i es multipliquen. En penúltim lloc, es prepara al pacient amb una quimioteràpia prèvia perquè l'infusió de les cèl·lules sigui més efectiva. Finalment, s'avalua i es fa un seguiment al pacient per veure la seva evolució i determinar si el tractament actua correctament. [65,66,67,68]



Imatge 15. Procés complet de la immunoteràpia CAR-T.[69]

Aquesta immunoteràpia està conformada per tres teràpies avançades diferents: la mateixa immunoteràpia, la teràpia cel·lular i la teràpia gènica. És una teràpia gènica perquè els limfòcits es modifiquen; és una teràpia cel·lular ja que es considera un fàrmac “viu” que s’introdueix al pacient; és immunoteràpia, doncs són les cèl·lules del malalt les tractades. [65]

És necessari fer un aclariment envers els tipus de CAR-T que existeixen. N’hi ha dos ben diferenciats que tenen diferents característiques. Uns són els comercials, mentre que els altres són els acadèmics o els assaigs clínics. No obstant això, el CAR-T que s’empra a l’Hospital Clínic, que és el que explicaré, és un “assaig clínic” que degut als seus excel·lents resultats ha estat declarat excepcionalment com a medicament autoritzat per *La Agencia Española del Medicamento y Productos Sanitarios (AEMPS)*. [2]

Es pot concloure que el tractament ARI-0001 és un OMG (organisme modificat genèticament). Això significa que és un organisme (limfòcits T) modificat utilitzant eines d’enginyeria genètica.

3.2. Selecció de pacients per a la immunoteràpia CAR-T (ARI-0001)

Com ja s'ha mencionat a la introducció, hi ha un gran procés de selecció per determinar els pacients que poden ser tractats i els que no. Això passa perquè el tractament és d'elevat cost i per tant, els malalts han d'estar en unes condicions "mínimament sanes" per a poder ser escollits. A més, aquesta immunoteràpia involucra molts departaments de medicina: virologia, immunologia, hematologia...

Primerament, cal clarificar que els CAR-T comercials poden ser administrats a 8 hospitals més arreu d'Espanya, però el CAR-T ARI-0001 només pot ser aplicat a l'Hospital Clínic de Barcelona (HCB). Per aquesta raó, els hospitals de les altres comunitats autònomes (CCAA) amb possibles aspirants al tractament han d'enviar sol·licituds per poder ser valorats per un grup de professionals del HCB. [2]

Uns dels principals requisits per l'acceptació a aquesta immunoteràpia és el fet que moltes línies de tractaments previs no hagin funcionat i hi hagi hagut una recaiguda. Per exemple, hi ha pacients en els quals la quimioteràpia (amb diferents tipus de fàrmacs), la radioteràpia, la donació de cèl·lules mare i la teràpia (amb anticossos monoclonals i inhibidors de tirosina cinasa³²) no tenen cap efecte.

Com a curiositat, existeix la possibilitat que la leucèmia limfoblàstica aguda es dissemini a l'encèfal i la medul·la espinal. Per tant, la quimioteràpia s'injecta directament a l'àrea afectada (n'és un exemple clar el líquid cefaloraquidi). Si s'ha de col·locar a l'espai intratecal es fa a partir de la columna vertebral o el reservori d'Ommaya, que és un aparell cupular que transporta els medicaments cap al cervell.

L'edat és un altre factor molt important. En aquest sentit, es segueix una legislació molt estricta. És a dir, hi ha teràpies CAR-T que estan dirigides a pacients joves de fins a 25 anys, això vol dir que si sobrepases aquest límit per un dia ja no pots ser acceptat i per tant, el pacient hauria de buscar un altre tractament per a persones majors de 25 anys. Aquesta mesura és deguda al fet que durant l'època d'assaig clínic només es tracten malalts fins a una certa edat i, els hospitals no es poden arriscar a un resultat no desitjat. No obstant això, hi ha una petita "excepció" que s'explicarà posteriorment.

³² **Inhibidors de tirosina cinasa:** Són inhibidors que bloquegen l'enzima tirosina cinasa. Aquesta produeix que les cèl·lules mare es converteixin en els glòbuls blancs que el càncer necessita per desenvolupar-se.

A continuació, es procedirà a l'explicació del llarg procés mitjançant el qual es seleccionen els possibles aspirants al tractament:

1. Sol·licitació o explicació de la immunoteràpia CAR-T al pacient. En el cas de ser d'una altra comunitat autònoma és possible que el doctor no sàpiga de l'existència de la teràpia. Per tant, el pacient pot haver buscat informació prèviament, i durant la citació mèdica pot explicar-la. També, pot ser que sigui el doctor qui ho comuniqui al malalt. En el pitjor dels casos, el doctor pot decidir no realitzar els tràmits ja que segons el seu criteri no sigui una opció viable.
2. Si el doctor decideix prosseguir amb el procés, es posa en contacte amb l'hospital destinatari (en aquest cas l'Hospital Clínic de Barcelona). A més ha de demanar la "*Solicitud de valoración por el grupo de expertos en la utilización de medicamentos CAR a nivel SNS*", que és un document de la Secretaria General de Salut i també una sèrie de proves amb la finalitat que els metges de l'HCB puguin saber aproximadament l'estat de salut del pacient .

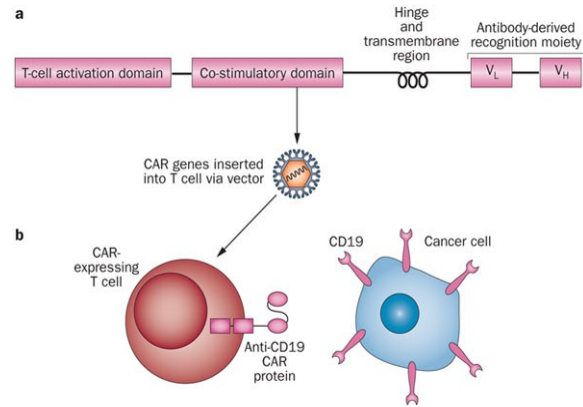
El document en qüestió consta de diversos requisits. Primerament, s'ha d'aclarir quin tipus concret de càncer té l'afectat, si ha tingut recaiguda i amb quantes línies de tractament s'ha sotmès. Seguidament, s'ha de declarar que el pacient es trobi amb bon estat funcional. A més, s'ha de clarificar que el malalt no pugui optar a cap altre opció de fàrmac. En el cas que els cromosomes del pacient fossin "Filadelfia", el tractament d'ITK³³ hauria d'haver fracassat en dues ocasions (exceptuant que hi hagi intolerància o contraindicació de l'utilització dels mateixos).

A continuació, s'ha d'indicar que les cèl·lules tumorals del pacient expressin l'antigen CD19 (relacionat amb la LLA) (Vegeu Imatge 16). Tot seguit, cal dir que el pacient no és VIH+, no té hepatitis B i C, no s'ha tractat anteriorment amb una altra immunoteràpia CAR-T, no presenti síndromes associats a la medulla espinal. El document descriu que no es pot iniciar el tractament si hi ha altres neoplàsies presents o en el cas de les dones en edat fèrtil o embarassades, que no estiguin prenent mètodes anticonceptius.

Cal destacar que si la LLA s'expressa en una forma que no és la més habitual, el pacient no pot procedir a l'aplicació de la immunoteràpia. Un cas és quan la leucèmia limfoblàstica

³³ **ITK**: Inhibidors de tirosina cinasa.

aguda es dissemina al sistema nerviós central. Aquest fet anul·laria l'eficàcia del tractament i per això s'intenta tractar l'afecció lateral. Un altre cas es dona quan la LLA es manifesta de manera diferent (en forma de bonys que es troben per tot l'organisme). Si el pacient té la manifestació de la neoplàsia mencionada anteriorment no podrà ser escollit.



Imatge 16. Limfòcit T, amb el gen CAR inserat, detectant una cèl·lula tumoral.^[70]

- Quan el document s'ha enviat als professionals de l'Hospital Clínic de Barcelona i donen el vistiplau, el pacient s'ha de dirigir a Barcelona per a tenir una primera entrevista amb els hematòlegs involucrats en la teràpia. En aquesta primera visita, el doctor explica resumidament el procés i dona l'opció d'aclarir els possibles dubtes que hi hagi. Convé fer ressaltar que també es duu a terme una punció lumbar, més anàlisis, una aspiració de medul·la òssia i biòpsia.

Una punció lumbar és un examen mèdic que serveix per agafar una mostra de líquid cefalorraquidi de la columna vertebral. Quan s'aconsegueix extreure, es procedeix a examinar el líquid sota el microscopi per determinar les cèl·lules leucèmiques disseminades al sistema nerviós central. Així es pot mesurar la gravetat de la neoplàsia.

Una aspiració de la medul·la òssia consisteix en insertar una agulla buida en el maluc o l'estèrnum per extreure una mostra d'aquesta substància. De la mateixa manera que en la punció lumbar, s'observa al laboratori per saber si hi ha cèl·lules tumorals.

Les anàlisis també són importants ja que permeten veure el nivell en sang dels leucòcits, plaquetes i hematies. Els últims dos són importants ja que es veu l'afectació de la leucèmia en el funcionament usual del nostre organisme. Generalment, si el nivell d'eritròcits i trombòcits³⁴ és molt baix significa que les cèl·lules anormals han ocupat gran part de la medul·la. Cal mencionar que hi ha hagut casos en què els marcadors tumorals de les anàlisis han estat nuls. És a dir, no s'han detectat antígens (com si el pacient no tingués leucèmia, però sí que en té). Pot passar pels mecanismes d'evasió de les cèl·lules tumorals explicats en el punt 2. En aquest cas es produeix la petita "excepció" esmentada prèviament, que

³⁴ **Trombòcits:** Plaquetes.

s'anomena fer el tractament per "compassió". Això significa que la teràpia no seguirà la legislació del medicament autoritzat per la AEMPS. En canvi, es tractaria al pacient com si fos un assaig clínic ja que pot ser acceptat sense complir tots els requisits.

4. Després d'aquest pas ja es procediria a la següent fase del procés, que seria la leucoafèresi. Es duria a terme una setmana després (aproximadament) a partir de l'entrevista feta a l'Hospital Clínic de Barcelona.

Durant la part pràctica del treball es contaràn diferents experiències de les visites a l'HCB que vaig tenir oportunitat de veure. Aquestes anècdotes les aniré redactant durant la part pràctica/explicativa depenent de la part del tractament.

En un dels dies en què vaig poder anar, gràcies al Dr. Valentín, vaig estar a la consulta de diferents pacients que eren tractats per la immunoteràpia CAR-T. Una de les afectades és una dona jove d'uns 30 anys aproximadament, provinent de Salamanca, que pateix una leucèmia limfoblàstica aguda refractària. Després de diversos intents sense èxit de tractar-la amb quimioteràpia, radioteràpia i trasplantaments al·logènics (provinent de la seva germana) de medul·la espinal, va necessitar adreçar-se a l'HCB per a poder realitzar el tractament. Ella va adonar-se'n de l'existència d'aquest quan estava sent tractada a València amb una altra teràpia distinta. Això va ser gràcies a la possibilitat de contactar amb una altra pacient, a través d'un *xat* destinat a malalts de leucèmia, que estava sent tractada també a l'Hospital Clínic. Ella es trobava en l'estadi en què es produeix l'entrevista amb els doctors encarregats de les admissions. L'hematòleg Valentín va procedir a explicar-li amb molt detall com seria el mecanisme d'aquesta innovadora immunoteràpia. Va mencionar els possibles efectes secundaris que podia patir després de la infusió i va posar-se a la seva disposició per aclarir els dubtes que pogués tenir. A l'acabar va signar els documents i permisos que eren necessaris per a ser tractada.

3.3. Afèresi (leucoafèresi)

La fase que segueix a la selecció dels pacients és l'afèresi o leucoafèresi. El terme afèresi prové del grec *ἀφαίρεσις* (aphaireín) i significa treure o emportar-se. Existeix una figura poètica amb el mateix nom, però no té cap relació a la referida en aquest TR. En medicina, l'afèresi es pot definir com una teràpia extracorpòria en què la sang del pacient o del donant es fa passar a través d'una màquina que separa els seus components, selecciona un de particular i retorna la resta a l'organisme de la persona.

