

Liječenje multiplog mijeloma kimeričnim T limfocitima

Čeović, Doris

Master's thesis / Diplomski rad

2024

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, School of Medicine / Sveučilište u Zagrebu, Medicinski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:105:470958>

Rights / Prava: [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-09-28**



Repository / Repozitorij:

[Dr Med - University of Zagreb School of Medicine Digital Repository](#)



**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
MEDICINSKI FAKULTET**

Doris Čeović

**Liječenje multiplog mijeloma kimeričnim T
limfocitima**

Diplomski rad



Zagreb, 2024.

Ovaj diplomski rad izrađen je pri Katedri za internu medicinu Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, na Zavodu za hematologiju Klinike za unutarnje bolesti KBC-a Zagreb, pod vodstvom doc. dr. sc. Josipa Batinića, dr. med. i predan je na ocjenu u akademskoj godini 2023./2024.

POPIS I OBJAŠNENJE KRATICA KORIŠTENIH U RADU

ACT – adoptivna stanična terapija (engl. *adoptive cell therapy*)

ALL – akutna limfoblastična leukemija

ASCT – autologna transplantacija matičnih stanica (engl. *autologous stem cell transplantation*)

BCMA – antigen sazrijevanja B stanica (engl. *B cell maturation antigen*)

BTK – Brutonova tirozin kinaza

CAR-T – kimerični T limfociti (engl. *chimeric antigen receptor T cell*)

CRS – sindrom otpuštanja citokina (engl. *cytokine release syndrome*)

CT – kompjuterizirana tomografija (engl. *computed tomography*)

DaraKd – daratumumab, karfilzomib i deksametazon

DaraRd – daratumumab, lenalidomid i deksametazon

DaraVd – daratumumab, bortezomib i deksametazon

DaraVMP – daratumumab, bortezomib, melfalan i prednizon

DaraVTD – daratumumab, bortezomib, talidomid i deksametazon

DLBCL – difuzni B velikostanični limfom (engl. *diffuse large B cell lymphoma*)

DLBCL NOS – difuzni B velikostanični limfom bez dodatnih obilježja (engl. *diffuse large B cell lymphoma, not otherwise specified*)

DMSO/HSA – dimetil sulfoksid i humani serumski albumin

EDTA – etilendiamintetraoctena kiselina (engl. *ethylenediaminetetraacetic acid*)

EloPd – elotuzumab, pomalidomid i deksametazon

EloRd – elotuzumab, lenalidomid i deksametazon

EMA – Europska agencija za lijekove (engl. *European Medicines Agency*)

ESMO – Europsko društvo za medicinsku onkologiju (engl. *European Society for Medical Oncology*)

FACS – fluorescencijom aktivirano sortiranje stanica (engl. *fluorescence-activated cell sorting*)

FDA – Uprava za hranu i lijekove (engl. *Food and Drug Administration*)

FISH – fluorescentna in situ hibridizacija

FL – folikularni limfom

FLC – slobodni laki lanci (engl. *free light chains*)

GEP – gensko profiliranje izražavanja gena (engl. *gene expression profiling*)

HDM – visokodozna terapija melfalanom (engl *high-dose melphalan*)

HDT – visokodozna terapija (engl. *high-dose therapy*)

HGBL – B stanični limfom visokog stupnja (engl. *high grade B cell lymphoma*)

HLA – humani leukocitni antigen

HRQoL – kvaliteta života temeljena na zdravlju (engl. *health-related quality of life*)

ICANS – sindrom neurotoksičnosti povezan s imunološkim efektorskim stanicama (engl. *immune effector cell-associated neurotoxicity syndrome*)

IF – imunofiksacija

IMWG – Međunarodna radna skupina za multipli mijelom (engl. *International Myeloma Working Group*)

