

# Células CAR-NK: Un modelo para la inmunoterapia tumoral. Revisión de la literatura.

## CAR-NK cells: A model for tumor immunotherapy. Literature review.

John-Darowin Betancourt-Plaza<sup>1,a</sup>, José Guillermo Ortega-Ávila<sup>1,a</sup>

1. Estudiante de medicina, Semillero de Innovadores en Salud ISSEM.
  2. Bacteriólogo Clínico, Doctor en Ciencias Biomédicas, Profesor Departamento de Ciencias Básicas de la Salud.
- a. Facultad de Ciencias de la Salud, Pontificia Universidad Javeriana Cali (Colombia).

### CORRESPONDENCIA

John-Darowin Betancourt-Plaza  
ORCID ID <https://orcid.org/0000-0002-5122-6558>  
Facultad de Ciencias de la Salud  
Pontificia Universidad Javeriana Cali (Colombia).  
E-mail: [johndarowin@gmail.com](mailto:johndarowin@gmail.com)

### CONFLICTO DE INTERESES

Los autores del artículo hacen constar que no existe, de manera directa o indirecta, ningún tipo de conflicto de intereses que pueda poner en peligro la validez de lo comunicado.

RECIBIDO: 02 de junio de 2021.  
ACEPTADO: 03 de agosto de 2021.

### RESUMEN

El objetivo de esta revisión es describir los principios biológicos, inmunológicos, y oncológicos que, están asociados, con la fundamentación teórica de la utilización de las células CAR-NK, para la inmunoterapia tumoral. Desde el descubrimiento de las células asesinas naturales (en inglés *Natural Killer Cells* o células NK), se han presentado grandes avances en la comprensión de los mecanismos acción, y sus funciones relacionadas con el sistema inmunológico. Este conocimiento ha dado paso al desarrollo de las tecnologías y terapias prometedoras, como las basadas en las células NK modificadas genéticamente con los receptores quiméricos de antígenos (en inglés *Chimeric Antigen Receptors* o CAR) denominadas, por sus siglas en inglés, células CAR-NK que originalmente fueron diseñadas, para el tratamiento de diferentes tipos de cáncer, mostrando resultados potenciales en modelos animales. Se espera que los ensayos clínicos que se están desarrollando arrojen resultados positivos de las células CAR-NK, permitiendo conocer las ventajas y desventajas de este tipo de inmunoterapia.

**Palabras clave:** Células asesinas naturales, receptores quiméricos de antígenos, inmunoterapia, tumor, cáncer.

### ABSTRACT

The objective of this review is to describe the biological, immunological, and oncological principles that are associated with the theoretical basis for the use of CAR-NK cells for tumor immunotherapy. Since the discovery of natural killer cells (in English Natural Killer Cells or NK cells), great advances have been made in the understanding of the mechanisms of action, and their functions related to the immune system. This knowledge has led to the development of promising technologies and therapies, such as those based on genetically modified NK cells with chimeric antigen receptors (CARs) called CAR-NK cells that were originally designed for the treatment of different types of cancer, showing potential results in animal models. It is expected that the clinical trials that are being developed will yield positive results for CAR-NK cells, allowing us to know the advantages and disadvantages of this type of immunotherapy.

**Key words:** Natural killer cells, chimeric antigen receptors, immunotherapy, tumor, cancer.

Betancourt-Plaza JD, Ortega-Ávila JG. Células CAR-NK: Un modelo para la inmunoterapia tumoral. Revisión de la literatura. *Salutem Scientia Spiritus* 2021; 7(4):83-91.



La Revista *Salutem Scientia Spiritus* usa la licencia Creative Commons de Atribución – No comercial – Sin derivar:

Los textos de la revista son posibles de ser descargados en versión PDF siempre que sea reconocida la autoría y el texto no tenga modificaciones de ningún tipo.

## INTRODUCCIÓN

Desde hace 3000 años aproximadamente, hasta principios del siglo XIX, han habido informes anecdóticos acerca de tumores que desaparecieron de manera espontánea en pacientes, o después de haber presentado una infección acompañada de fiebre.<sup>1</sup> En el año 1891, William Coley, el padre de la inmunoterapia, observó que algunos pacientes con cáncer óseo hacían la remisión espontánea del tumor, posterior al desarrollo de erisipela, una infección causada por estreptococos del grupo A, en la piel.<sup>1,2</sup> Durante el mismo año, inició con la aplicación de la mezcla inyectable de *Streptococcus pyogenes* y *Serratia marcescens*, bacterias vivas e inactivadas, en los tumores de cada paciente, desarrollando el primer tratamiento inmunoterapéutico para los tumores.<sup>1</sup> A partir de ese momento, la inmunología y la oncología han convergido, para desarrollar y aplicar estrategias terapéuticas en el tratamiento de los tumores, con la inmunoterapia tumoral.<sup>3</sup>

La inmunoterapia tumoral es un tipo de tratamiento antitumoral que modula dinámicamente el sistema inmune, para eliminar a las células tumorales, a través del fortalecimiento de las células inmunes, por medio de la regulación del microambiente inmunológico.<sup>4</sup> El primer tratamiento comercial de la inmunoterapia tumoral fue una recombinación de la citocina Interferón alfa (IFN- $\alpha$ ) que, fue aprobada por la Administración de Alimentos y Medicamentos de los Estados Unidos (en inglés *Food and Drug Administration* o FDA) en 1986, para tratar la leucemia de células pilosas.<sup>5</sup> A pesar de su amplio uso en pacientes con tumores, no ha sido un tratamiento efectivo, ya que tanto el sistema inmune, como el tumor, presentan una naturaleza compleja de regulación, además de las investigaciones que siguen en desarrollo de la inmunoterapia tumoral.<sup>6</sup> Recientemente, en el año 2019, se aprobó el uso de las células asesinas naturales o las células NK (en inglés *Natural Killer Cells* o NK Cells) para la inmunoterapia tumoral, teniendo un impacto positivo por tener una mayor seguridad y alcance clínico en comparación con otras inmunoterapias celulares.<sup>1,7</sup>