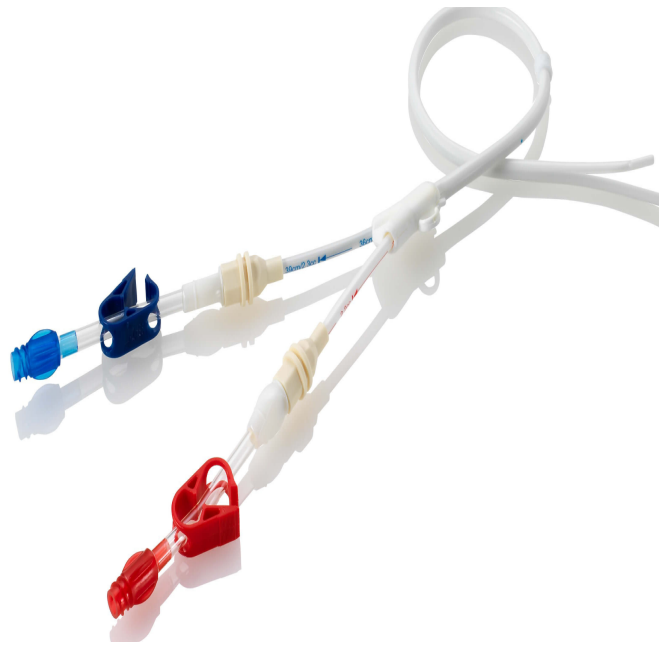
La idea de crear o perfeccionar aquest aparell va ser d'un enginyer d'IBM anomenat George Judson. El fill de George Judson patia leucèmia, i l'Institut Nacional de la Salut (NIH en anglès) dels Estats Units tenia un innovador tractament que consistia en extreure les cèl·lules cancerígenes del pacient. No obstant això, el mecanisme era molt lent, poc productiu i molt laboriós. Per tant George va decidir consultar un hematòleg reconegut dels Estats Units per demanar-li consell mèdic. Aproximadament mig any després, l'enginyer va haver fabricat un prototip que retallava el temps necessari de la teràpia. Per altra banda, no funcionava gaire bé, però amb l'ajut de l'hematòleg va aconseguir crear la IBM 2990 (la primera màquina d'afèresi contínua) al 1966. Des de l'any 1966 s'ha anat creant diferents tipus de màquines d'afèresi. Concretament, a l'Hospital Clínic de Barcelona treballen amb la *Amicus* i la *Spectra Optia*, que després explicaré i compararé les seves característiques. ^[71]

Depenent de la separació de components que es vulgui seleccionar, l'afèresi rep noms diferents. En el cas d'aquesta teràpia, s'anomena leucoafèresi ja que es volen separar els leucòcits (limfòcits T, limfòcits B, granulòcits, neutròfils...).

El procés de recol·lecció de sang comença aproximadament dues setmanes abans de l'inici de la infusió de les cèl·lules CAR-T. Es fa una primera visita a la planta d'afèresi on els professionals mèdics avaluen i determinen les diferents venes per on poden administrar les vies. Concretament, és necessari que hi hagi una vena per on surti la sang i una altra per on retorni la sang a l'organisme. És possible que el pacient no tingui venes visibles o en tingui però debilitades per altres tractaments anteriors. En aquests casos, s'usarien catèters venosos centrals de doble llum (Vegeu Imatge 17). Són tubs que s'insereixen en diferents parts del cos i permeten el drenatge de la sang. Es poden col·locar en les artèries jugular (20% de complicacions), la femoral (57% complicacions) i l'artèria subclàvia (60% de

complicacions). Per tant, sempre és recomanable que aquest procediment no es faci per cateterisme degut els riscos que existeixen.

Imatge 17. Catèter venós central de doble llum.^[72]



En aquesta primera visita també es demana que el pacient no estigui prenent certs tipus de medicació com bloquejadors β ³⁵ o inhibidors de l'enzim conversiu de l'angiotensina³⁶ (IECA). A més es requereix una

anàlisi de la sang 30 dies abans de l'afèresi que detecti si el pacient té altres malalties. Es fan marcadors per determinar si el tractat té el virus del VIH o els virus de l'Hepatitis B i C, es fa una VDRL (prova de laboratori que detecta la sífilis), també es busca HTLV (que és un retrovirus que afecta permanentment als limfòcits T i causa una malaltia espinal d'evolució lenta) i si cal, la malaltia de Chagas³⁷.^[73]

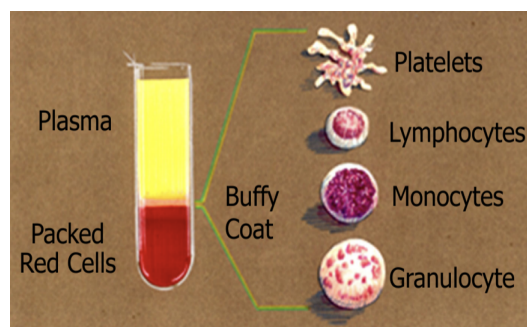
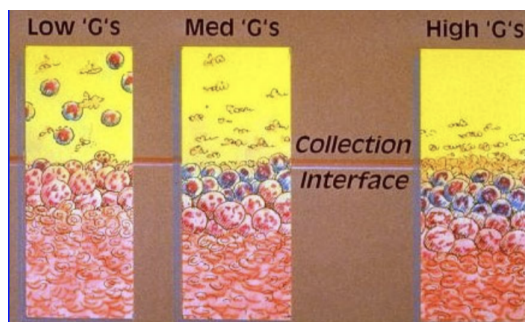
Seguidament (quan pertoqui), el pacient es dirigeix a l'hospital amb la finalitat de dur a terme l'afèresi. Es comença a fer l'extracció de la sang, en què la màquina d'afèresi recolectarà la sang i la retornarà al pacient separada dels leucòcits.

Aquesta tecnologia consta d'un mecanisme centrifugador en el qual s'aconsegueix separar la sang, els glòbuls blancs i el plasma sanguini. Depenent de la velocitat de centrifugació de la màquina hi haurà més separació o menys en l'àrea on es troben els leucòcits. Per exemple, si es fa amb una alta velocitat hi haurà plaquetes i hematies que quedin en la superfície del plasma sanguini. Mentre que si es fa amb una rapidesa mitjana només quedaran surant en el plasma algunes plaquetes (Vegeu Imatge 18 a i 18 b).

³⁵ **Bloquejadors β :** Són fàrmacs que s'empren en diverses afeccions, però particularment en trastorns del ritme cardíac i a la protecció cardíaca posteriorment a un infart de miocardi.

³⁶ **Inhibidors de l'enzim conversiu de l'angiotensina:** Medicaments que s'utilitzen en el tractament de la hipertensió arterial i la insuficiència cardíaca crònica. Aquests, formen part d'una sèrie d'inhibidors que causen reaccions reguladores de la pressió sanguínia.

³⁷ **Malaltia de Chagas:** Malaltia parasitària causada pel paràsit *Trypanosoma cruzi* que pot derivar en problemes greus en l'intestí i el cor.

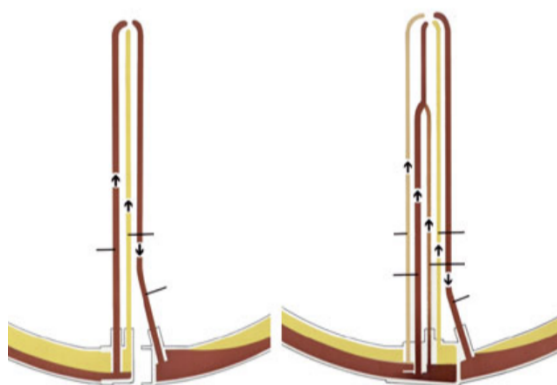


Imatge 18 . a) Velocitat de centrifugació **b)** separació de tipus de cèl·lules en leucoafèresi.^[74]

El procés de centrifugació es fa gràcies a una sèrie de tubs que es troben dins la màquina i separen els leucòcits de la resta de material sanguini. El procediment encara no està tan perfeccionat per a poder separar els limfòcits T durant aquest pas, així que després els limfòcits T s'han de separar usant unes altres tècniques. En el futur, es començaran a usar tecnologies més eficaces que ens estalviaran temps.

Com a curiositat, segons l'explicació del Dr. Lozano, hi ha estudis que han observat que si el temps utilitzat per a separar els limfòcits T és elevat, l'efectivitat de les cèl·lules CAR-T disminueix. Per tant, és recomanable que el temps entre l'extracció de sang i la separació dels components sigui el menor possible per evitar complicacions en el tractament.

S'adjuten dues imatges que representen visualment com és el recorregut de la sang per la màquina i com es selecciona. S'observaran els tubs interns de leucoafèresi que separen els leucòcits (Vegeu Imatges 19 a i b).



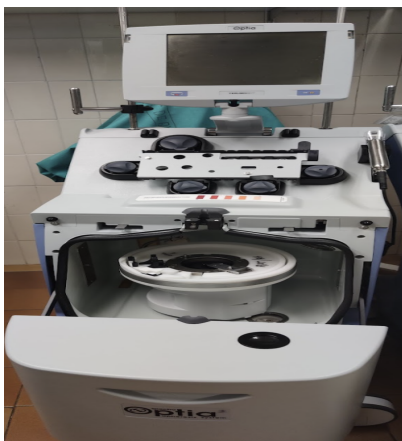
Imatge 19 . a) Representació visual **b)** Representació gràfica del funcionament de centrifugació de l'afèresi.^[75]

Ara es compararan les dues màquines d'afèresi que tenen en funcionament a l'HCB. Seguidament, s'observarà una taula amb les característiques de cadascuna (Vegeu Taula 1). Posteriorment, explicaré les diferències i els beneficis que les caracteritza:

	AMICUS	SPECTRA OPTIA
Tipus de flux	Discontínu	Continu
Màxim ràtio de flux	80-85 ml/min	145 ml/min
Operació/Funcionament	Automàtic	Semiautomàtic
Recol·lecció de cèl·lules	Contraflux	Aspiració
Plaquetes	Retornats al donador	Recol·lectades

Taula 1. Comparació i especificació de les característiques de les màquines d'afèresi que s'utilitzen a l'Hospital Clínic de Barcelona.

En primer lloc, compararem els fluxes d'ambdues màquines. L'Amicus té un flux discontinu, significa que l'extracció de sang i separació dels components es fa en diferents cicles, és a dir, que l'entrada i sortida de sang del pacient ocorre en diferents temps. En contrast, la Spectra Optia té un flux continu que es caracteritza per l'entrada i sortida de sang de manera constant, o sigui, sense interrupció (Vegeu Imatges 20 a i b).



Imatges 20. a) Spectra Optia (també centrifugació) a dalt i b) Amicus a sota. [76]

En segon lloc, s'observa a partir de la taula que el temps de la primera és quasi la meitat que el temps de la segona. Per tant, les persones que necessitin més litres (L) de sang extrets ho faran amb la segona.



En tercer lloc, l'Amicus té un funcionament automàtic que permet que el nombre d'infermers sigui menor ja que la màquina té més autonomia. En canvi, la segona necessita més professionals sanitaris controlant-la perquè és semiautomàtica.

Per acabar, la sang que es recol·lecta a partir de la primera es retorna automàticament durant el procés. Per altra banda, la Spectra Optia necessita que els metges retornin la sang als pacients manualment.

L'objectiu del procés de l'afèresi és aconseguir un nombre exacte de cèl·lules que varia depenent de si el CAR-T és comercial o no ho és. En el cas del CAR-T ARI-0001, s'ha de

disposar d'1,00x10⁸ cèl·lules T aproximadament per modificar amb el gen CAR posteriorment. Hi ha dues maneres d'estimar el volum de sang que s'ha de processar. La primera es fa a partir del recompte de limfòcits T; la segona s'estima a partir dels limfòcits totals que es recol·lecten (ja que un 70% són limfòcits T). A partir del nombre de limfòcits T que es necessiten, existeix una fórmula per determinar el volum de sang exacta que s'ha d'extreure (Vegeu fórmula 1).

$$CE1(\%) = \left(\frac{\text{Cells in the product} \left(\frac{\text{cells}}{\text{mL}} \right) * \text{Product volume (mL)}}{\left(\frac{\text{Predonation cell count} + \text{Postdonation cell count}}{2} \right) * \text{Processed blood volume (mL)}} \right) * 100$$

Fórmula 1. Eficiència de recol·lecció a partir de recompte complet de sang (CBC).

A continuació posarem un exemple de l'utilització d'aquesta fórmula d'una manera efectiva, es podrà observar la diferència de volum de sang que és necessari depenent de les cèl·lules mononuclears (MNC) a la sang abans de realitzar la leucoafèresi.

Es troba que en dos pacients diferents l'objectiu és aconseguir 7x10⁹ MNCs i l'eficiència de recol·lecció dels MNCs és del 46%. A més sabem que hi ha un dels tractats que a l'inici té 1,00x10⁹ MNCs per la sang i l'altre en té 5,50x10⁹. Per tant quan apliquem les fórmules s'obté:

A partir de les equacions, calculant i aïllant la incògnita trobem que en el primer cas s'hauria de processar un total de 15,2 litres, mentre que en el segon només 2,8L.

$$0.46 = \left(\frac{7x10^9 \text{ MNCs}}{\frac{5.5x10^9}{L} * \text{Whole blood to process(L)}} \right) \qquad 0.46 = \left(\frac{7x10^9 \text{ MNCs}}{\frac{1.0x10^9}{L} * \text{Whole blood to process(L)}} \right)$$

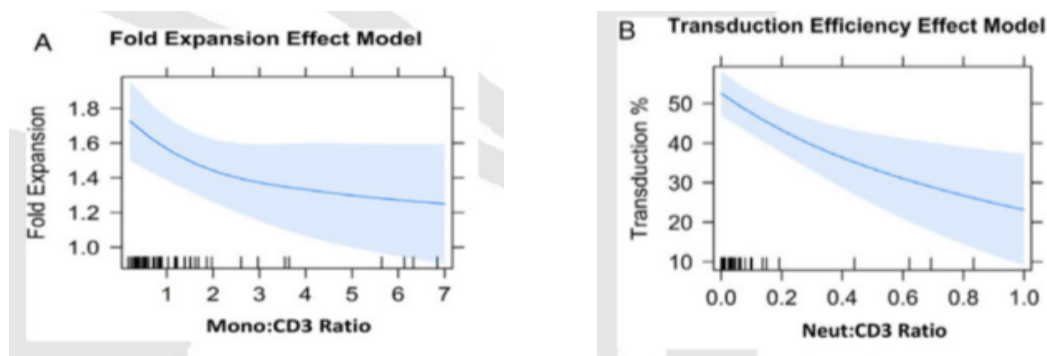
Durant el temps que s'ha fet aquesta teràpia a l'HCB s'han anat recollint dades sobre els procediments. Cal destacar una dada en particular que és la manera en què s'ha tingut accés a la sang, si per via venosa o per cateterisme. Un 63% dels casos s'han tractat a partir de les venes perifèriques, mentre que un 37% ho han fet mitjançant cateterisme.