IRd – iksazomib, lenalidomid i deksametazon

IsaKd – isatuksimab, karfilzomib i deksametazon

IsaPd – isatuksimab, pomalidomid i deksametazon

ITAM – imunoreceptorski aktivacijski motiv temeljen na tirozinu (engl. *immunoreceptor tyrosine-based activation motif*)

KRd – karfilzomib, lenalidomid i deksametazon

LBCL – B velikostanični limfom (engl. *large B cell lymphoma*)

NGF – protočna citometrija nove generacije (engl. *next-generation flow cytometry*)

NGS – sekvenciranje nove generacije (engl. *next-generation sequencing*)

MAIC – usporedba prilagođene usklađenosti (engl. *matching-adjusted indirect comparison*)

MCL – limfom plaštene zone (engl. *mantle cell lymphoma*)

MDE – događaji koji definiraju multipli mijelom (engl. *myeloma defining events*)

MGUS – monoklonalna gamopatija neodređenog značaja (engl. *monoclonal gammopathy of undetermined significance*)

MM – multipli mijelom

MR – magnetna rezonanca

OS – sveukupno preživljenje (engl. *overall survival*)

PBS – fosfatni pufer (engl. *phosphate-buffered saline*)

PET-CT – pozitronska emisijska tomografija udružena s kompjuteriziranom tomografijom

PFS – preživljenje bez napredovanja bolesti (engl. *progression free survival*)

PMBCL – primarni medijastinalni B stanični limfom (engl. *primary mediastinal B cell lymphoma*)

PomVD – pomalidomid, bortezomib i deksametazon

Rd – lenalidomid i deksametazon

r/r – relaps/refraktorno

scFv – jednolančani varijabilni fragment (engl. *single-chain variable fragment*)

Sd – selinekson i deksametazon

SM – tinjajući mijelom (engl. *smouldering myeloma*)

TRUCK – T stanice preusmjerene za univerzalno ubijanje citokinima (engl. *T cells redirected for universal cytokine killing*)

VenVd – venetoklaks, bortezomib i deksametazon

VCD – bortezomib, ciklofosfamid i deksametazon

VMP – bortezomib, melfalan i prednizon

VRd – bortezomib, lenalidomid i deksametazon

VTD – bortezomib, talidomid i deksametazon

WBLD-CT – niskodозна kompjuterizirana tomografija cijelog tijela (engl. *whole-body low-dose computed tomography*)

SADRŽAJ

SAŽETAK.....	9
SUMMARY	10
1. UVOD	1
2. MULTIPLI MIJELOM	2
2.1. EPIDEMIOLOGIJA	2
2.2. ETIOLOGIJA	2
2.3. TIJEK BOLESTI/PATOGENEZA.....	3
2.4. KLINIČKA SLIKA	3
2.5. DIJAGNOSTIKA.....	4
2.6. LIJEČENJE	7
2.6.1. NOVODIJAGNOSTICIRANI PACIJENTI PODOBNI ZA HDT I ASCT	7
2.6.2. NOVODIJAGNOSTICIRANI STARIJI PACIJENTI ILI ONI PACIJENTI KOJI	7
2.6.3. PACIJENTI U RELAPSU ILI ONI REFRAKTORNI NA TERAPIJU	8
3. CAR-T STANIČNA TERAPIJA	10
3.1 STRUKTURA KIMERIČKOG ANTIGEN RECEPTORA.....	10
3.2 PROIZVODNJA CAR-T STANICA	11
3.3 MEHANIZAM DJELOVANJA	12
3.4 KLINIČKA PRIMJENA	13
3.5 TOKSIČNOST I NUSPOJAVE.....	17
3.6 OGRANIČENJA CAR-T STANIČNE TERAPIJE	19
3.6.1 BIJEG ANTIGENA	19
3.6.2 IMUNOSUPRESIVNI TUMORSKI MIKROOKOLIŠ	20
3.6.3 SLABA POSTOJANOST CAR-T STANICA.....	20
3.6.4 SOLIDNI TUMORI.....	21
4 CAR-T STANIČNA TERAPIJA U LIJEČENJU MULTIPLOG MIJELOMA.....	23
4.1 CILJANI ANTIGEN.....	23
4.2 KLINIČKA ISTRAŽIVANJA	24
4.2.1 KARMMA	24
4.2.2 CARTITUDE.....	29
4.2.3 USPOREDBA CARTITUDE I KARMMA ISTRAŽIVANJA	35
4.2.4 CAR T STANICE KOJE CILJAJU GPRC5D	36
5 ZAHVALE	38
6 POPIS LITERATURE	38