Las células NK son linfocitos granulares citotóxicos de origen biológico que pertenecen a la inmunidad innata del sistema inmune.<sup>8</sup> Fueron descubiertas accidentalmente en 1975, cuando se buscaba medir y caracterizar la citotoxicidad de los linfocitos T citotóxicos.<sup>8,9</sup> Estas células se desarrollan en la médula ósea y en los tejidos linfoides secundarios como las amígdalas, el bazo y los nódulos linfáticos.<sup>8</sup> De los linfocitos circulantes, las células NK representan del 5% al 20% de estos, en el cuerpo humano.<sup>8</sup> Se identifican, en especial, con los antígenos de diferenciación (en inglés cluster of differentiation o CD), en CD56bright CD16dim y CD56dim CD16bright.<sup>10</sup> La célula NK cumple con dos funciones efectoras principales: Primero, son linfocitos citotóxicos que pueden hacer lisis celular directamente contra las células tumorales o estén infectadas de patógenos intracelulares, y segundo, producen citoquinas inflamatorias por estimulación de sus receptores de

activación o la señalización de activación efectora, inducida por las citoquinas inflamatorias.<sup>8</sup> Las funciones antitumorales de esta célula fueron descritas en el mismo año de su descubrimiento, a partir de las células mononucleares periféricas humanas y de los esplenocitos de roedores.<sup>8</sup>

En la respuesta antitumoral, las células NK se caracterizan por la capacidad para reconocer y eliminar a las células tumorales, a través de los receptores de activación e inhibición durante la sinapsis inmunitaria entre las células NK y tumorales, y la posterior liberación de citoquinas quimiotácticas o lisis celular mediada por linfocitos.<sup>11</sup> Sin embargo, las células tumorales tienen la capacidad de desarrollar mecanismos de evasión inmune, para no ser reconocidas por las células del sistema inmunológico.<sup>12</sup> Además de esto, el conocimiento de la inmunoterapia con esta célula aún es limitada, por el desarrollo tecnológico en pruebas *ex vivo* y *in vivo*.<sup>12,13</sup> Pero, gracias a la ingeniería genética, se ha logrado superar esas limitaciones, y mejorar los objetivos de las células NK con relación a la respuesta antitumoral.<sup>12,13</sup>

Dentro de las modificaciones genéticas en las células NK, se encuentran los receptores de antígenos quiméricos (en inglés *Chimeric Antigen Receptors* o CAR), que son receptores transmembrana producidos sintéticamente que, modifican la actividad linfocitaria, para la inmunoterapia tumoral.<sup>14</sup> Aunque la investigación de los CAR se ha enfocado en los linfocitos T, la célula NK ha sido considerada como una alternativa para la producción de las células CAR-NK, ya que presentan menores efectos adversos y limitaciones clínicas que los linfocitos T15. En las últimas investigaciones relacionadas con la inmunoterapia tumoral, las células CAR-NK han sido estudiadas en roedores y seres humanos, indicando ser un tratamiento antitumoral efectivo y seguro.<sup>15,16</sup> En esta revisión del tema, se describe los principios biológicos, inmunológicos y oncológicos que, están asociados, con la fundamentación teórica de la utilización de las células CAR-NK, para la inmunoterapia tumoral, así como mostrar el estado actual de su implementación en los estudios clínicos humanos, con sus fortalezas y limitaciones.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizó una búsqueda en las bases de datos de MEDLINE y EMBASE, mediante las palabras claves: Células Asesinas Naturales, Receptores Quiméricos de Antígenos, Inmunoterapia, Tumor y Cáncer. Se aplicó un filtro de disponibilidad de texto, seleccionando la opción de artículo completo disponible. Después, se aplicó un filtro de fecha de publicación, con la opción de los últimos cinco años. Finalmente, se aplicó un filtro de lenguaje, seleccionando los idiomas de inglés y español. En total, se escogieron 39 artículos científicos originales. También se realizó una búsqueda en la base de datos *ClinicalTrials* con el término “CAR-NK”, obteniendo 18 ensayos clínicos para la revisión.

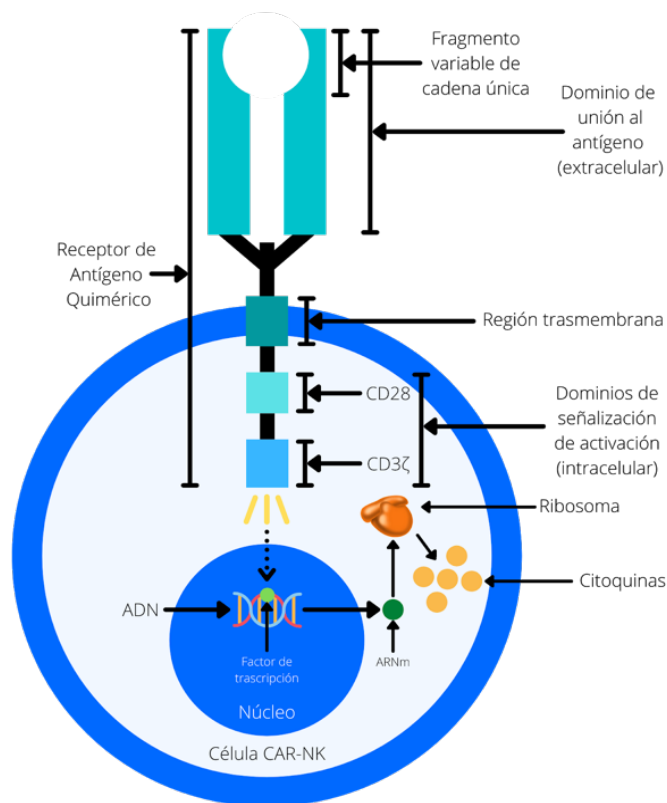
## CAR Y CÉLULA CAR-NK

El primer CAR expresado sintéticamente para una célula inmune fue en 1987, con una estructura similar a los anticuerpos de los linfocitos B17.<sup>18</sup> Cuatro años después, se logró activar linfocitos T CD4+ por medio de un CAR, independientemente de los receptores TCR17.<sup>19</sup> En el año 2017, la FDA aprobó la primera terapia de linfocitos T con CAR, para el tratamiento de pacientes pediátricos y adultos con leucemia linfoblástica aguda de linfocitos B, y en el siguiente año, aprobó la segunda terapia, para pacientes adultos con linfoma de linfocitos B grandes refractaria o en recaída, después de dos o más terapias recibidas.<sup>20</sup> En el año 2019, la FDA aprobó la primera terapia de células NK con CAR, como inmunoterapia antitumoral alternativa a los linfocitos T con CAR para los mismos tumores.<sup>7,15</sup>