Aquesta dada és ambigua ja que els primers casos van ser majoritàriament tractats amb cateterisme. Segons allò que el Dr.Lozano em va comentar, actualment estan fent servir un tipus d'ecografia per detectar venes que no siguin perceptibles a través dels nostres sentits. És a dir, s'estalvien complicacions, es fan menys intervencions amb cateterisme i els pacients tenen més seguretat a l'hora d'extreure la sang.

És necessari explicar que existeix la possibilitat, si la preparació i el control no són correctes, de manifestar símptomes d'hipocalcèmia. L'hipocalcèmia causa parestèsia ³⁸ degut l'augment de l'excitament de les membranes de les cèl·lules nervioses (despolarització espontània). Els símptomes poden ser lleus (adormiment en els dits, sabor metàl·lic a la boca o aparició de calfreds), moderats (rampes, nàusees i sensació de vibració) i greus (tetània³⁹ o arrítmia cardíaca⁴⁰). [73,77]

Per tant, és aconsellable administrar citrat durant la leucoafèresi. El citrat és un anticoagulant que es troba en la nostra sang en baixes concentracions, desenvolupant una funció important en el metabolisme de les cèl·lules. El citrat regula el calci circulant, que és causant de part de la coagulació. Les principals funcions del citrat són la prevenció de la coagulació en la circulació extracorporeal, inhibició de l'agregació de les plaquetes (per reducció del pH) i manté la generació d'ATP gràcies a la presència de dextrosa. [73]

Per acabar, es destacaran conclusions de diversos estudis relacionats amb l'eficàcia de les cèl·lules CAR-T. En primer lloc, s'ha descobert que en concentracions més baixes (100×10^6 cells/mL) tenen més viabilitat comparades amb concentracions altes (300×10^6 cells/mL). En segon lloc, una alta quantitat de monòcits a l'hora de modificar les cèl·lules T estava relacionada amb una menor expansió d'aquestes. També, una gran presència de neutròfils estava relacionada amb una baixa eficiència de la transducció de les cèl·lules (Vegeu gràfics 5 i 6). [78,79]



Gràfics 5 i 6. a) Representació gràfica de l'expansió de les cèl·lules T modificades respecte la quantitat de monòcits. b) Representació gràfica de l'eficàcia de la transducció de les cèl·lules T respecte la presència de neutròfils. [80]

En ambdues gràfiques, la regió delimitada pel color blau representa els diferents casos que s'han tractat i els valors que s'han obtingut. La línia blava indica la mitjana dels mateixos.

³⁸ **Parestèsia:** Trastorn de la sensibilitat i de la percepció de les sensacions.

³⁹ **Tetània:** Espasme continu d'un múscul.

⁴⁰ **Arrítmia cardíaca:** Trastorn de la freqüència o del ritme cardíac.

3.4.1. Reprogramació cel·lular (Introducció i preparació de la mostra)

El següent punt del procés és la reprogramació cel·lular, aquesta consta de diversos mecanismes que, a continuació, s'explicaran en diferents subapartats.

En primer lloc, quan s'acaba de fer la leucoafèresi al pacient, es porta ràpidament la bossa que conté els glòbuls blancs a la secció d'immunoteràpies avançades. Seguidament, es col·loca la bossa amb els limfòcits T a un congelador especial que controla la disminució de temperatura per a no fer malbé la mostra (Vegeu Imatge 21). Aquest congelador especial va disminuint la temperatura gradualment, aproximadament uns 6°C cada minut. La màquina acaba la seva feina quan la bossa es troba a -130°C.



Imatge 21. Congelador Asymptote.^[81]

Quan la mostra ja es troba a la temperatura anteriorment mencionada, amb l'ajuda d'uns guants tèrmics, es traspassen els glòbuls blancs a unes cubes gegants. En aquestes, la conservació serà ideal ja que contenen nitrogen líquid a una temperatura menor als -130°C. Cal mencionar, que també es conserven els lentivirus⁴¹, ja modificats amb el gen CAR, que funcionaran com a vectors per als limfòcits T. No obstant això, el virus s'emmagatzema en una cuba diferent que es troba tancada amb clau (Vegeu Imatge 22 a i b).



Imatge 22. a) Cuba de nitrogen líquid amb mostres d'afèresi b) Cuba amb clau de nitrogen líquid que emmagatzema lentivirus modificats amb el gen CAR.^[82]

⁴¹ **Lentivirus:** Gènere de virus amb període d'incubació bastant llarg (mesos o fins i tot anys). Té un genoma amb bastanta flexibilitat. Aquesta característica el converteix en un vector perfecte per a la transferència o transducció dels gens.

En el moment en què els metges procedeixen a seleccionar els limfòcits T, es descongela la bossa amb una màquina específica de “bany Maria”. Més endavant, ensenyarem les imatges corresponents d’aquesta i explicarem el seu funcionament.

Quan s’ha descongelat la mostra i roman a una 36°C, es comença a separar els limfòcits T dels altres leucòcits. Tots els processos que s’esmentaran a continuació es duen a terme en unes habitacions especials anomenades “sales blanques”.

Les sales blanques són sales aïllades que estan dissenyades per conservar un nivell molt baix de contaminació microbiana, vírica o de qualsevol altre tipus. En el cas de l’Hospital Clínic, disposen de 4 tipus de sales blanques diferenciades (I,II,III i IV). Aquestes sales estan connectades. És a dir, per entrar a les sales de menys contaminació s’ha d’haver passat anteriorment per les altres:

- Les sales de tipus I es poden definir com les “més brutes” de les quatre. Els metges que hi accedeixen han d’anar vestits amb guants, peücs, mascareta i gorro mèdic.
- Les sales de tipus II són més netes que les primeres. Els professionals mèdics han de dur un vestit especial, a part de totes les mencionades mesures de seguretat anteriors.
- En les sales de tipus III s’entra amb les mateixes mesures anteriors. L’única diferència resideix en el fet que un cop passen de la sala II a la sala III s’han de treure el vestit que duen i s’han de posar un de nou.
- Finalment, en les sales de tipus IV s’adopta la seguretat de la sala III però s’afegeixen noves condicions sanitàries. A més de dur un vestit especial, semblant als dels cirurgians, els metges s’han de posar una altra vestimenta semblant a la que es duu contra els virus molt infecciosos (com l’ebola).

Abans de continuar amb el següent pas de la reprogramació cel·lular, és necessari saber que a l’Hospital Clínic de Barcelona s’utilitza una màquina anomenada *CliniMACS Prodigy* que fa automàticament totes les fases que s’explicaran. Per tant, s’ha decidit que s’explicarà de manera separada la funció que desenvolupa en cada etapa del procés.

3.4.2. Reprogramació cel·lular (Separació de les cèl·lules)

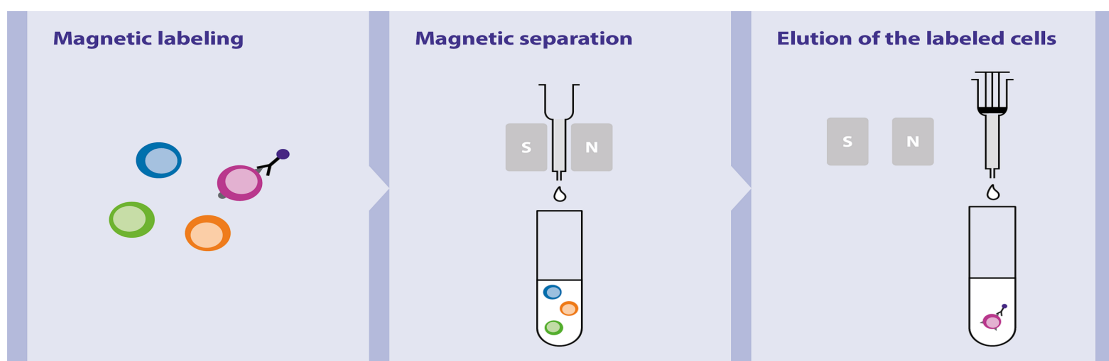
A l'HCB s'utilitzen dues tècniques diferents mitjançant les quals es poden separar els limfòcits T de les altres cèl·lules cèl·lules sanguínies blanques.

En primer lloc, la *CliniMACS Prodigy* és la màquina que s'empra amb més freqüència. La separació de cèl·lules immunomagnètiques es basa en anticossos acoblats a perles magnètiques. Durant la incubació amb un període de suspensió cel·lular, el complex anticòs/perla magnètica s'uneix a les cèl·lules que expressen l'epítop⁴² corresponent. Quan aquesta suspensió cel·lular es col·loca en un camp magnètic, les cèl·lules marcades magnèticament es retenen, mentre que les altres cèl·lules queden eliminades. Per recuperar les cèl·lules que es troben marcades magnèticament, la mostra s'extreu del camp magnètic.

Les màquines que es troben en l'Hospital Clínic de Barcelona funcionen amb columnes i unes microperles de mida nanomètrica. No obstant això, hi ha una altra màquina semblant, fabricada per la mateixa empresa, que no necessita columnes i es basa en microperles de mida micro.

Per separar els limfòcits dels altres tipus de leucòcits existeixen moltes estratègies de separació diferents, però en aquest TR s'han escollit dos bastant representatives:

- Separació individual (Selecció positiva d'un tipus de cèl·lula diana): Els limfòcits T, en aquest cas, es marquen magnèticament i se separen de la suspensió cel·lular. Aquest tipus de separació només requereix un únic marcador (Vegeu Imatge 23).



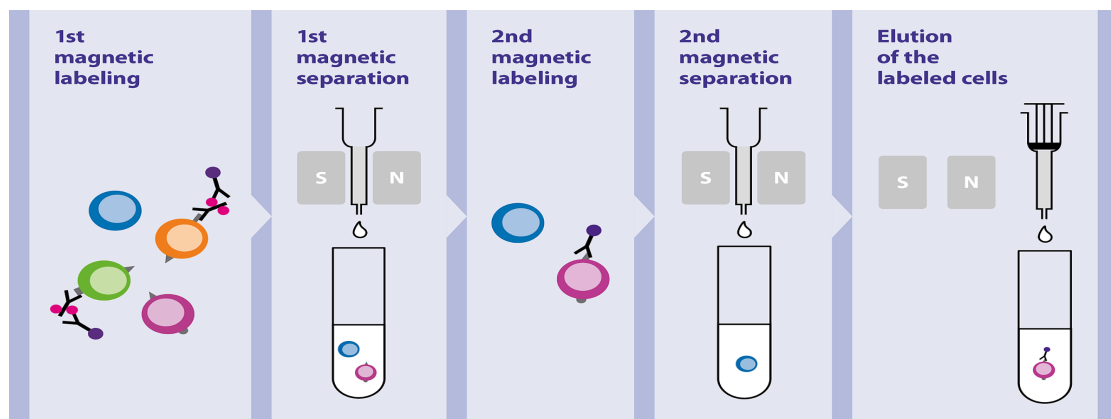
Imatge 23. Selecció positiva d'un tipus de cèl·lula diana.^[83]

Es pot observar que durant la separació la columna es col·loca entre el camp magnètic de la màquina. Les cèl·lules marcades genèticament (limfòcit T) queden retingudes dins la columna, mentre que les no etiquetades flueixen a través

⁴² **Epítop**: També anomenat determinant antigènic, són les parts específiques de l'antigen que interactuen amb l'anticòs.

d'aquesta. Després de que s'hagin separat, s'extreu la mostra del camp magnètic per obtenir les cèl·lules diana.