7. ŽIVOTOPIS	43
--------------------	----

SAŽETAK

Liječenje multiplog mijeloma kimeričnim T limfocitima

Doris Čeović

Multipli mijelom (MM) je maligna bolest hematopoetskog sustava obilježena nekontroliranom klonalnom proliferacijom zloćudnih plazma stanica unutar koštane srži, prisutnošću monoklalnog proteina u serumu i/ili urinu i pojavom sekundarnih oštećenja organa kao što su osteolitičke lezije, bubrežna insuficijencija, anemija i hiperkalcemija. To je druga najčešća hematološka neoplazma u visoko prihodnim zemljama. Čini 1-1,8% svih karcinoma s procijenjenom incidencijom u Europi 4,5-6,0/100000 godišnje. Unatoč napretku u terapiji, uključujući uporabu inhibitora proteasoma, imunomodulacijskih lijekova i monoklonskih protutijela, većina pacijenata uglavnom doživi recidiv i podlezne bolesti. Terapija kimeričnim T limfocitima pojavila se kao obećavajuće liječenje za relapsni i/ili refraktorni multipli mijelom. Ovaj inovativni pristup uključuje genetsku modifikaciju pacijentovih T-stanica kako bi se na njima izrazio CAR koji cilja specifične antigene na stanicama multiplog mijeloma, što dovodi do njihove destrukcije. Dva CAR-T lijeka, idekaptagen vikleucel i ciltakaptagen autoleucel, pokazala su izvanrednu učinkovitost u kliničkim ispitivanjima, postigavši duboke i trajne remisije kod teško pretretiranih pacijenata, te su odobrena od strane FDA i EMA.

Ključne riječi: idekaptagen vikleucel; imunoterapija, adoptivna; multipli mijelom

SUMMARY

Treatment of multiple myeloma with chimeric T lymphocytes

Doris Čeović

Multiple myeloma (MM) is a malignant disease of the hematopoietic system characterized by uncontrolled clonal proliferation of malignant plasma cells within the bone marrow, the presence of a monoclonal protein in the serum/urine, and the occurrence of secondary end-organ damage such as osteolytic lesions, renal insufficiency, anemia, and hypercalcemia. It is the second most common hematological malignancy in high-income countries. It accounts for 1-1.8% of all cancers, with an estimated incidence in Europe of 4.5-6.0 per 100,000 annually. Despite advancements in therapy, including using proteasome inhibitors, immunomodulatory drugs, and monoclonal antibodies most patients eventually experience relapse and succumb to the disease. Chimeric antigen receptor T-cell (CAR-T) therapy has emerged as a promising treatment for relapsed/refractory multiple myeloma. This innovative approach involves genetically modifying a patient's T cells to express a CAR that targets specific antigens on myeloma cells, leading to their destruction. Two CAR-T products, idecabtagene vicleucel and ciltacabtagene autoleucel, have shown remarkable efficacy in clinical trials, achieving deep and durable remissions in heavily pretreated patients, and have been approved by the FDA and EMA.