Las células CAR-NK se diseñaron como una alternativa al tratamiento con linfocitos CAR-T, ya que, aunque estas últimas células han demostrado una gran eficacia (remisión del 68% al 93% de leucemia linfoblástica de linfocitos B, 57% al 71% de leucemia linfocítica crónica, y del 64% al 86% en otros linfomas no Hodgkin), presentan limitaciones clínicas por la gran complejidad y costo de producción, por la personalización de cada tratamiento para un solo paciente, así como por los efectos tóxicos y adversos más frecuentes, como el síndrome de liberación de citoquinas y la neurotoxicidad.<sup>21</sup> Por ende, siguieron en la búsqueda de un tratamiento alogénico eficaz y de mayor seguridad clínica para la inmunoterapia tumoral, dando inicio a la investigación y uso de las células CAR-NK.<sup>15,21</sup>

El CAR de la célula CAR-NK se divide en tres regiones: El dominio de unión al antígeno extracelular, conformado por un fragmento variable de cadena única (en inglés *single-chain variable fragment* o scFv), la región transmembrana, y los dominios de señalización de activación intracelular, conformados por CD3, CD28, y/o CD137, según la generación de los CAR (Figura 1);<sup>22-26</sup> la primera generación está conformada solamente por el dominio intracelular CD3;<sup>25,26</sup> la segunda por los dominios intracelulares CD3 y CD28;<sup>25,26</sup> la tercera por CD3, CD28 y CD137;<sup>25-26</sup> la cuarta generación está conformada por los dominios intracelulares de la tercera generación y un dominio adicional de la expresión de un producto transgénico que, es variable, según el scFv del CAR sintetizado en el laboratorio.<sup>25,26</sup>

Los dominios de señalización de activación intracelular desencadenan la acción de activación y la muerte celular programada de la célula CAR-NK;<sup>21,22</sup> el dominio intracelular CD137 tiene una mayor persistencia y diferenciación hacia el fenotipo de memoria celular que el CD28, disminuye el agotamiento del receptor, pero su señalización es más lenta y menos intensa que el CD28.<sup>27</sup> El dominio de unión al antígeno extracelular con el scFv cumple la función de identificar al antígeno específico de las células tumo-



**Figura 1.** CAR de la célula CAR-NK. Los Receptores de Antígenos Quiméricos (CAR) de la célula CAR-NK se dividen en tres regiones: El dominio de unión al antígeno extracelular que está conformado por el fragmento variable de cadena única (scFv), la región transmembrana, y los dominios de señalización de activación intracelulares que (por ejemplo, en esta figura), están conformados por CD28 y CD3ζ que hacen parte de la segunda generación de los CAR; al ser estimulados, activan factores de transcripción que conducen a la expresión de genes de citoquinas, que median los efectos de citotoxicidad. ADN: Ácido desoxirribonucleico. Ilustración propia. ARNm: Ácido ribonucleico mensajero. Tomado de Jayaraman *et al.*<sup>27</sup> y 28. Pfefferle *et al.*<sup>28</sup>

rales;<sup>15,22</sup> y las células CAR-NK pueden identificar los antígenos de superficie de uno o más tumores, por medio de los receptores de anticuerpos diseñados genéticamente con el scFv del dominio extracelular del CAR.<sup>24-29</sup>

El scFv está diseñado para reconocer un antígeno específico de las células tumorales de uno o más tumores de una misma línea celular, ya que el dominio de unión al antígeno funciona como un receptor de anticuerpo, a través del reconocimiento de uno o varios CD según como se haya diseñado genéticamente el CAR (Figura 2).<sup>23,29</sup> Por ejemplo, las células CAR-NK contra células tumorales CD19+ pueden reconocer a las células tumorales de los

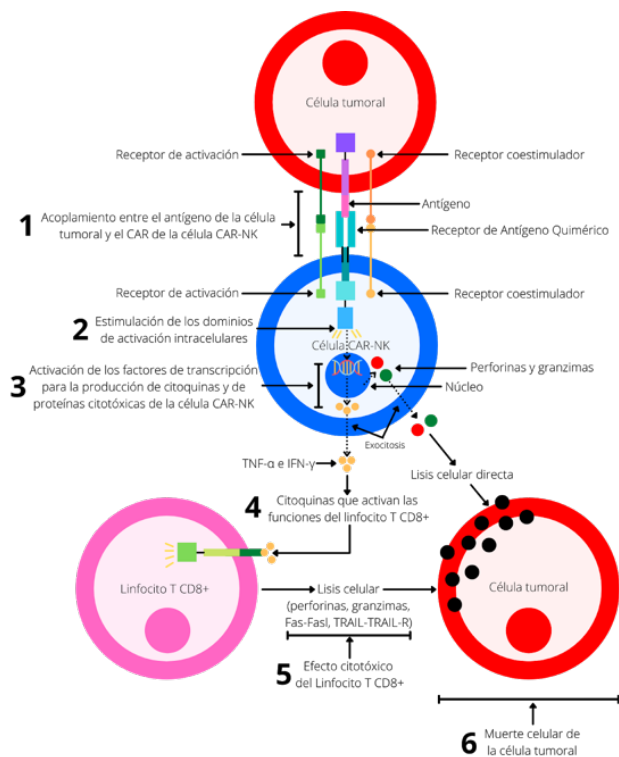
linfomas difusos de los linfocitos B grandes y de las leucemias linfoblásticas agudas de esa línea celular.<sup>30,31</sup> Cuando se acopla el dominio extracelular del CAR con el antígeno expresado de la célula tumoral, junto con los otros receptores de activación de la célula NK como NKG2D, FcRIIIa o FasL y los coestimuladores como LFA-1, CD244 o CD137, se genera la activación de los dominios de señalización de activación intracelular del CAR.<sup>32</sup> Los dominios de señalización de activación intracelular activan los factores de transcripción en el núcleo de la célula, para la producción de citoquinas como el Interferón gamma (en inglés *interferon gamma* o IFN- $\gamma$ ), factor de necrosis tumoral alfa (en inglés *tumor necrosis factor* o TNF- $\alpha$ ), así como de perforinas y granzimas, exocitadas por la célula CAR-NK, causando la muerte de la célula tumoral por lisis celular o por el efecto citotóxico de otras células del sistema inmune (Figura 2).<sup>33</sup> En los últimos cinco años, se han hecho varios ensayos clínicos con las células CAR-NK en tumores hematológicos principalmente, aunque también se ha probado su capacidad para la erradicación de tumores sólidos.<sup>29</sup>