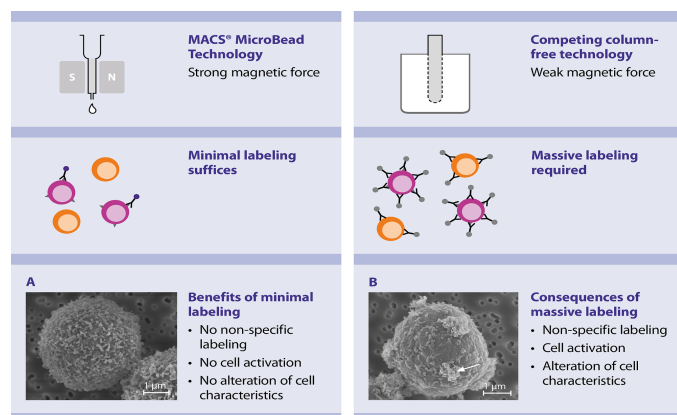
- Separació seqüencial (Selecció negativa i posteriorment, positiva): Primerament, les cèl·lules no desitjades s'etiqueten magnèticament i s'eliminen de la suspensió cel·lular. En segon lloc, les cèl·lules diana s'aïllen de la resta mitjançant selecció positiva. La separació seqüencial és més llarga, però ens assegurem que els limfòcits T s'han separat perfectament (Vegeu Imatge 24).



Imatge 24. Separació seqüencial. Primer selecció negativa i posteriorment, negativa.^[84]

Aquesta separació és més útil quan un marcador important per a les cèl·lules diana també s'expressa en una fracció de cèl·lules no desitjades. En primer lloc, les cèl·lules que no es necessiten es marquen amb antígens diferents d'aquest marcador comú. Quan ja s'ha produït la primera fase de separació, es marquen positivament les cèl·lules diana (limfòcits T) amb un marcador diferent de les altres semblants per separar-les definitivament.

Per a la separació dels limfòcits T s'usa un mètode de separació basat en columnes i microperles nanomètriques ja que és més eficaç per a la teràpia CAR-T. Comparant-lo amb mètodes sense columnes d'altres empreses es pot observar que hi ha nombrosos beneficis (Vegeu Imatge 25 a i b).



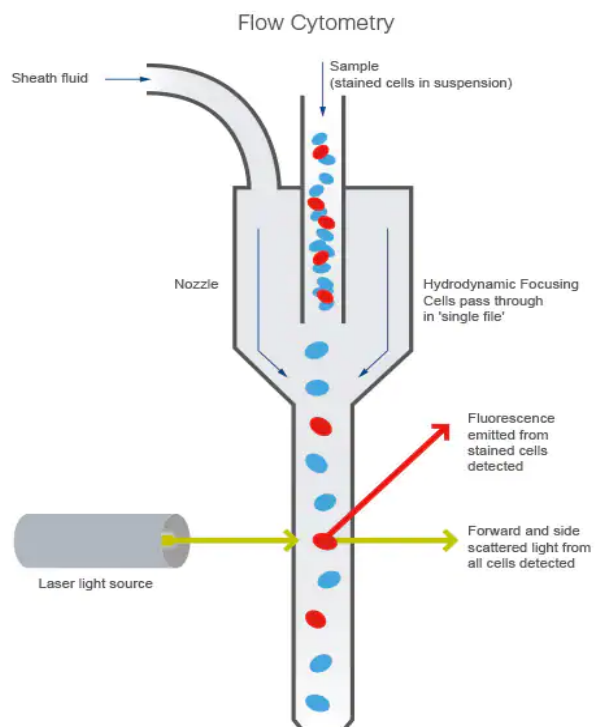
Imatge 25 a i b. Comparació basada en tecnologies de columnes i tecnologies de separació de cèl·lules magnèticament sense columnes.^[85]

S'observa que després de marcar les cèl·lules amb un marcador específic i posteriorment separant les cèl·lules amb els dos mètodes que es comparen, la microscopia electrònica d'escaneig (en anglès *Scanning Electron Microscope*) és completament diferent. En 25 a, encara que s'hagi etiquetat la cèl·lula, no s'observa cap etiquetatge. En canvi, en 25 b sí que se n'observen bastants. Aquest fet produeix que en 25 a les cèl·lules diana (limfòcits T) no quedin afectats a l'hora de fer la seva funció, mentre que en 25 b, sí.

Per tant, es pot concloure que un mecanisme que funcioni amb columnes i micropèrles nanomètriques exercirà la mateixa funció sense alterar les característiques de la cèl·lula.

En segon lloc, també s'utilitza la citometria de flux. La citometria de flux és una tècnica que s'utilitza per detectar les característiques físiques i químiques d'una població de cèl·lules determinades. Aquesta tècnica és molt important ja que permet analitzar el cicle cel·lular complet i el contingut d'ADN en les diferents fases. A més, es detecta si s'expressen antígens o marcadors a la superfície de les cèl·lules. Hi ha diversos tipus de citometria de flux, però només s'explicarà l'usat en l'HCB.

Per començar, es marca l'antigen que nosaltres volem detectar amb pigments especials o amb fluorescència (fluorocrom). La fluorescència detecta proteïnes o complexos que s'uneixen a determinades molècules específiques. Per tant, la mostra de cèl·lules (leucòcits i limfòcits T marcats amb fluorocrom) es posa en suspensió cel·lular i es fa passar per un tub de tal manera que només en passi una pel raig de llum. Aquest làser excita les molècules (i per tant emeten llum) ja que es correspon amb la longitud d'ona del fluorocrom (Vegeu Imatge 26). Posteriorment, la màquina també detecta la dispersió de la llum que passa a través de les cèl·lules amb l'antigen marcat i les compara amb les cèl·lules no etiquetades. Finalment, les pot separar per poder aïllar els limfòcits T.

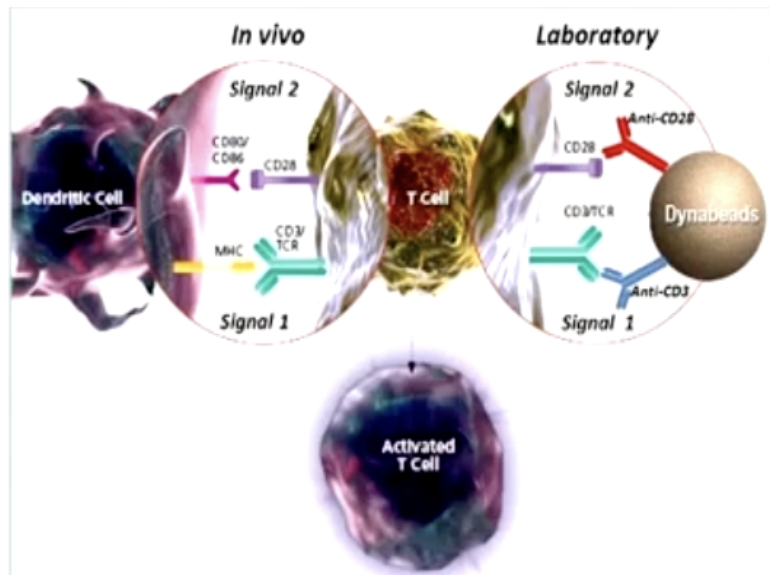


Imatge 26. Descripció general de la citometria de flux.^[86]

3.4.3. Reprogramació cel·lular (Activació)

Continuem amb la reprogramació cel·lular, que es dona després de la separació dels limfòcits T. L'activació es dona en la mateixa màquina *CliniMACS Prodigy*.

En aquest pas, les cèl·lules T s'activen fora del pacient (*ex vivo*). S'utilitzen diverses estratègies per aconseguir-ho. Per exemple, la utilització de cèl·lules dendrítiques, o cèl·lules presentadores d'antígens artificials, perles magnètiques recobertes d'anticossos (vegeu Imatge 27), o s'activen mitjançant interleucines.



Imatge 27. Cèl·lula dendrítica activen una cèl·lula T (*in vivo*). Perles recobertes d'anticossos activant un limfòcit T.^[87]

En la imatge adjuntada anteriorment, s'aprecia el mecanisme en què les cèl·lules dendrítiques activen les cèl·lules T. També, es pot interpretar que les perles magnètiques que tenen anticossos a la membrana (Anti-CD28 i Anti-CD3) s'uneixen al marcador CD3 del TCR i al coestimulador, que en aquest cas es el CD-28. Posteriorment activen aquests limfòcits T.

L'activació és indispensable, però és necessari que sigui òptima. S'ha de fer controlant que posteriorment, l'expansió no tingui una immensa diferenciació cel·lular o que hi hagi una mort cel·lular produïda per activació de cèl·lules T.

A més, pot influenciar la composició cel·lular dels limfòcits T modificats genèticament i també pot alterar el fenotip⁴³ del producte final.

⁴³ **Fenotip:** Expressió del genotip en un determinat ambient. El genotip és la informació genètica que posseeix un organisme (generalment en forma d'ADN).

3.4.4. Reprogramació cel·lular (Transducció del lentivirus)

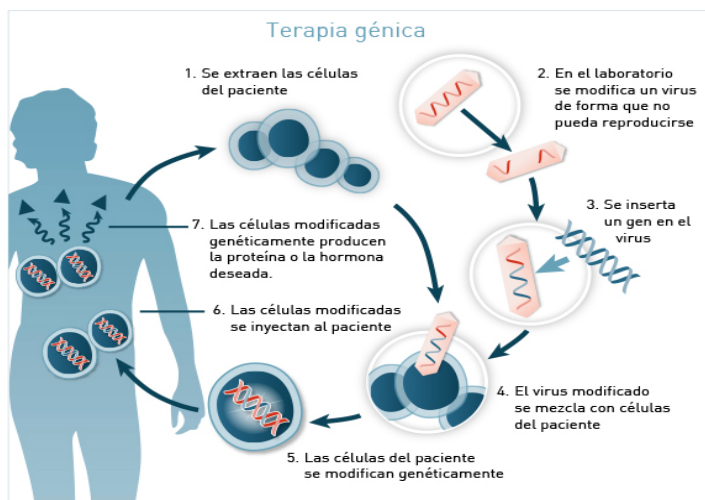
Per a aconseguir l'expressió gènica estable a partir de la inserció del gen CAR als limfòcits T, s'utilitza un tipus de mecanisme de transducció dels gens que són els vectors lentivirals (LV). Aquests, a l'HCB, són inicialment modificats genèticament mitjançant eines biotecnològiques i posteriorment, són alliberats en la mostra que conté les cèl·lules T. Per tant, s'explicaran ambdós processos.

En primer lloc, és necessari explicar el procés de biotecnologia en què s'afegeix el gen CAR als lentivirus (vectors). Concretament, a l'Hospital Clínic aquesta modificació es fa a la secció de virologia.

La teràpia gènica es defineix com un conjunt de processos que transfereixen el material genètic o modifiquen el material genètic del pacient per curar malalties, principalment genètiques. En aquest cas s'insereix el gen CAR en el material genètic del lentivirus atenuat. És a dir, el virus no pot donar cap malaltia relacionada amb la naturalesa d'aquest. Un lentivirus es troba en la família de retrovirus. Els retrovirus tenen el material genètic en una cadena senzilla d'ARN, però durant la transcripció es converteix en una cadena bicatenària d'ADN gràcies a l'enzim retrotranscriptasa. Aquest fet serà bastant important en la transducció.

L'estratègia que s'usa s'anomena *Ex Vivo*. Consisteix en extreure les cèl·lules del pacient que es volen modificar (en el nostre cas els limfòcits) per insertar el gen desitjat i retornar-les a l'organisme.

A continuació es presenta un esquema dels passos que s'han de seguir (Vegeu Imatge 28):



1. Primerament, es duu a terme l'extracció de les cèl·lules del pacient (limfòcits T).

2. En segon lloc, en el laboratori es modifica el virus (lentivirus) per atenuar-lo i que es pugui insertar el gen CAR al material genètic d'aquest. Per fer aquest últim pas s'empren els enzims de restricció⁴⁴.

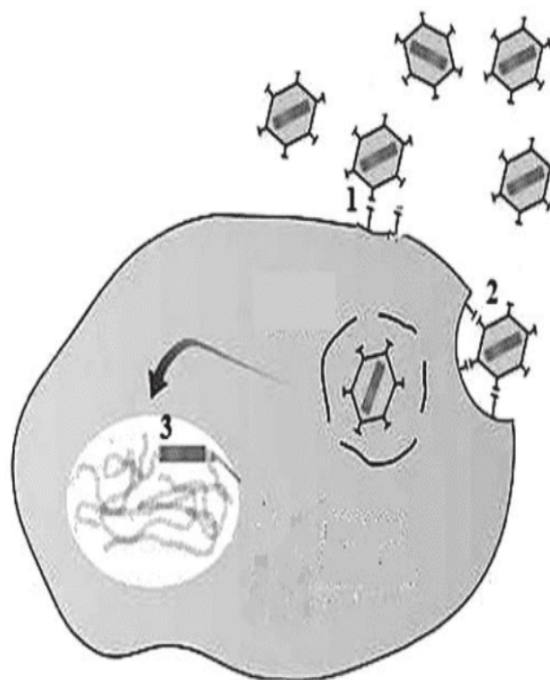
Imatge 28. Esquema representatiu de la teràpia gènica emprant vectors virals.^[88]

⁴⁴Enzims de restricció: Són enzims que tallen l'ADN en una seqüència concreta de nucleòtids.

3. S'insereix el gen CAR a la informació genètica del virus.
4. El lentivirus ja modificat es deixa anar en la mostra de limfòcits T. Quan el virus infecta la cèl·lula comença a produir-se el procés de transducció.