Key words: idecabtagene vicleucel; immunotherapy, adoptive; multiple myeloma

1. UVOD

Multipli mijelom (MM) je maligna bolest hematopoetskog sustava obilježena nekontroliranom klonalnom proliferacijom zloćudnih plazma stanica unutar koštane srži, prisutnošću monoklalnog proteina u serumu i/ili urinu i pojavom sekundarnih oštećenja organa kao što su osteolitičke lezije, bubrežna insuficijencija, anemija i hiperkalcemija (1). MM je genetski i klinički heterogena bolest. Zbog velike heterogenosti među pacijentima, stope preživljenja novodijagnosticiranih pacijenata variraju od nekoliko mjeseci do nekoliko desetljeća, ovisno o profilu rizika pojedinog pacijenta. Gotovo svi pacijenti s vremenom postanu rezistentni na sve dostupne lijekove protiv multiplog mijeloma. Stoga se multipli mijelom i dalje smatra neizlječivom bolešću za većinu pacijenata. Ipak, neki pacijenti mogu doživjeti vrlo duge remisijske periode, prelazak u asimptomatska stanja bolesti, pa čak i izlječenje (2). Unatoč mnogim napretcima u terapiji s poboljšanim odgovorima i preživljenjem, multipli mijelom ostaje neizlječiva zloćudna bolest, a većina pacijenata na kraju doživi recidiv i podlegne bolesti. Potrebne su nove, učinkovitije mogućnosti liječenja za relapsni i/ili refraktorni multipli mijelom kako bi se produžilo preživljenje, usporila progresija bolesti i poboljšala kvaliteta života. Kako bi se odgovorilo na ovu potrebu, za pacijente s relapsnim i/ili refraktorni multiplim mijelomom odobrena su dva nova lijeka građena od kimeričnih T limfocita (engl. *chimeric antigen receptor T cell*, CAR-T stanice) (3).

2. MULTIPLI MIJELOM

2.1. EPIDEMIOLOGIJA

MM čini 1-1,8% svih karcinoma s procijenjenom incidencijom u Europi 4,5-6,0/100000 godišnje (6). Među hematološkim neoplazmama MM ima drugu najveću incidenciju, čineći 10% hematoloških neoplazmi globalno i 15% u zapadnom svijetu (7). Incidencija je općenito veća u razvijenijim zemljama, bolest je češća kod muškog spola i starijih osoba te se incidencija povećava s dobi, a medijan dobi pri postavljanju dijagnoze je oko 70 godina. Globalno gledajući, incidencija MM-a je i više nego udvostručena u posljednjih 30 godina. Rastuće globalno opterećenje pripisuje se starenju populacije, povećanoj osviještenosti o bolesti te češćoj i poboljšanoj dijagnostici, a također se i prevalencija povećala zbog progresivnog poboljšanja u sveukupnom preživljenju (engl. *overall survival*, OS). Srednja Europa imala je veći porast dobno-standardizirane stope incidencije nego svjetski prosjek (37,5% u razdoblju 1990.-2019. dok je u svijetu stopa porasla za 12%) (8,9). MM je povezan s najvećim simptomatskim opterećenjem i najnižom kvalitetom života temeljenom na zdravlju (engl. *health-related quality of life*, HRQoL) među pacijentima s hematološkim neoplazmama. HRQoL kod MM-a je heterogena, varira tijekom bolesti, s najvećim opterećenjem pri postavljanju dijagnoze i recidiva (10). Za razliku od smanjenja globalnih stopa smrtnosti, Srednja Europa bilježi porast. Dobno-standardizirana stopa smrtnosti u svijetu pokazala je pad za žene, ostala je stabilna za muškarce, dok je u Srednjoj Europi porasla za otprilike 32% između 1990. i 2019. (9). Hrvatska se nalazi među tri zemlje s najvećim prijavljenim porastom dobno-standardizirane stope smrtnosti među muškarcima (11).