### APLICACIONES CLÍNICAS DE LAS CÉLULAS CAR-NK EN LA INMUNOTERAPIA TUMORAL

Desde el año 2016, iniciaron dos ensayos clínicos con células CAR-NK para inmunoterapia tumoral, en tumores hematológicos;<sup>34</sup> uno, con células CAR-NK contra células CD19+ de diferentes linfomas y leucemias (leucemia linfocítica aguda, crónica y linfocítica de células B, linfoma de células del manto, folicular y difuso de células grandes);<sup>34</sup> y otro con células CAR-NK contra células CD33+ de leucemia mieloide crónica, en diferentes etapas.<sup>35</sup> Sin embargo, ambos estudios se encuentran en estado “desconocido”.<sup>34</sup> En las Tablas 1 y 2 se resumen las características principales de 18 ensayos clínicos con células CAR-NK hacia varios tumores hematológicos y sólidos. La mayoría de los ensayos clínicos se encuentran en estado de “reclutamiento” o “aún no han reclutado”, sin resultados publicados.<sup>34</sup>

De los 18 ensayos clínicos, 12 fueron establecidos para intervenir tumores hematológicos, y seis para tumores sólidos;<sup>34</sup> siete usaron células CAR-NK contra células tumorales CD19+, dos contra CD22+ y dos contra CD33+, y para los tumores sólidos hay una especificidad de antígeno en cada tipo de tumor intervenido (Tabla 1).<sup>34</sup> Quince de los ensayos clínicos fueron iniciados por laboratorios e investigadores en China, cinco en Reino Unido (en colaboración con China), y tres en Estados Unidos;<sup>34</sup> cuatro usaron adicionalmente fármacos antitumorales, y un solo ensayo clínico usó tanto linfocitos T, como células NK.<sup>34</sup> La mayoría de la población objetivo de la inmunoterapia tumoral fue para mayores de 18 años, hasta los 70-80 años;<sup>32</sup> solo cuatro estudios incluyeron población pediátrica (de 3 a 14 años en adelante).<sup>34</sup>

### LIMITACIONES DE LAS TERAPIAS CON CÉLULAS CAR-NK



**Figura 2.** Interacción biológica entre la célula CAR-NK y la célula tumoral. Cuando todos los receptores de la célula CAR-NK se acoplan con los antígenos de la célula tumoral, estimulan los dominios de activación de señalización intracelulares, conduciendo a la activación de los factores de transcripción nucleares, que promueven la producción de citoquinas como el IFN- $\gamma$  y el TNF- $\alpha$ , que activan otras células inmunológicas citotóxicas como linfocitos T CD8+, así como la liberación de perforinas y granzimas por la célula CAR-NK, para causar la lisis celular de la célula tumoral. Tomado de Jayaraman *et al*<sup>27</sup> y 28. Pfefflerle *et al*.<sup>28</sup>

Aunque 13 de los ensayos clínicos, aún están en fase de reclutamiento o no han reclutado (en una etapa activa), y las células CAR-NK han demostrado mejores resultados preliminares en fases preclínicas, en comparación con los linfocitos CAR-T CD4+ y CD8+, estas células presentan algunas limitaciones en su aplicación clínica: Baja persistencia en ausencia de citoquinas de activación, un menor número celular en la expansión ex vivo, y son poco efectivas contra los tumores sólidos.<sup>54</sup> Adicionalmente hasta el momento, solo hay una línea celular aplicable en los ensayos clínicos para la inmunoterapia tumoral, línea celular NK-92, que se originó de un paciente que presentaba linfoma de células NK, y ahora es cultivada en laboratorio;<sup>55,56</sup> esta es la única línea de células NK que ha mostrado una buena citotoxicidad en ensayos preclínicos.<sup>54</sup> Otras limitaciones son los altos costos en la preparación y aplicación de las células CAR-NK, el número