El segon pas destacable és la transducció del virus que és un procés en el qual l'ADN d'aquest (en aquest cas el virus es troba atenuat i amb el gen CAR) es transfereix a una cèl·lula (limfòcit T) mitjançant l'infecció d'aquestes. El vector viral només durà a terme el cicle lisogènic, ja que si hi hagués cicle lític els limfòcits T que volem obtenir morrien. Aquests lentivirus no poden fer el cicle lític perquè han estat modificats prèviament. Cal clarificar que el virus s'afegeix a les 24 hores si l'afèresi és fresca o en 48 hores si era congelada. El procés també consta de diversos passos (Vegeu Imatge 29):

1. Adsorció: El virus s'adhereix a la membrana cel·lular de les cèl·lules T.
2. Penetració: Es deixa anar el material genètic a l'interior del limfòcit.
3. Integració del virus atenuat o en estat latent en el DNA de la cèl·lula: En aquest pas el virus es troba en forma d'ARN monocatenari, però gràcies a l'enzim retrotranscriptasa pot copiar el RNA en forma d'ADN. Quan l'ADN del virus s'uneix amb el del limfòcit T, es pot quedar en estat quiescent/inactiu (generalment els primers dies de la infecció) o pot reproduir-se. En el cas de que es reproduïxi, el gen CAR insertat al material genètic del virus i ara del limfòcit T, podrà començar a duplicar-se quan també ho faci la cèl·lula.



Imatge 29. Representació gràfica del cicle lisogènic dels lentivirus en infectar els limfòcits T.^[89]

Actualment s'estan desenvolupant nous mètodes per substituir els lentivirus a l'hora de transferir el gen CAR als limfòcits T. Aquesta recerca és deguda a l'alt cost dels vectors virals. Per això, hi ha vectors no virals que s'estan començant a implementar, són els CRISPR/Cas9, transposons i l'ARN missatger (aquests dos últims consisteixen en l'electroporació).

3.4.5. Reprogramació cel·lular (Expansió dels limfòcits T)

Seguidament, es procedeix a expandir les cèl·lules T ja modificades genèticament, és a dir, les cèl·lules CAR-T.

El procediment d'expansió, per obtenir una major quantitat de cèl·lules CAR-T es pot realitzar de distintes maneres:

- Matrassos de cultiu cel·lular
- Bosses de cultiu estàtiques
- Diferents tipus de bioreactors o dispositius

Després, les cèl·lules CAR-T es renten i es criopreserven, per posteriorment, traslladar-les al lloc on serà administrat el pacient (en cas de CAR-T comercial). És molt necessària una constant comprovació del producte a la vegada que es realitzen proves de control de la qualitat del producte.

Per altra banda, a l'Hospital Clínic de Barcelona, les dues tècniques més utilitzades són la suplementació amb citoquines i la inhibició de les vies de senyalització específiques.

La suplementació de citoquines més comuns són les següents interleucines (IL-2, IL-7 i IL-15):

- IL-2: Actua per promoure la proliferació de les cèl·lules T. Es produeix majoritàriament pels limfòcits T activats.
- IL-7: Actua quan s'estimula el desenvolupament de les cèl·lules precursors dels limfòcits T i B. De mateixa manera, tenen activitat antitumoral ja que augmenten la producció de limfòcits T citotòxics/CD8 (que destrueixen la cèl·lula diana) i les cèl·lules NK.
- IL-15: Es una interleucina que té una funció molt semblant a les IL-2 però que desenvolupa una cadena d'actuació diferent.

La inhibició de les vies de senyalització específica ens permeten tenir un fenotip menys diferenciat del llinatge cel·lular del producte amb la finalitat d'obtenir el producte CAR-T en unes bones condicions.

3.5. Preparació del pacient/Infusió

Després de finalitzar el procés de reprogramació cel·lular i haver obtingut les cèl·lules T necessàries per a la infusió del pacient, es conserven en nitrogen líquid.

Tres dies abans de la infusió s'interna al malalt per tenir control d'aquest i avaluar la seva situació. També, es prepara al pacient amb una dosi baixa de quimioteràpia anomenada limfodepleció⁴⁵ que deriva en la limfopènia⁴⁶. Afecta les cèl·lules T, B i NK; té diversos efectes positius abans de la teràpia amb cèl·lules CAR-T.

Els principals beneficis són:

1. La reducció del volum del tumor.
2. Disminució en la producció d'alguns metabòlits.
3. Supressió del sistema immunològic del pacient. Per tant, les cèl·lules T modificades genèticament poden persistir més.
4. Major quantitat de interleucines⁴⁷ com la IL-2, IL-7 i IL-15.

Aquesta quimioteràpia no es fa amb els medicaments habituals, sinó que es fa amb uns més dèbils. Aquests són *Fludarabine* (30 mg/m²/dia) i *Cyclophosphamide* (300 mg/m²/dia). S'administra per prevenir un possible rebuig de l'organisme a les cèl·lules CAR-T. En aquest poc temps, s'intenten eliminar els limfòcits T que no són efectius per aconseguir que els modificats genèticament amb el gen CAR puguin proliferar correctament després de ser injectats.

Quan passen els tres dies, el pacient és administrat una de les dosis que conté un 10% de les cèl·lules T totals que s'han d'administrar. La segona dosi és del 30% i la tercera, 60%. És necessari clarificar que no sempre s'ha d'administrar el 100% de la quantitat total de limfòcits. Hi ha vegades en què el pacient té prou amb menys quantitat i l'eficàcia és la mateixa. Les dosis es troben

Imatge 30. Descongelador "bany Maria".^[90]



⁴⁵ **Limfodepleció:** Mort dels limfòcits del pacient.

⁴⁶ **Limfopènia:** Afecció en què hi ha un nombre més baix de limfòcits en la sang.

⁴⁷ **Interleucines:** Conjunt de proteïnes (citoquines) que són sintetitzades pels leucòcits, concretament pels limfòcits TCD4 (helper).

congelades per conservar-les, així que mitjançant una màquina de “bany Maria” s’aconsegueix passar els limfòcits T de -130°C fins a una temperatura de 35°C aproximadament en només 5 minuts. No obstant això, ara s’està intentant implementar una nova màquina que consisteix en un descongelador biològic. Aquesta pot descongelar la mostra en només 2 minuts.



Imatge 31. Descongelador biològic.^[91]

Al principi de la teràpia s’administrava el 100% de la mostra en una única vegada. Degut això, molts pacients van acabar desenvolupant efectes secundaris més greus o van estar a punt de morir.

Les infusions duren aproximadament entre 15 i 20 minuts i es realitza a l’Hospital Clínic de Barcelona amb un règim d’ingrés.

Fent referència al tractament i a la infusió dels limfòcits T modificats, cal dir que aquestes cèl·lules T no podran sobreviure, disseminar-se o desplaçar-se a altres organismes, fet pel qual no es pot produir cap tipus de contagi en altres humans, animals o plantes.

El tractament només estarà guardat en el centre on es duu a terme la producció (HCB) fins la seva administració. La preparació de les cèl·lules ARI-0001 es realitzarà en condicions asèptiques utilitzant tècniques estèrils.

En la primera hora després de l’administració del tractament, és recomanable, com a mesura preventiva, no tocar-se la zona on s’han injectat les cèl·lules per un possible risc d’infecció. A més a més, és crucial prendre moltes mesures higièniques de caràcter general durant la setmana posterior.

És important que el pacient estigui en constant vigilància pels possibles efectes secundaris que puguin haver. Per tant, les hores següents a la infusió s’ha d’anar controlant

contínuament l'estat del malalt. Els efectes secundaris s'explicaran més endavant en un altre apartat.

El pacient estarà 2 setmanes més internat a l'Hospital Clínic de Barcelona. A continuació, rep l'alta però no pot tornar a casa, sinó que ha d'estar vivint 1 mes a menys de 30 minuts de l'hospital. És una mesura que es pren per assegurar-se que el malalt es recuperi correctament després de la infusió. Les persones que viuen a Catalunya gairebé no tenen cap problema, però les de fora del territori català ho tenen més complicat. Per això, hi ha apartaments que es troben a disposició dels malalts i els seus acompanyants. Els pisos són donats per la fundació de l'HCB o la fundació Josep Carreras entre d'altres.

Com he mencionat anteriorment, relataré algunes de les meves experiències quan vaig assistir a les visites dels pacients juntament amb l'hematòleg Valentín.

En primer lloc, el Dr.Ortiz va visitar una dona d'uns 35 anys que patia leucèmia mieloide aguda (LMA). Ja portava 11 mesos amb la teràpia i segons explicava ella, havia presenciat un canvi considerable en la seva vida. Al principi es trobava més dèbil i sense forces, però amb el temps va començar a sentir-se millor. No obstant això, comentava que tenia petits dolors a l'estómac, unes berrugues (possiblement de caràcter bacterià, ja que el sistema immunitari està lleugerament debilitat). Cal dir que quan arribés a l'any el tractament hauria finalitzat, òbviament després d'un exhaustiu examen mèdic. Posteriorment, s'anirien fent contínues revisions per controlar l'estat de la pacient. Com a curiositat, és interessant analitzar com la seva immunitat es trobava decaiguda, ja que ella es va vacunar de les dues dosis amb la vacuna contra el Covid-19 i no va generar anticossos.

L'altre pacient visitat va ser un home, també doctor de l'HCB, d'uns 60 anys que tenia leucèmia limfoblàstica aguda (LLA). Portava ja 1 any i 2 mesos amb aquest tractament. Deia que es trobava amb més forces i il·lusions. Va explicar una anècdota en què s'apreciava la seva millora. Va exposar que, mentre es trobava de vacances, va haver de saltar una tanca (per unes circumstàncies que no són d'interès) i ho va poder realitzar sense gaire dificultat. Quan ho explicava, vaig sentir una gran emoció en la seva veu, que em va fer pensar com aquesta immunoteràpia pot fer canviar la vida d'un malalt aparentment sense més opcions.

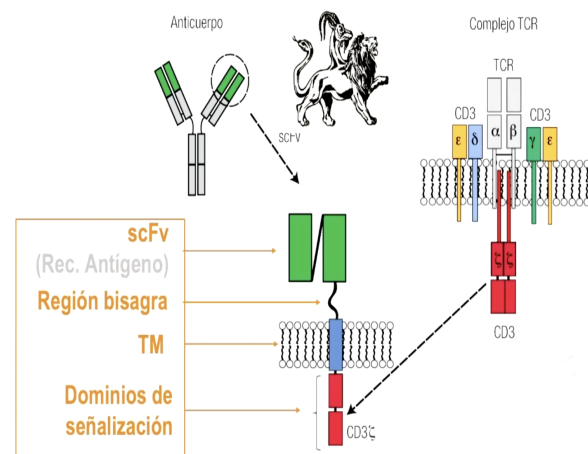
3.6. Atac de cèl·lules

Per entendre l'acció que desenvolupen els limfòcits T al ser introduïts a l'organisme del pacient, s'ha de clarificar el funcionament d'aquests.

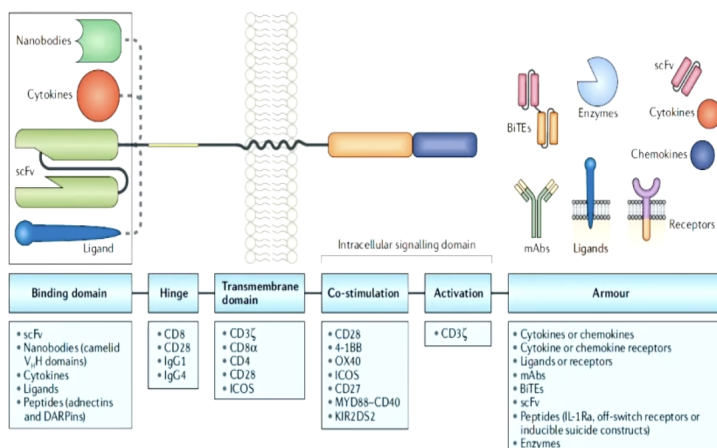
Els nostres limfòcits T es diferencien en 2 tipus. Els primers són els Th (helpers)/CD4 i els segons són els citotòxics/CD8. La funció dels Th és activar els limfòcits B després que una cèl·lula dendrítica o APC (en anglès *Antigen-presenting Cell*) hagi presentat els antígens d'un agent infecciosos als TCD4. En canvi, els citotòxics provoquen la lisi dels agents patògens que detecta com estranys gràcies a unes substàncies, generalment proteïques, que allibera (perforines i granzimes).

En aquest cas, els limfòcits TCD8 no detecten les cèl·lules tumorals i per tant, necessiten el gen CAR per poder-les detectar i seguidament, eliminar-les. (Vegeu Imatge 32)

El gen CAR està format per la zona variable de l'anticòs que reconeix l'antigen CD19 (antigen expressat en limfòcits B). També, per una regió frontissa que permet un moviment més ampli al CAR. Finalment, un marcador de membrana (TM) i els dominis de senyalització.



Imatge 32. Esquema del complex CAR (Receptor quimèric d'antigen).^[92]



Es mostren les diferents combinacions i estructures que pot tenir el complex CAR-T. (Vegeu Imatge 33)

Els components que s'escullen depenen de l'objectiu del CAR i l'antigen que es vol reconèixer.