2.2. ETIOLOGIJA

Ne postoji poznati etiološki čimbenik nastanka multiplog mijeloma. Povećani rizik zabilježen je u onih koji su bili izloženi zračenju nakon atomske bombe i u radiologa prije negoli se u praksu uvela radiološka zaštita (12). Epidemiološko istraživanje u

Hrvatskoj upućuje na pozitivnu korelaciju između stanovanja u blizini plinskih i naftnih polja i vjerojatnosti razvitka multiplog mijeloma (13). Čimbenici rizika također su već spomenuta poodmakla dob, budući da ljudi mlađi od 45 godina rijetko razviju bolest, zatim muški spol jer je MM 1,5 puta češći među muškarcima, crna rasa koja je dvostruko podložnija nego bijela te još tjelesna neaktivnost, pretilost, šećerna bolest i obiteljska povijest bolesti (11,14,15). Vjerojatnost genetskog čimbenika u nekim slučajevima podržana je izvješćima o 23 obiteljska klastera MM-a. Citogenetičke abnormalnosti pronađene su u oko 50% slučajeva, ali nije prepoznata ni jedna samostalna karakteristična promjena. Najčešće se abnormalnosti pronalaze na mjestu gena 14q32 no zabilježene su promjene i ostalih gena. Primjer kromosomske translokacije koja je konzistentno asocirana s MM-om je t(11;14)(q13;32) (12,14).

2.3. TIJEK BOLESTI/PATOGENEZA

Opisane su tri faze razvoja multiplog mijeloma, premda ne moraju sve uvijek biti prisutne: monoklonalna gamapatija neodređenog značenja, tinjajući mijelom (obično asimptomatski s niskim razinama paraproteina i 10 - 20% plazma stanica u koštanoj srži) i tipični mijelom (sa simptomima, povišenim razinama paraproteina i više od 20% plazma-stanica u koštanoj srži) (12).

MM se razlikuje od monoklonalne gamapatije neodređenog značenja (engl. *monoclonal gammopathy of undetermined significance*, MGUS) i tinjajućeg mijeloma (engl. *smouldering myeloma*, SM) po prisutstvu visokih razina (>3g/dL) M proteina (monoklonalni laki lanci) i prisutnosti simptoma i znakova bolesti (14).

2.4. KLINIČKA SLIKA

Razvoj multiplog mijeloma uključuje razvoj simptoma koji sugeriraju oštećenja ciljnih organa, a učestali simptomi i znakovi s pomoću kojih se pacijenti prezentiraju mogu se opisati pomoću kratice CRAB koja na engleskom uključuje hiperkalcemiju (C, engl. *calcium levels*), bubrežno zatajenje (R, engl. *renal failure*), anemiju (A, engl. *anemia*) i litičke lezije kostiju (B, engl. *lytic bone lesions*) (14).

Simptomi se mogu manifestirati na različite načine. Razaranje kostiju često uzrokuje lokalnu bol, patološke prijelome ili neurološke komplikacije kao što su bol u korijenu živca ili kompresija leđne moždine. Bol u leđima prisutna je kod dvije trećine pacijenata u trenutku dijagnoze. Metabolički i biokemijski poremećaji koji se mogu pojaviti uključuju visoke razine paraproteina, bubrežno oštećenje i hiperkalcemiju. Visoke razine paraproteina dovode do hiperviskoznosti krvi što rezultira zbunjenošću i glavoboljom. Bubrežno oštećenje, prisutno kod jedne trećine pacijenata, očituje se povišenim razinama ureje i kreatinina u serumu, što uzrokuje mučninu, povraćanje, slabost, zadržavanje tekućine ili svrbež. Hiperkalcemija, također prisutna kod jedne trećine pacijenata, izaziva osjećaj žeđi, učestalo mokrenje, dispepsiju, mučninu, povraćanje, zatvor ili zbunjenost. Infiltracija koštane srži uzrokuje anemiju. Mogu se javiti poremećaji krvarenja, uglavnom zbog makroglobulinemije, a rjeđe zbog trombocitopenije koja obično nije izražena. Slabost i umor su također uobičajeni simptomi. Gubitak tjelesne mase i noćno znojenje obično se ne javljaju dok bolest ne uznapreduje. Neki pacijenti imaju simptome koji su posljedica akutne infekcije. Otprilike 90% pacijenata pati od diseminirane destrukcije kostura (12,15).