## Células CAR-NK

**Tabla 1.** Ensayos clínicos de células CAR-NK en tumores hematológicos

Título (En inglés)	Estado	Características de la célula CAR-NK	Tumores a intervenir	n	País y referencia
<i>PCAR-119 Bridge Immunotherapy Prior to Stem Cell Transplant in Treating Patients With CD19 Positive Leukemia and Lymphoma</i>	Desconocido	Biológicas: anti-CD19+	Leucemia linfocítica aguda Leucemia linfocítica crónica Linfoma folicular Linfoma de células del manto Leucemia linfocítica de células B Linfoma difuso de células grandes	10 personas entre 3 y 80 años, de cual- quier sexo	China <sup>36</sup>
<i>CAR-pNK Cell Immunotherapy for Re-lapsed/Refractory CD33+ AML</i>	Desconocido	Biológicas: anti-CD33+	Leucemia mielógena aguda Leucemia mieloide aguda Leucemia mieloide aguda con maduración Leucemia mieloidea aguda sin maduración	10 personas entre 3 y 80 años, de cual- quier sexo	China <sup>37</sup>
<i>Umbilical &amp; Cord Blood (CB) Derived CAR-Engineered NK Cells for B Lymphoid Malignancies</i>	Reclutando	Biológicas: anti-CD19+ (en com-binación con fármacos antitu- morales)	Tumores de células B Leucemia linfocítica aguda Leucemia linfocítica crónica Linfomas no Hodgkin	36 personas entre 7 y 80 años, de cual- quier sexo	Estados Unidos <sup>38</sup>
<i>CAR.CD19-CD28-zeta-2A-iCasp9-IL15-Transduced Cord Blood NK Cells, High-Dose Chemotherapy, and Stem Cell Transplant in Treating Participants With B-cell Lymphoma</i>	Retirado (Falta de financiación)	Biológicas: (en combinación con fármacos antitu- morales)	Linfoma de células del manto Linfoma difuso de células B grandes recurrente Linfoma folicular recurrente Linfoma no Hodgkin de células B refractario Linfoma difuso de células B grandes difuso Linfoma folicular refractario	Sin datos por retiro	Estados Unidos <sup>39</sup>
<i>Study of Anti-CD19 CAR NK Cells in Relapsed and Refractory B Cell Lymphoma</i>	Aún no han reclutado	Biológicas: anti-CD19+	Linfoma de células B refractario	9 personas entre 18 y 70 años, de cual- quier sexo	China y Reino Unido <sup>40</sup>
<i>Study of Anti-CD22 CAR NK Cells in Relapsed and Refractory B Cell Lymphoma</i>	Aún no han reclutado	Biológicas: anti-CD22+	Linfoma de células B refractario	9 personas entre 18 y 70 años, de cual- quier sexo	China y Reino Unido <sup>41</sup>
<i>Study of Anti-CD19/CD22 CAR NK Cells in Relapsed and Refractory B Cell Lymphoma</i>	Desconocido	Biológicas: anti-CD19+ y anti- CD22+	Linfoma de células B refractario	10 personas entre 18 y 70 años, de cual- quier sexo	China y Reino Unido <sup>42</sup>
<i>Clinical Research of Adoptive BCMA CAR-NK Cells on Relapse/Refractory MM</i>	Reclutando	Biológicas: NK-92.	Mieloma múltiple	20 personas entre 18 y 80 años, de cual- quier sexo	China <sup>43</sup>
<i>Safety of Intravenous Allogeneic Engineered Natural Killer Cells in Adults With AML or MDS</i>	Reclutando	Biológicas.	Leucemia mieloide crónica refractaria o en caída Síndrome mielodisplásico Síndrome mielodisplásico refractario	27 personas mayores de 18 años, de cual- quier sexo	Estados Unidos <sup>44</sup>
<i>Anti-CD19 CAR NK Cell Therapy for R/R Non-Hodgkin Lymphoma</i>	Aún no han reclutado	Biológicas: anti- CD19+	Linfomas no Hodgkin	9 personas entre 18 y 75 años, de cual- quier sexo	China <sup>45</sup>
<i>Cord Blood Derived Anti-CD19 CAR-Engineered NK Cells for B Lymphoid Malignancies</i>	Reclutando	Biológicas: anti-CD19+ (en com-binación con fármacos antitu- morales)	Leucemia linfocítica aguda Leucemia linfocítica crónica Linfoma no Hodgkin	27 personas mayores de 18 años, de cual- quier sexo	China <sup>46</sup>
<i>Universal Chimeric Antigen Receptor-modified AT19 Cells for CD19+ Re-lapsed/Refractory Hematological Malignancies</i>	Reclutando	Biológicas: anti-CD19+ (en com-binación con fármacos antitu- morales)	Leucemia linfocítica aguda Leucemia linfocítica crónica Linfoma de células B	27 personas entre 14 a 78 años, de cual- quier sexo	China <sup>47</sup>

Tabla 2. Ensayos clínicos de células CAR-NK en tumores sólidos

Título (En inglés)	Estado	Características de la célula CAR-NK	Tumores a intervenir	n	País y Referencia
<i>Pilot Study of NKG2D-Ligand Targeted CAR-NK Cells in Pa-tients With Metastatic Solid Tu-mours</i>	Desconocido	Biológicas: Contra ligandos NKG2D	Tumores sólidos (no especifica-do)	30 personas entre 18 y 70 años, de cual-quier sexo	China <sup>48</sup>
<i>Study of Anti-PSMA CAR NK Cell in Castration-Resistant Pros-tate Cancer</i>	Aún no han reclutado	Biológicas: anti-PSMA	Cáncer de próstata re-sistente a la castración	3 a 6 personas entre 18 y 70 años, de cualquier sexo	China y Reino Unido <sup>49</sup>
<i>Study of Anti-Mesothelin Car NK Cells in Epithelial Ovarian Cancer</i>	Aún no han reclutado	Biológicas: anti-mesoteliales	Cáncer de ovario epite-lial	30 personas entre 18 y 70 años, de sexo femenino	China y Reino Unido <sup>50</sup>
<i>Clinical Research of ROBO1 Spe-cific BiCAR-NK/T Cells on Pa-tients With Malignant Tumor</i>	Reclutando	Biológicas: ROBO1	Tumores malignos (no especifica-do)	20 personas entre 18 y 75 años, de cual-quier sexo	China <sup>51</sup>
<i>Clinical Research of ROBO1 Spe-cific CAR-NK Cells on Patients With Solid Tumors</i>	Reclutando	Biológicas: ROBO1	Tumores sólidos (no especifica-do)	20 personas entre 18 y 75 años, de cual-quier sexo	China <sup>52</sup>
<i>Clinical Research of ROBO1 Spe-cific BiCAR-NK Cells on Patients With Pancreatic Cancer</i>	Reclutando	Biológicas: ROBO1	Cáncer pan-creático	9 personas entre 18 y 75 años, de cual-quier sexo	China <sup>53</sup>

limitado de pacientes con tumores específicos y los pocos países que han desarrollado ensayos clínicos con estas células (China, Reino Unido y Estados Unidos).<sup>57</sup>