Imatge 33. Estructures del gen CAR.^[93]

És important saber que la relació òptima de limfòcits Th CD4 i Tc CD8 és 1:1. Així s'evita una gran diferenciació dels limfòcits i es redueixen les possibilitats d'alguns efectes secundaris.

3.7. Efectes secundaris de la teràpia

El ARI-0001 pot provocar efectes adversos amb el sistema immunològic que poden ser greus o potencialment mortals. Hi ha una sèrie d'efectes adversos que es reporten amb més freqüència, són els següents:

- Síndrome d'alliberació de citoquines (CRS): En certes vegades, el creixement i reproducció de les cèl·lules ARI-0001 en l'organisme per eliminar el tumor pot arribar a ser perillós per les substàncies que alliberen la sang (citoquines). Quan la quantitat de citoquines a la sang és molt alta es pot sentir febre alta, calfreds, dolors musculars, erupcions cutànies, nàusees, vòmits i en casos greus hipotensió, dificultat per respirar i inclús es pot produir un error en el funcionament dels òrgans vitals com els ronyons, fetges, pulmons, cervell o cor. Malgrat tot això, existeixen tractaments específics pel control d'aquesta complicació. L'aparició d'aquests símptomes ocorren generalment la primera setmana després del tractament. Per tractar el CRS s'utilitza el fàrmac tocilizumab, és un anticòs que s'uneix i inactiva la IL-6 (pot arribar a estar augmentada unes mil vegades). La IL-6 s'origina en diversos tipus cel·lulars (monòcits, macròfags, cèl·lules endotelials...) i intervé regulant la resposta immunològica. Pot tenir efectes proinflamatoris i antiinflamatoris a la vegada.^[94]

És possible que els factors de creixement mieloide, en concret els factors estimulants de colònies de granulòcits i cèl·lules dendrítiques, poden empitjorar els símptomes de CRS. Per tant, no estan recomanats durant les 3 primeres setmanes posteriors a la infusió.

- Toxicitat neurològica: En certes ocasions, el creixement de les cèl·lules ARI-0001 poden afectar al sistema nerviós, això pot manifestar-se com problemes en el moment d'anar a dormir i en els casos més greus al·lucinacions, convulsions o fins i tot, coma. És degut l'augment del nivell d'interleucines inflamatòries a nivell del sistema nerviós. Les cèl·lules CAR-T també tenen certa acció en aquest efecte secundari. Malgrat tot, aquestes complicacions també són reversibles amb antagonistes del receptor de la IL-6. No obstant això, si la neurotoxicitat es troba sense CRS no es pot aplicar aquest tractament, doncs hi ha estudis que dictaminen que la situació del pacient pot empitjorar.^[94]
- Decreixement en els nivells de defenses i plaquetes: És possible que les cèl·lules ARI-0001 poden alterar breument els nivells de les cèl·lules de la sang. Pot ser que aquesta situació es mantingui de manera prolongada.

- Infeccions: El tractament amb cèl·lules ARI-0001 pot afavorir el desenvolupament d'infeccions. Normalment, són de baixa perillositat. Això no vol dir que a vegades puguin ser infeccions greus.
- Síndrome d'obstrucció sinusoïdal: Les cèl·lules T modificades genèticament amb el gen CAR poden derivar en la descomposició de una síndrome d'obstrucció sinusoïdal prèviament establert. Aquesta síndrome, també s'anomena malaltia venooclusiva hepàtica. Consisteix en un error en el funcionament d'algunes venes del fetge que provoca la disminució del flux de la sang en el fetge i causa danys. Els símptomes més freqüents són l'augment del pes, la pell i la part blanca dels ulls es tornen groguencs, el color de l'orina es torna obscur i el fetge augmenta de mida.
- Aplàsia⁴⁸ de cèl·lules B: En els tumors de cèl·lules B, els limfòcits modificats genèticament amb el gen CAR ataquen aquestes cèl·lules B. Les cèl·lules ARI-0001 poden arribar a atacar les cèl·lules B sanes també, que són les que fabriquen immunoglobulines/anticossos. Pot provocar que disminueixi la capacitat de defensa del nostre organisme davant de les infeccions. Per prevenir-les s'administren immunoglobulines de caire general.^[94]

⁴⁸ **Aplàsia:** Absència o desaparició del desenvolupament de les cèl·lules, els teixits o els òrgans.

3.8. La teràpia durant el coronavirus

La pandèmia de COVID-19, causada pel SARS-CoV-2 (en anglès *Severe ACute Respiratory Syndrome Coronavirus-2*) ha generat un gran impacte en diversos aspectes de la societat (com l'economia o la salut). Algunes de les seves conseqüències han estat el tancament de fronteres, el confinament de les persones i la reducció del trànsit de persones. Això ha provocat un desequilibri en el proveïment dels productes mèdics. SARS-CoV-2 va ser reportat a Wuhan (China) al desembre de 2019 i va ser considerat una pandèmia per la OMS (en anglès *World Health Organisation*) al març de 2020.

Òbviament aquesta pandèmia ha afectat la immunoteràpia CAR-T. No obstant això, s'han pres certes mesures per mantenir el funcionament del tractament. Algunes d'aquestes són:

1. La garantia de suficient personal mèdic per realitzar la leucoafèresi i la recepció de les mostres cel·lulars en la secció d'immunoteràpia avançada.
2. Iniciar la limfodepleció només després de rebre les cèl·lules T ja modificades genèticament.
3. Disponibilitat de llits hospitalaris durant 4 setmanes que és el període que dura el tractament aproximadament. Hi ha adults que s'han hagut de moure a hospitals pediàtrics perquè hi havia més llits.
4. La garantia d'un equip mèdic amb la capacitat de saber respondre a complicacions derivades del COVID-19.
5. L'establiment d'uns protocols pels pacients que infectats amb COVID-19.

Durant el primer mes de l'estat d'alarma declarat a Espanya pel COVID-19, tots els procediments relacionats amb la teràpia CAR-T es van posposar i només es va realitzar una infusió a l'Hospital Clínic de Barcelona. No obstant això, el tractament no va ser cancel·lat, però sí que es van retrasar les infusions degut la falta d'espai a les UCIs.

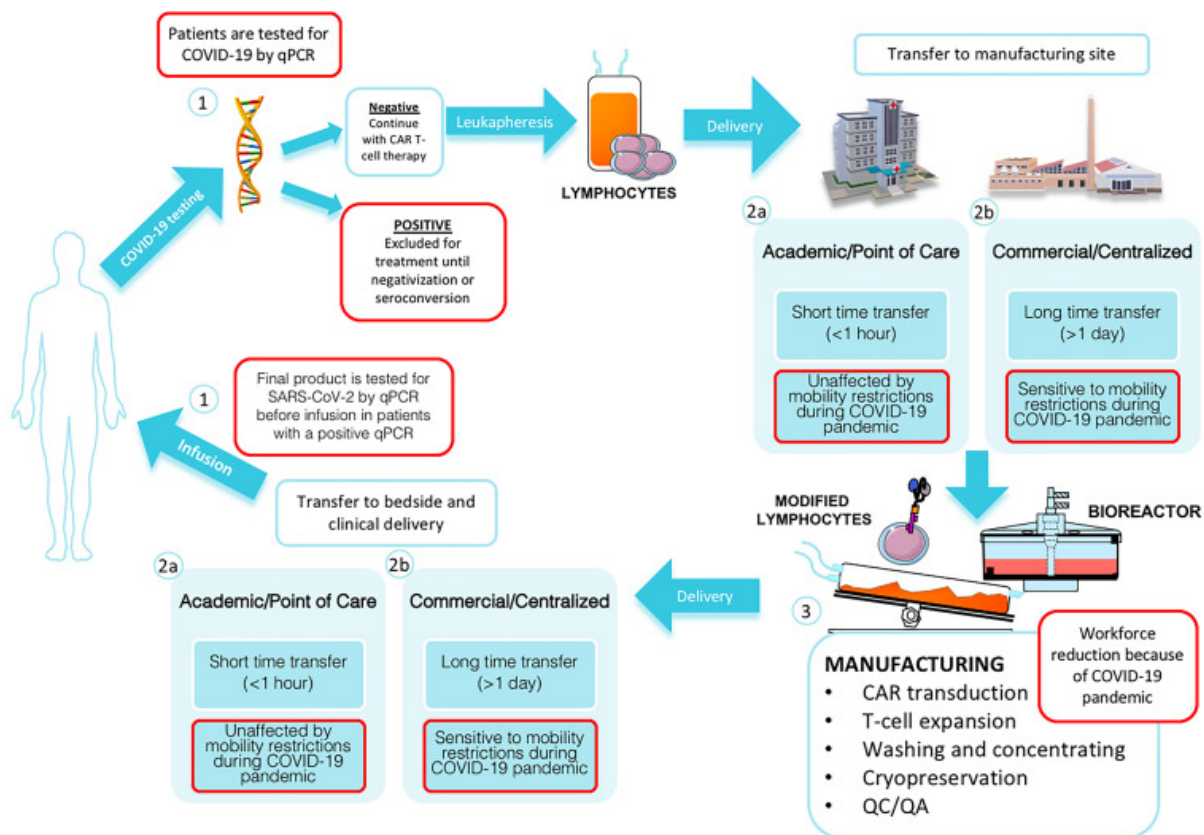
També, dos pacients van ser traslladats a l'hospital pediàtric Sant Joan de Déu ja que hi havia falta de llits a l'HCB.

Posteriorment al primer mes de pandèmia, un llit a la UCI es reservava exclusivament per malalts tractats amb ARI-0001. Aquesta mesura va permetre tractar nou pacients durant tota l'etapa d'estat d'alarma.

Es feien proves constants als pacients tractats amb teràpia CAR-T (per exemple, abans de la leucoafèresi o anteriorment a la infusió). Es limitaven i controlaven les visites als familiars per reduir el risc d'infecció amb el virus.

Però no només la pandèmia va afectar a l'ambient hospitalari, sinó que les tecnologies que s'utilitzen en tots els processos i provenen d'altres regions o països van patir retards a l'hora d'arribar a la seva destinació.

Seguidament, es mostra una imatge que esquematitza el procés de manufacturació de les cèl·lules CAR-T durant la pandèmia de COVID-19 (Vegeu Imatge 34)



Imatge 34. Procés de manufacturació estàndard de les cèl·lules CAR-T durant la pandèmia de COVID-19.^[95]

El procés consta de diversos passos que s'observen en la imatge (Vegeu Imatge 34):

1. En primer lloc, els pacients s'han de fer una PCR (en anglès *Polymerase Chain Reaction*) per detectar SARS-CoV-2 abans de la leucoafèresi.
En cas de donar negatiu es continua amb la teràpia CAR-T. En canvi, si és positiu, el tractament queda en repòs fins que la PCR doni negativa.
2. Depenent del tipus de CAR-T (comercial o acadèmic) hi ha petites diferències. En 2a (acadèmic) el temps de transferència fins la zona de producció és menor a una hora,

mentre que en **2b** (comercial) el temps és major a un dia. En el cas de l'HCB (acadèmic) es fa la producció en el mateix centre, per tant no hi ha restriccions de mobilitat. Per contra, en un CAR-T comercial sí que hi ha restriccions de moviment.

3. Les cèl·lules T s'elegeixen, s'activen i es fa la transducció amb un vector viral o no viral per expressar el gen CAR desitjat i expandir-lo en un biorreactor. Posteriorment, les cèl·lules T ja modificades genèticament s'aïllen i es criopreserven. També superen un control de qualitat i de garantia. Aquestes cèl·lules es tornen a enviar al lloc on es farà la infusió. El temps d'entrega depèn de **2a** i **2b**.
4. Abans de fer la infusió, es torna a fer una PCR a la mostra de limfòcits T per assegurar-se que no hi ha infecció per COVID-19. Aquesta última fase només es dona en els pacients que havien donat positiu a la PCR de la leucoafèresi.

Com a conclusió, els centres s'han d'adaptar a les mesures de seguretat establertes durant la pandèmia per continuar amb el tractament ARI-0001. Pels pacients que es troben en un estat més greu, el temps és crucial. És necessària una bona organització entre els diferents equips que hi intervenen. A més, caldria tornar a avaluar algunes d'aquestes normes regulatòries per permetre més flexibilitat durant la pandèmia en aquests casos.

3.9. Actualitat del tractament (Hospital Clínic)

El 10 de febrer de 2021, l'AEMPS va autoritzar el CAR-T ARI-0001 de l'Hospital Clínic per tractar la leucèmia limfoblàstica aguda als pacients en què els tractaments convencionals no hagin funcionat.

Avui, 17 de desembre, aproximadament 11 mesos després, l'HCB ha pogut obtenir el primer CAR-T del mieloma múltiple a Europa. De moment ha estat acceptat com a assaig clínic per l'AEMPS, però els bons resultats del tractament, han fet que els professionals de l'hospital hagin decidit recollir informació i dades dels resultats d'aquest per poder enviar-los a l'AEMPS. Si l'Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios ho accepta, aquesta podrà ser usada com a medicament de teràpia avançada de fabricació no-industrial.