## CONCLUSIONES

La inmunoterapia tumoral ha evolucionado desde inicios del siglo XXI, con el objetivo de brindar un tratamiento alternativo o adicional a los pacientes oncológicos que han recibido radioterapia y/o quimioterapia, a través de las inmunoterapias adoptivas como los linfocitos T CD4+ o CD8+ y las células NK con CAR modificados por la ingeniería genética, con la finalidad de controlar y/o erradicar las células tumorales. La célula CAR-NK ha demostrado en las fases preclínicas de los ensayos ser un tratamiento antitumoral efectivo contra tumores hematológicos, teniendo mejores resultados y menores efectos adversos que los linfocitos CAR-T, aunque presentan sus limitaciones clínicas por las funciones antitumorales limitadas y el comportamiento tumoral impredecible. Además, no hay resultados de las fases clínicas, por lo cual, aún no se conoce con claridad el efecto terapéutico de las células CAR-NK contra los tumores.

Para los próximos años, se espera que los distintos ensayos

clínicos arrojen resultados positivos de las células CAR-NK, conociendo con mayor especificidad las ventajas y desventajas, así como se inicie más ensayos clínicos, en especial contra los tumores sólidos, para comprender todos los efectos antitumorales que tienen estas células, finalmente determinar su efectividad y posible uso en la inmunoterapia tumoral.

## REFERENCIAS

1. Dobosz P, Dzieciatkowski T. The Intriguing History of Cancer Immunotherapy. *Front Immunol.* 2019; 10(2965):1-10. DOI: 10.3389/fimmu.2019.02965
2. Ortiz-Lazo E, Arriagada-Egnen C, Poehls C, Concha-Rogazy M. An Update on the Treatment and Management of Cellulitis. *Actas Dermosifiliogr.* 2019; 110(2):124-130. DOI: 10.1016/j.adengl.2019.01.011
3. Decker W, da Silva R, Sanabria M, Angelo L, Guimarães F, Burt B, et al. Cancer Immunotherapy: Historical Perspective of a Clinical Revolution and Emerging Preclinical Animal Models. *Front Immunol.* 2017;8(829):1-13. DOI: 10.3389/fimmu.2017.00829
4. Tan S, Li D, Zhu X. Cancer Immunotherapy: Pros, cons and beyond. *Biomedicine & Pharmacotherapy.* 2020; 124(109821):1-11. DOI: 10.1016/j.biopha.2020.109821

5. Riley R, June C, Langer R, Mitchell M. Delivery technologies for cancer immunotherapy. *Nat Rev Drug Discov.* 2019; 18:175-196. DOI: 10.1038/s41573-018-0006-z
6. Hegde P, Chen D. Top 10 Challenges in Cancer Immunotherapy. *Immunity.* 2020; 52(1):17-35. DOI: 10.1016/j.immuni.2019.12.011
7. Xie G, Dong H, Liang Y, Ham J, Rizwan R, Chen J. CAR-NK cells: A promising cellular immunotherapy for cancer. *EBioMedicine.* 2020; 59(102975):1-10. DOI: 10.1016/j.ebiom.2020.102975
8. Abel A, Yang C, Thakar M, Malarkannan S. Natural Killer Cells: Development, Maturation, and Clinical Utilization. *Front Immunol.* 2018; 9(1869):1-23. DOI: 10.3389/fimmu.2018.01869
9. Bi J, Wang X. Molecular Regulation of Nk Cell Maturation. *Front Immunol.* 2020; 11(1945):1-12. DOI: 10.3389/fimmu.2020.01945
10. Federici C, Shahaj E, Cecchetti S, Camerini S, Casella M, Lessi E, et al. Natural-Killer-Derived Extracellular Vesicles: Immune Sensors and Interactors. *Front Immunol.* 2020; 11(262):1-24. DOI: 10.3389/fimmu.2020.00262
11. Xu Y, Zhou S, Lam Y, Pang S. Dynamics of Natural Killer Cells Cytotoxicity in Microwell Arrays with Connecting Channels. *Front Immunol.* 2017; 8(998):1-9. DOI: 10.3389/fimmu.2017.00998
12. Mantesso S, Geerts D, Spanholtz J, Kučerová. Genetic Engineering of Natural Killer Cells for Enhanced Antitumor Function. *Front Immunol.* 2020; 11(607131):1-12. DOI: 10.3389/fimmu.2020.607131
13. Terrén I, Orrantia A, Vitallé J, Zenarruzabeitia O, Borrego F. NK Cell Metabolism and Tumor Microenvironment. *Front Immunol.* 2019; 10(2278):1-9. DOI: 10.3389/fimmu.2019.02278
14. Morrissey M, Williamson A, Steinbach A, Roberts E, Kern N, Headley M, et al. Chimeric antigen receptor that trigger phagocytosis. *eLife.* 2018; 7(e36688):1-21. DOI: 10.7554/eLife.36688
15. Wang W, Jiang J, Wu C. CAR-NK for tumor immunotherapy: Clinical transformation and future prospects. *Cancer Letters.* 2020; 472:175-180. DOI: 10.1016/j.canlet.2019.11.033
16. Estes G, Aguiló N, Julián E, Ashiru O, Ho M, Martín C, et al. Natural Killer Anti-Tumor Activity Can Be Achieved by In Vitro Incubation With Heat-Killed BCG. *Front Immunol.* 2021; 12(622995):1-11. DOI: 10.3389/fimmu.2021.622995
17. Feins S, Kong W, Williams E, Milone M, Fraietta J. An introduction to chimeric antigen receptor (CAR) T-cell immunotherapy for human cancer. *Am J Hematol.* 2019; 94:S3-S9. DOI: 10.1002/ajh.25418
18. Kuwana Y, Asakura Y, Utsunomiya N, Nakanishi M, Arata Y, Itoh S, et al. Expression of Chimeric Receptor Composed of Immunoglobulin-Derived V Regions And T-cell Receptor-Derived C Regions. *Biochem Biophys Res Commun.* 1987; 149(3):960-968. DOI: 0006-291X/87.
19. Irving BA, Weiss A. The Cytoplasmic Domain of the T cell Receptor  $\zeta$  Chain is Sufficient to Couple to Receptor-Associated Signal Transduction Pathways. *Cell.* 1991; 64(5):891-901. DOI: 10.1016/0092-8674(91)90314-o
20. Ajina A, Maher J. Strategies to Address Chimeric Antigen Receptor Tonic Signaling. *Mol Cancer Ther.* 2018; 17(9):1795-1815. doi: 10.1158/1535-7163.MCT-17-1097
21. Liu E, Marin D, Banerjee P, Macapinlac H, Thompson P, Basar R, et al. Use of CAR-Transduced Natural Killer Cells in CD19-Positive Lymphoid Tumors. *N Engl J Med.* 2020; 382:545-53. DOI: 10.1056/NEJMoa1910607
22. Xia J, Minamino S, Kuwabara K. CAR-expressing NK cells for cancer therapy: a new hope. *BioScience Trends.* 2020; 14(5):354-359. DOI: 10.5582/bst.2020.03308
23. Bergman H, Sissala N, Hägerstrand H, Lindqvist C. Human NK-92 Cells Function as Target Cells for Human NK Cells – Implications for CAR NK-92 Therapies. *Anticancer Research.* 2020; 40:5355-5359. DOI: 10.21873/anticancer.14543
24. Zhao S, Han Z, Ji C, An G, Meng H, Yang L. The research significance of concomitant use of CAR-CD138-NK and CAR-CD19-NK to target multiple myelomas. *European Journal of Inflammation.* 2018; 16:1-9 DOI: 10.1177/2058739218788968
25. Zhao Z, Chen Y, Francisco N, Zhang Y, Wu M. The application of CAR-T cell therapy in hematological malignancies: Advantages and challenges. *APSB* 2018; 8(4):539–551.
26. Albinger N, Hartmann J, Ullrich E. Current status and perspective of CAR-T and CAR-NK cell therapy trials in Germany. *Gene Ther.* 2021. DOI: 10.1038/s41434-021-00246-w
27. Jayaraman J, Mellody M, Hou A, Desai R, Fung A, Huynh A, et al. CAR-T design: Elements and their synergistic function. *EBioMedicine.* 2020; 8(102931) DOI: 10.1016/j.ebiom.2020.102931
28. Pfeifferle A, Huntington N. You Have Got a Fast CAR: Chimeric Antigen Receptor NK Cells in Cancer Therapy. *Cancers.* 2020; 12(706):1-23 DOI:10.3390/cancers12030706
29. Franks S, Wolfson B, Hodge J. Natural Born Killers: NK Cells in Cancer Therapy. *Cancers.* 2020; 12(2131):1-21. DOI: 10.3390/cancers12082131
30. Gang M, Marin N, Wong P, Neal C, Marsala L, Foster M, et al. CAR-modified memory-like NK cells exhibit potent responses to NK-resistant lymphomas. *Blood.* 2020; 136(20): 2308-2318. DOI: 10.1182/blood.2020006619
31. Liu Q, Xu Y, Mou J, Tang K, Fu X, Li Y, et al. Irradiated chimeric antigen receptor engineered NK-92MI cells show effective cytotoxicity against CD19+ malignancy in a mouse model. *Cytherapy.* 2020;22:552-562. DOI: 10.1016/j.jcyt.2020.06.003
32. Li Y, Hermanson D, Moriarity B, Kaufman D. Human iPSC-Derived Natural Killer Cells Engineered with Chimeric Antigen Receptors Enhance Anti-tumor Activity. *Cell Stem Cell.* 2018; 23:181-192. DOI: 10.1016/j.stem.2018.06.002
33. Peng X, Chen L, Chen L, Wang B, Wang Y, Zhan X. Chimeric antigen receptor-natural killer cells: Novel insight into immunotherapy for solid tumors (Review). *Experimental and Therapeutic Medicine.* 2021; 21(340): 1-7. DOI: 10.3892/etm.2021.9771
34. United States National Library of Medicine. Clinical Trials [Internet]. Estados Unidos: NIH; [Consultado 7 Abr 2021]. Disponible en: <https://clinicaltrials.gov/>