Ha estat una cerca i investigació multidisciplinària entre diferents hospitals de l'estat espanyol (la Clínica Universidad de Navarra, l'Hospital Universitari de Salamanca, l'Hospital Virgen de la Arrixaca de Múrcia i l'Hospital Virgen del Rocío a Sevilla). El mieloma múltiple, és el segon càncer de sang més habitual arreu del món. Els resultats del CAR-T han estat bastant positius, la majoria de pacients milloren i es calcula que un 75% d'aquests segueixen millorant un any després del tractament.

El mieloma múltiple és un tipus de càncer de la sang localitzat a la medulla òssia, lloc en què es troben les cèl·lules plasmàtiques. En aquesta malaltia, les cèl·lules anormals formen tumors en zones properes als ossos.

El primer CAR-T anava dirigit contra la diana CD19, mentre que aquest segon va dirigit contra l'antigen BCMA, el més comú en les immunoteràpies dels es.

Aquest segon és diferent al primer ja que el CAR-T ARI-0002h està humanitzat, cosa que implica que els anticossos creats tinguin major temps de durada i sigui més difícil la possibilitat de rebuig. En canvi, l'ARI-0002 emprava anticossos que són de ratolins, la qual cosa produeix menys eficàcia.

A més, cal dir que la innovació de l'investigació ha fet que aquest nou CAR-T tingui dues fases en comptes d'una. La primera consta de tres dosis petites per reduir la toxicitat en l'organisme i evitar els efectes secundaris; la segona fase consisteix d'una dosi que s'administra després de quatre mesos, només en els casos dels pacients que no hagin millorat.

És necessari destacar que dels 30 pacients tractats, en un període de 12 mesos, un 75% dels pacients segueixen amb l'eficàcia del tractament i no es propaga la malaltia, i un 60% tenen una remissió completa. S'observa en els pacients uns efectes secundaris i toxicitat neurològica lleus.^[96]

4. Conclusions

Un cop ja finalitzat el Treball de Recerca, resumiré els aspectes més rellevants i importants que he pogut obtenir i a més, els contrastaré amb les preguntes i la hipòtesi que vaig tenir a l'inici. Aquest bloc de conclusions consistirà en l'exposició dels resultats i la interpretació d'aquests que he anat recollint, tant en la part pràctica com en l'experimental.

Pel que fa referència al treball, consta de dues parts ben diferenciades. La primera part, que podria ser considerada com la teòrica, s'ha fet una breu aproximació a les característiques del càncer, però sobretot s'ha fet una gran incidència en la genètica d'aquest i dels diferents tipus existents. Partint d'aquesta informació clau, s'ha establert un recorregut on s'han destacat els problemes més importants (com la falta d'especificitat) dels tractaments convencionals contra el càncer i s'ha remarcat el paper de les noves teràpies. D'aquesta manera, el treball ha posat bastant èmfasi en les immunoteràpies, concretament en la immunoteràpia de cèl·lules CAR-T, que era el tema principal del treball.

La segona part és la part experimental, que s'ha fonamentat i verificat a partir de diferents estudis realitzats. A més, els doctors i doctores amb les quals vaig poder assistir a l'Hospital Clínic de Barcelona em van enviar documentació elaborada allà.

D'entre les diferents preguntes que em vaig fer al començament de treball, he pogut trobar respostes que m'han ajudat a entendre millor el perquè d'aquesta teràpia.

He pogut entendre que la teràpia CAR-T és multidisciplinària, és a dir, que hi participen moltes seccions, i és necessari que el procés sigui molt organitzat. S'apliquen diferents tècniques com per exemple, la enginyeria genètica o la transducció del lentivirus. A més, he comprès que, resumidament, es basa en la inserció del gen CAR en els limfòcits T per poder detectar els limfòcits B que s'han convertit en cèl·lules tumorals i seguidament, eliminar-los.

La teràpia es va iniciar a l'HCB gràcies a l'esforç d'Ariana Benedé Jover, una noia que amb 16 anys va ser diagnosticada amb leucèmia. Amb l'ajut dels seus familiars, de distintes fundacions i professionals mèdics del Clínic va poder fer una campanya per recaudar diners. Amb aquests, va promoure el desenvolupament d'un CAR propi que s'anomena ARI-0001 en honor al seu nom. La fase de prova de l'assaig va ser bastant llarga ja que es va iniciar l'any 2017 i va ser autoritzat el seu ús com a medicament de teràpia avançada no industrial.

És necessari destacar que la fase experimental també es va dur a terme amb pacients pediàtrics. No obstant això, el fàrmac només està indicat per adults majors de 25 anys.

El temps de producció depèn de la naturalesa del CAR-T. En cas de ser un acadèmic, com és el cas d'ARI-0001, el temps en què està preparat el producte final és aproximadament de 10 dies ja que es fabrica en el mateix hospital. Mentre que un industrial, pot tardar uns 15 dies. Això és degut als diferents trasllats que es necessiten per a que la mostra de la leucoafèresi arribi fins al centre de producció i es modifiquin les cèl·lules T.

Aquesta immunoteràpia s'aplica en pacients en els quals els tractaments convencionals no són efectius o han patit diverses recaigudes. A més, s'aplica com a última opció perquè és un procés molt llarg i els pacients han d'estar amb unes mínimes condicions de salut. També, s'ha de mencionar que els vectors virals i les tecnologies que s'empren són molt costoses. Per altra banda, la medicina va evolucionant i s'estan trobant nous vectors no virals (com els transposons) que abarateixen molt el producte final.

La meua hipòtesi era: "Al futur, es podran tractar la majoria de càncers amb aquesta teràpia i tenir una gran eficàcia en la vitalitat dels pacients."

Durant aquesta recerca he pogut concloure, amb un gran percentatge de certesa, que es verifica aquesta afirmació. He pogut observar que tindrà una gran eficàcia, ja que gràcies a la recollida de dades que elaboren els científics, s'intenten establir diversos mètodes per evitar una mala transducció que conduiran a un baix rendiment de l'expansió.^[78,79]

Els efectes secundaris més significants són la CRS, la toxicitat neurològica i l'aplàsia de cèl·lules B. Al començament del tractament, s'aplicava tota la mostra de limfòcits T modificats genèticament en una única dosi, que provocava una probabilitat major de patir aquests efectes. Però, donada la gran capacitat d'observació i reflexió, van decidir repartir la mostra en tres dosis diferents. D'aquesta manera, es va aconseguir un control més efectiu sobre els efectes secundaris. Amb aquesta explicació em refereixo a l'adaptació que tenim per aprendre dels errors, és a dir, en el futur és segur que millorarem els sistemes i diferents mecanismes que engloben aquesta immunoteràpia.

Segons les dades que he rebut de l'Hospital Clínic de Barcelona, aproximadament hi ha hagut un 85% de vitalitat. Considerant que l'evolució del tractament ha anat creixent positivament, es pot arribar a deduir que aquest percentatge pot anar a l'alça.

La majoria de càncers que s'han tractat fins ara són càncers que afecten els limfòcits B (alguns tipus de leucèmies i limfomes). Això és perquè al complex CAR que s'inserta en els limfòcits T, té com a diana l'antigen CD19 que s'expressa en les cèl·lules B.

Últimament, s'estan desenvolupant nous CAR-Ts que detectin altres antígens d'altres cèl·lules tumorals (com en el càncer de mama o el mieloma).^[97]

En el cas del mieloma múltiple, s'ha aprovat un nou tipus de CAR-T, l'ARI-0002h, que encara no ha estat aprovada per l'AEMPS com a medicament de teràpies avançades, però en poc temps ho estarà. A més, cal dir que l'eficàcia d'aquest segon en comparació de l'ARI-0001 és molt major, ja que s'han utilitzat els coneixements observats a partir dels errors comesos en el primer CAR-T.

En definitiva, la immunoteràpia de cèl·lules T s'ha consolidat, i al futur ho farà més, com una tractament potencialment curatiu pels pacients amb neoplàsies malignes refractàries. La variabilitat d'antígens als quals es pot dirigir per eliminar-los i la seva alta eficàcia, la converteixen en unes de les teràpies més prometedores.

5. Agraïments

Per acabar aquest Treball de Recerca, és necessari agrair a diverses persones i institucions que han estat ajudant en tot moment, assessorant amb la informació i aclarint dubtes.

En primer lloc, vull agrair la meua mare que ha estat la persona que em va donar a conèixer aquest tractament, ja que anteriorment no el coneixia. A més, em va donar el contacte de la hematòloga Anna Merino i de la immunòloga Mariona Pascal. També, va estar assessorant-me i revisant certes qüestions del treball. És a dir, explicant funcionaments immunològics o paraules que no coneixia.

En segon lloc, m'agradaria donar les gràcies a l'Hospital Clínic de Barcelona per donar-me permís per assistir a les diferents zones on es realitza la immunoteràpia CAR-T.

En tercer lloc, agraeixo els diferents professionals mèdics que han fet que aquest treball sigui possible. A la Dra. Anna Merino per haver-me donat una petita xerrada introductòria i haver-me guiat a l'hora de fer el treball. També, al Dr. Valentín Ortiz per donar-me l'oportunitat de presenciar la visita d'alguns pacients a les consultes, per enviar-me documents informatius/dades de la teràpia i per contactar amb el Dr. Lozano. Agrair al Dr. Lozano (Cap de Secció d'Hemoteràpia) per haver-me explicat el procés de la leucoafèresi i haver-me permès fer diverses fotografies a les màquines relacionades amb el procés. Finalment, a la immunòloga Mariona Pascal (Cap de Secció d'Immunoteràpies Avançades) i la biomèdica Marta Español que em van donar l'opció de visitar, desde el passadís, les sales blanques.

Per acabar, és molt necessari donar les gràcies al meu tutor d'aquest Treball de Recerca. M'ha estat fent les correccions que creia necessàries per fer el millor treball possible i ha estat a disposició quan tenia qualsevol consulta.

En general, m'emporto una experiència inolvidable que m'ha fet pensar en diferents àmbits i sobretot m'ha aportat nous valors.

6. Bibliografia (per ordre d'aparició)

1. Freddie Bray, Jacques Ferlay, Isabelle Soerjomataram, Rebecca L. Siegel, Lindsey A. Torre, Ahmedin Jemal. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. CA CANCER J CLIN.2018;68:394-424.
2. La AEMPS autoriza el CAR-T ARI-0001 del Hospital Clínic para pacientes con leucemia linfoblástica aguda.
<https://www.clinicbarcelona.org/noticias/la-aemps-autoriza-el-car-t-ari-0001-del-hospital-clinic-para-pacientes-con-leucemia-linfoblastica-aguda>
3. Què és el càncer?
<https://www.cancer.gov/espanol/cancer/naturaleza/que-es>
4. Què és el càncer?
<https://www.cancer.org/es/cancer/aspectos-basicos-sobre-el-cancer/que-es-el-cancer.html>
5. Què és el càncer?
<https://www.cancercenter.com/what-is-cancer>
6. Cèl·lula de càncer en procés de divisió cel·lular.
<https://www.cancer.gov/espanol/cancer/naturaleza/que-es>
7. Douglas Hanahan, Robert A. Weinberg. Hallmarks of Cancer: The Next Generation. PlumX Metrics.2000;100:57-70.
8. Dr. Catherine Shaffer. Sellos del cáncer. News Medical Life Science. 2020.
[https://www.news-medical.net/life-sciences/Hallmarks-of-Cancer-\(Spanish\).aspx](https://www.news-medical.net/life-sciences/Hallmarks-of-Cancer-(Spanish).aspx)
9. The Production of Antibodies by Frank MacFarlane Burnet (1941)
<https://www.immunology.org/the-production-antibodies-frank-macfarlane-burnet-1941>
10. Trastorns immunològics
<https://www.msmanuals.com/es/hogar/trastornos-inmunol%C3%B3gicos/biolog%C3%ADa-del-sistema-inmunitario/introducci%C3%B3n-al-sistema-inmunitario>
11. Mark Peakman y Diego Vergani. Inmunología básica y clínica (Segunda Edición). Elsevier. Barcelona. 2011.
12. Jonathan Brostoff, Glenis K.Scadding, David Male, Ivan M.Roitt; Clinical Immunology. Gower Medical Publishing. Londres. 1991.