35. Del Zotto G, Marcenaro E, Vacca P, Sivori S, Penade D, Della M, et al. Markers and function of human NK cells in normal and pathological conditions. *Cytometry Part B (Clinical Cytometry)*. 2017;92B:100-114 DOI: 10.1002/cyto.b.21508
36. ClinicalTrials.gov [Internet]. Bethesda (MD): National Library of Medicine (US). 8 Sep 2016 - Identifier NCT02892695, PCAR-119 Bridge Immunotherapy Prior to Stem Cell Transplant in Treating Patients With CD19 Positive Leukemia and Lymphoma; 8 Sep 2016 [Consultado 7 Abr 2021]. Disponible en: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02892695>
37. ClinicalTrials.gov [Internet]. Bethesda (MD): National Library of Medicine (US). 25 Oct 2016 - Identifier NCT02944162, CAR-pNK Cell Immunotherapy for Relapsed/Refractory CD33+ AML; 25 Sep 2016 [Consultado 7 Abr 2021]. Disponible en: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02944162>
38. ClinicalTrials.gov [Internet]. Bethesda (MD): National Library of Medicine (US). 17 Feb 2017 - Identifier NCT03056339, Umbilical & Cord Blood (CB) Derived CAR-Engineered NK Cells for B Lymphoid Malignancies; 17 Sep 2017 [Consultado 7 Abr 2021]. Disponible en: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03056339>
39. ClinicalTrials.gov [Internet]. Bethesda (MD): National Library of Medicine (US). 9 Jul 2018 - Identifier NCT03579927, CAR.CD19-CD28-zeta-2A-iCasp9-IL15-Transduced Cord Blood NK Cells, High-Dose Chemotherapy, and Stem Cell Transplant in Treating Participants With B-cell Lymphoma; 9 Jul 2017 [Consultado 7 Abr 2021]. Disponible en: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03579927>
40. ClinicalTrials.gov [Internet]. Bethesda (MD): National Library of Medicine (US). 1 Oct 2018 - Identifier NCT03690310, Study of Anti-CD19 CAR NK Cells in Relapsed and Refractory B Cell Lymphoma; 1 Oct 2017 [Consultado 9 Abr 2021]. Disponible en: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03690310>
41. ClinicalTrials.gov [Internet]. Bethesda (MD): National Library of Medicine (US). 2 Oct 2018 - Identifier NCT03692767, Study of Anti-CD22 CAR NK Cells in Relapsed and Refractory B Cell Lymphoma; 2 Oct 2017 [Consultado 9 Abr 2021]. Disponible en: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03692767>
42. ClinicalTrials.gov [Internet]. Bethesda (MD): National Library of Medicine (US). 31 Ene 2019 - Identifier NCT03824964, Study of Anti-CD19/CD22 CAR NK Cells in Relapsed and Refractory B Cell Lymphoma; 31 May 2017 [Consultado 9 Abr 2021]. Disponible en: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03824964>
43. ClinicalTrials.gov [Internet]. Bethesda (MD): National Library of Medicine (US). 7 May 2019 - Identifier NCT03940833, Clinical Research of Adoptive BCMA CAR-NK Cells on Relapse/Refractory MM; 7 May 2017 [Consultado 9 Abr 2021]. Disponible en: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03940833>
44. ClinicalTrials.gov [Internet]. Bethesda (MD): National Library of Medicine (US). 10 Nov 2020 - Identifier NCT04623944, Safety of Intravenous Allogeneic Engineered Natural Killer Cells in Adults With AML or MDS; 10 Nov 2020 [Consultado 9 Abr 2021]. Disponible en: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04623944>
45. ClinicalTrials.gov [Internet]. Bethesda (MD): National Library of Medicine (US). 20 Nov 2020 - Identifier NCT04639739, Anti-CD19 CAR NK Cell Therapy for R/R Non-Hodgkin Lymphoma; 20 Nov 2020 [Consultado 9 Abr 2021]. Disponible en: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04639739>
46. ClinicalTrials.gov [Internet]. Bethesda (MD): National Library of Medicine (US). 16 Mar 2021 - Identifier NCT04796675, Cord Blood Derived Anti-CD19 CAR-Engineered NK Cells for B Lymphoid Malignancies; 16 Mar 2020 [Consultado 9 Abr 2021]. Disponible en: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04796675>
47. ClinicalTrials.gov [Internet]. Bethesda (MD): National Library of Medicine (US). 16 Mar 2021 - Identifier NCT04796688, Universal Chimeric Antigen Receptor-modified AT19 Cells for CD19+ Relapsed/Refractory Hematological Malignancies; 16 Mar 2020 [Consultado 9 Abr 2021]. Disponible en: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04796688>
48. ClinicalTrials.gov [Internet]. Bethesda (MD): National Library of Medicine (US). 30 Ene 2020 - Identifier NCT03415100, Pilot Study of NKG2D-Ligand Targeted CAR-NK Cells in Patients With Metastatic Solid Tumours; 30 Ene 2020 [Consultado 9 Abr 2021]. Disponible en: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03415100>
49. ClinicalTrials.gov [Internet]. Bethesda (MD): National Library of Medicine (US). 2 Oct 2018 - Identifier NCT03692663, Study of Anti-PSMA CAR NK Cell in Castration-Resistant Prostate Cancer; 2 Oct 2020 [Consultado 9 Abr 2021]. Disponible en: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03692663>
50. ClinicalTrials.gov [Internet]. Bethesda (MD): National Library of Medicine (US). 2 Oct 2018 - Identifier NCT03692637, Study of Anti-Mesothelin Car NK Cells in Epithelial Ovarian Cancer; 2 Oct 2020 [Consultado 9 Abr 2021]. Disponible en: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03692637>
51. ClinicalTrials.gov [Internet]. Bethesda (MD): National Library of Medicine (US). 30 Abr 2019 - Identifier NCT03931720, Clinical Research of ROBO1 Specific BiCAR-NK/T Cells on Patients With Malignant Tumor; 30 Abr 2019 [Consultado 9 Abr 2021]. Disponible en: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03931720>
52. ClinicalTrials.gov [Internet]. Bethesda (MD): National Library of Medicine (US). 7 May 2019 - Identifier NCT03940820, Clinical Research of ROBO1 Specific CAR-NK Cells on Patients With Solid Tumors; 7 May 2019 [Consultado 9 Abr 2021]. Disponible en: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03940820>
53. ClinicalTrials.gov [Internet]. Bethesda (MD): National Library of Medicine (US). 8 May 2019 - Identifier NCT03941457, Clinical Research of ROBO1 Specific BiCAR-NK Cells on Patients With Pancreatic Cancer; 8 May 2019 [Consultado 9 Abr 2021]. Disponible en: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03941457>
54. Klingemann H, Boissel L, Toneguzzo F. Natural Killer Cells for Immunotherapy – Advantages of the NK-92 Cell Line over Blood NK Cells. *Front. Immunol.* 7:91. DOI: 10.3389/fimmu.2016.00091
55. Basar R, Daher M, Rezvani K. Next-generation cell therapies: the emerging role of CAR-NK cells. *Hematology*. 2020; 570-578. DOI: 10.1182/hematology.2020002547



56. Jamali A, Hadjati J, Madjd Z, Mirzaei H, Thalheimer F, Agarwal S, et al. Highly Efficient Generation of Transgenically Augmented CAR NK Cells Overexpressing CXCR4. *Front. Immunol.* 2020; 11(2028):1-13 DOI: 10.3389/fimmu.2020.02028
57. Ingegnere T, Mariotti F, Pelosi A, Quintarelli C, De Angelis B, Tumino N, et al. Human CAR NK Cells: A New Non-viral Method Allowing High Efficient Transfection and Strong Tumor Cell Killing. *Front. Immunol.* 2019; 10(957):1-10 DOI: 10.3389/fimmu.2019.00957