13. El sistema immunitari.
<http://www.stjosep.org/wp-content/uploads/2013/05/immunologia - 01 el sistema immunitari.pdf>
14. Estos son los genes que permiten a las células cancerosas evadir el sistema inmunológico, en "ABC Salud", 23.09.20.
https://www.abc.es/salud/enfermedades/abci-estos-genes-permiten-celulas-cancerosas-evadir-sistema-inmunologico-202009231833_noticia.html?ref=https%3A%2F%2Fwww.google.com%2F
15. Explican cómo las células tumorales 'engañan' al sistema inmune para colonizar otros órganos, en "ABC Salud", 20.10.16.
https://www.abc.es/salud/enfermedades/abci-explican-como-celulas-tumorales-enganan-sistema-inmune-para-colonizar-otros-organos-201610191819_noticia.html#ancila_comentarios
16. Mechanisms of carcinogenesis.
https://www.iarc.who.int/wp-content/uploads/2018/07/wcr_2008_5.pdf
17. Etapes de la transformació d'una cèl·lula normal a una cèl·lula cancerosa.
https://www.researchgate.net/figure/Carcinogenesis-phases-initiation-promotion-progression-and-metastasis-A-Initiation_fig2_279304092
18. Estadificación del cáncer.
<https://www.cancer.org/es/tratamiento/como-comprender-su-diagnostico/estadificaciondelcancer.html>
19. Stages of Cancer.
<https://www.cancer.net/navigating-cancer-care/diagnosing-cancer/stages-cancer>
20. Factors de risc del càncer
<https://www.msmanuals.com/es/hogar/c%C3%A1ncer/introducci%C3%B3n-al-c%C3%A1ncer/factores-de-riesgo-del-c%C3%A1ncer>
21. Factors de risc del càncer.
<https://www.cancer.gov/espanol/cancer/causas-prevencion/riesgo>
22. Causes del càncer
<https://www.cancerquest.org/es/biologia-del-cancer/causes-cancer>
23. Causes del càncer.
<https://www.cancer.org/cancer/cancer-causes.html>
24. Causes i factors de risc del càncer
<https://www.clinicbarcelona.org/asistencia/enfermedades/cancer/causas-y-factores-de-riesgo>

25. Schistosoma haematobium.
https://es.wikipedia.org/wiki/Schistosoma_haematobium
26. Opisthorchis sinensis.
https://es.wikipedia.org/wiki/Clonorchis_sinensis
27. Com comença el càncer
<https://www.cancerresearchuk.org/about-cancer/what-is-cancer/how-cancer-starts>
28. Genètica del càncer
<https://www.clinicbarcelona.org/asistencia/enfermedades/cancer/genetica-del-cancer>
29. Gens del càncer.
<https://www.cancerquest.org/es/biologia-del-cancer/genes-de-cancer>
30. Investigació de la genètica del càncer
<https://www.cancer.gov/espanol/investigacion/areas/genomica>
31. Factors estimuladors i inhibidors del creixement tumoral.
<https://www.medwave.cl/link.cgi/Medwave/PuestaDia/Cursos/3490>
32. Genètica; el cicle cel·lular
https://www.juntadeandalucia.es/averroes/centros-tic/14002996/helvia/aula/archivos/repositorio/250/282/html/genetica/contenidos/interf.htm?curso01/secc01_03.htm
33. Genètica; el cicle cel·lular
https://biologia-geologia.com/biologia2/811_interfase.html
34. Genètica; el cicle cel·lular
<http://genomasur.com/lecturas/Guia12a.htm>
35. María del Carmen Lagunas Cruz, Arturo Valle Mendiola, Isabel Soto Cruz. Ciclo celular: Mecanismos de regulación. Vertientes. 2014;17(2):98-107.
36. La cèl·lula: Regulació del cicle cel·lular.
<https://mmegias.webs.uvigo.es/5-celulas/ampliaciones/8-regulacion.php>
37. Control del cicle cel·lular.
<https://courses.lumenlearning.com/biology1/chapter/control-of-the-cell-cycle/>
38. Alberts B, Johnson A, Lewis J, et al. Molecular Biology of the Cell. 4th edition. Garland Science. New York. 2002.
39. Cicle d'expressió de les ciclines.
<https://www.khanacademy.org/science/ap-biology/cell-communication-and-cell-cycle/regulation-of-cell-cycle/a/cell-cycle-regulators>

40. Procés en què s'aconsegueix fosforitzar una proteïna controladora del cicle cel·lular.
<https://www.khanacademy.org/science/ap-biology/cell-communication-and-cell-cycle/regulation-of-cell-cycle/a/cell-cycle-regulators>
41. Tratamientos del cáncer.
<https://www.cancer.gov/espanol/cancer/tratamiento/tipos>
42. Tratamientos del càncer.
<https://www.cancer.org/es/tratamiento/tratamientos-y-efectos-secundarios/tipos-de-tratamiento.html>
43. Tratamientos del cáncer.
<https://www.msdmanuals.com/es-es/hogar/c%C3%A1ncer/prevenci%C3%B3n-y-tratamiento-del-c%C3%A1ncer>
44. Tractaments del càncer.
<https://www.clinicbarcelona.org/asistencia/enfermedades/cancer/tratamiento>
45. Possibles efectes secundaris de la quimioteràpia en els pacients.
<https://canceronline.cl/2018/11/07/quimioterapia-y-cancer/>
46. Hormonoteràpia.
<https://seom.org/163-informacion-al-publico-guia-de-tratamientos/hormonoterapia>
47. Tipus de càncer
<https://www.cancer.net/cancer-types/31362/view-all>
48. Especialitzacions de cèl·lules mare.
https://www.google.com/url?sa=i&url=https%3A%2F%2Fes.wikipedia.org%2Fwiki%2FDiferenciaci%25C3%25B3n_celular&psig=AOvVaw3nOYMLqKT2ZP5wu-L3Nyut&ust=1636408035487000&source=images&cd=vfe&ved=0CAsOjRxqFwoTCIjfr4-dh_QCFQAAAAAdAAAAABAJ
49. Diferents funcions de les cèl·lules T i Paper dels anticossos (cèl·lules B) en la resposta immunitària humoral.
 Font pròpia.
50. Linfoma de Hodgkin.
<https://www.msdmanuals.com/es-es/professional/hematolog%C3%ADa-y-oncolog%C3%ADa/linfomas/linfoma-de-hodgkin>
51. Linfoma no-Hodgkin
<https://www.cancer.org/es/cancer/linfoma-no-hodgkin/acerca/linfoma-de-celulas-b.html>

52. Linfoma no-Hodgkin.
<https://www.msmanuals.com/es-es/professional/hematolog%C3%ADa-y-oncolog%C3%ADa/linfomas/linfomas-no-hodgkin>
53. Que és el càncer de pròstata?
https://www.cdc.gov/spanish/cancer/prostate/basic_info/what-is-prostate-cancer.htm
54. Càncer de pròstata.
<https://seom.org/info-sobre-el-cancer/prostata>
55. Càncer de pròstata.
<https://www.cancer.org/es/cancer/cancer-de-prostata/acerca/que-es-cancer-de-prostata.html>
56. ¿Qué es el cáncer de mama?
https://www.cdc.gov/spanish/cancer/breast/basic_info/what-is-breast-cancer.htm
57. D M Cittelly, J Finlay-Schultz, E. N. Howe, N. S. Spoelstra, S. D. Axlund, P. Hendricks, et al. Progesterone suppression of miR-29 potentiates dedifferentiation of breast cancer cells via KLF4. *Oncogene*. 2013 May 16;32(20):2555-64.
58. Sundee Dees, Rajkumar Ganesan, Sanjaya Singh, Iqbal S. Grewal. Emerging CAR-T Cell Therapy for the Treatment of Triple-Negative Breast Cancer. *Mol Cancer Ther*. 2020;19:2409-21
59. Jinghua Wang , Penghui Zhou. New Approaches in CAR-T Cell Immunotherapy for Breast Cancer. *Adv Exp Med Biol*. 2017;1026:371-381
60. Generalidades sobre las leucemias.
<https://www.msmanuals.com/es-es/professional/hematolog%C3%ADa-y-oncolog%C3%ADa/leucemias/generalidades-sobre-las-leucemias>
61. Leucemia.
<https://www.cancer.org/es/cancer/leucemia.html>
62. Hematopoesi humana (procés de maduració de les cèl·lules sanguínies).
<https://es.wikipedia.org/wiki/Hematopoyesis>
63. Leucemia.
<https://www.cancer.gov/espanol/tipos/leucemia>
64. Translocació "cromosoma Filadelfia".
<https://www.cancer.gov/espanol/publicaciones/diccionarios/diccionario-cancer/defin/cromosoma-filadelfia>
65. Immunoteràpia CAR-T 19.
<https://www.sjdhospitalbarcelona.org/ca/oncologia/immunoterapia-cart-19>

66. Dra. Perla María Jacobo Velázquez, Dr. José Guadalupe Huerta López, Dra. Patricia Cravioto Quintana. Interacciones entre el cáncer y el sistema inmunológico. *Pediatrics*. 2017;6(2):56-53.
67. Craig A. Portell, MD; *How Does CAR T-Cell Therapy Work in Treating Cancer?*, en "Cancer.Net", 17.06.21.
<https://www.cancer.net/blog/2021-06/how-does-car-t-cell-therapy-work-treating-cancer>
68. Immunoteràpia de cèl·lules T amb CAR: l'avenç de 2018.
<https://www.cancer.net/es/blog/2018-02/inmunoterapia-de-c%C3%A9lulas-t-con-car-el-avance-del-a%C3%B1o-2018>
69. Procés complet de la immunoteràpia CAR-T.
Font pròpia.
70. Limfòcit T, amb el gen CAR insertat, detectant una cèl·lula tumoral.
Font pròpia.
71. Smarter Healthcare Management
<https://www.ibm.com/ibm/history/ibm100/us/en/icons/smarterhealthcare/breakthroughs/>
72. Catèter venós central de doble llum.
<https://www.medicaexpo.es/prod/bionic-medizintechnik/product-83675-527589.html>
73. AFÉRESIS. Experiencia en diferentes equipos. Visión del operador
<https://www.sochihem.cl/bases/arch825.pdf>
74. Velocitat de centrifugació i separació de tipus de cèl·lules en leucoafèresi.
Font pròpia.
75. Representació visual i Representació gràfica del funcionament de centrifugació de l'afèresi.
Font pròpia.
76. Spectra Optia (també centrifugació) i Amicus.
Font pròpia.
77. Reacciones adversas a la aféresis
<https://es.slideshare.net/jeanpaulyroxy/reacciones-adversas-a-la-afresis>
78. Nasha Elavia, Sandhya R Panch, Andrew McManus, Thejaswi Bikkani, James Szymanski, Steven L. Highfill, et al. Effects of starting cellular material composition on chimeric antigen receptor T-cell expansion and characteristics. *Transfusion*. 2019;59(5):1755-1764

79. Thomas J Gniadek, Henk S P Garritsen, David Stroncek, Zbigniew M Szczepiorkowski, David H McKenna, Biomedical Excellence for Safer Transfusion (BEST) Collaborative. Optimal Storage Conditions for Apheresis Research (OSCAR): a Biomedical Excellence for Safer Transfusion (BEST) Collaborative study. *Transfusion*. 2018;58(2):461-469.
80. Representació gràfica de l'expansió de les cèl·lules T modificades respecte la quantitat de monòcits i representació gràfica de l'eficàcia de la transducció de les cèl·lules T respecte la presència de neutròfils.
Font pròpia.
81. Congelador Asymptote.
Font pròpia.
82. Cuba de nitrogen líquid amb mostres d'afèresi i cuba amb clau de nitrogen líquid que emmagatzema lentivirus modificats amb el gen CAR.
Font pròpia.
83. Selecció positiva d'un tipus de cèl·lula diana.
Font pròpia.
84. Separació seqüencial. Primer selecció negativa i posteriorment, negativa.
Font pròpia.
85. Comparació basada en tecnologies de columnes i tecnologies de separació de cèl·lules magnèticament sense columnes.
Font pròpia.
86. Descripció general de la citometria de flux.
Font pròpia.
87. Cèl·lula dendrítica activen una cèl·lula T (in vivo). Perles recobertes d'anticossos activant un limfòcit T.
Font pròpia.
88. Esquema representatiu de la teràpia gènica emprant vectors virals.
<https://educacioidigital.cat/ioc-batx/moodle/mod/book/view.php?id=12779&chapterid=8876>
89. Representació gràfica del cicle lisogènic dels lentivirus en infectar els limfòcits T.
https://www.selecat.cat/view.php?p=pau_biol17jl
90. Descongelador "bany Maria".
<https://www.biocompare.com/Product-Reviews/563097-compact-size-water-bath-that-is-perfect-to-have-in-a-small-cell-culture-room/>

91. Descongelador biològic.
<https://www.biolifesolutions.com/precision-thawing-solutions/>
92. Esquema del complex CAR (Receptor quimèric d'antigen).
Font pròpia.
93. Estructures del gen CAR.
Font pròpia.
94. Efectos secundarios terapia CAR-T.
https://www.msrebs.gob.es/profesionales/farmacia/pdf/20190508_Protocolo_manejo_efectos_adversos_CAR_T.pdf
95. Procés de manufacturació estàndard de les cèl·lules CAR-T durant la pandèmia de COVID-19.
Font pròpia.
96. El Clínic-IDIBAPS desenvolupa un CAR-T per a mieloma múltiple que demostra una eficàcia de més del 70% després d'un any de seguiment.
<https://www.clinicbarcelona.org/ca/noticies/el-clinic-idibaps-desenvolupa-un-car-t-per-a-mieloma-multiple-que-demostra-una-eficacia-de-mes-del-70-despres-dun-any-de-seguiment>
97. Ponterio E, De Maria R and Haas TL (2020) Identification of Targets to Redirect CAR T Cells in Glioblastoma and Colorectal Cancer: An Arduous Venture. *Front. Immunol.* 11:565631. doi: 10.3389/fimmu.2020.565631.