MM može imati razne kliničke znakove. Pacijenti mogu biti anemični, a lezije na kostima mogu se manifestirati kao lokalno omekšana ili natečena područja. Kod pacijenata s patološkim prijelomima moguće je uočiti tipične znakove oticanja ili deformacije. Kompresija kralježnične moždine može dovesti do slabosti u donjim udovima, disfunkcije sfinktera i neuroloških znakova tipa lezije gornjeg motornog neurona. Sindrom Caude equine, uzrokovan kompresijom u lumbosakralnom dijelu kralježnice, može prouzročiti slabost donjih motoričkih neurona. Također, moguć je nastanak oftalmoloških znakova bolesti od kojih su najčešći edem papile i retinalna krvarenja (12).

2.5. DIJAGNOSTIKA

Prema revidiranim IMWG kriterijima (16) za postavljanje dijagnoze multiplog mijeloma potrebna su 2 ispunjena kriterija:

1) prisutstvo 10% ili više klonskih plazma stanica koštane srži ili biopsijom dokazan koštani ili ekstramedularni plazmacitom;

2) prisutnost jednog ili više događaja koji definiraju MM (engl. *myeloma defining events*, MDE). MDE jesu:

a) dokazi oštećenja ciljnih organa koji se mogu pripisati osnovnom proliferativnom poremećaju plazma stanica, odnosno hiperkalcemija (serumski kalcij $>0,25$ mmol/L (>1 mg/dL) viši od gornje granice normale ili $>2,75$ mmol/L (>11 mg/dL)), bubrežna insuficijencija (klirens kreatinina <40 mL po minuti ili serumski kreatinin >177 μ mol/L (>2 mg/dL)), anemija (vrijednost hemoglobina više od 2 g/dL ispod donje granice normale ili vrijednost hemoglobina <10 g/dL) i koštane lezije (jedna ili više osteolitičkih lezija na rendgenu kostura, kompjuteriziranoj tomografiji (engl. *computed tomography*, CT) ili pozitronskoj emisijskoj tomografiji-CT (PET-CT));

b) postotak klonalnih plazma stanica u koštanoj srži $\geq 60\%$;

c) omjer slobodnih lakih lanaca (engl. *free light chains*, FLC) u serumu ≥ 100 (razina FLC kojeg proizvode abnormalne plazma stanice u prekomjernim količinama mora biti ≥ 100 mg/L);

d) >1 fokalne lezije na magnetskoj rezonanciji (MR).

U ESMO smjernicama (6) nalaze se preporuke za provedbu dijagnostičkih testova koji su potrebni za postavljanje dijagnoze MM-a koje su prikazane u Tablici 1.

Tablica 1. Preporuke za provedbu dijagnostičkih testova potrebnih za postavljanje dijagnoze multiplog mijeloma. Izrađeno prema (6).

PREPORUKE ZA DIJAGNOSTIČKE PRETRAGE		
	Dijagnostički test	Dijagnoza
Krv	Kompletna krvna slika i razmaz periferne krvi	Obavezno
	Serumska elektroforeza i IF	Obavezno
	Serumski FLC	Obavezno
	Serumske razine imunoglobulina	Obavezno
	Bubrežni i jetreni testovi funkcije	Obavezno
	Kalcij	Obavezno
	Laktat dehidrogenaza	Obavezno
	Albumin, β_2m	Obavezno
	Protočna citometrija	Opcionalno
Urin	24-satni urin za provjeru proteinurije i FLC proteinurije	Obavezno
	Elektroforeza i IF elektroforeza	Obavezno
Koštana srž	Citologija i biopsija za potvrdu plazmacitoze i monoklonalnosti	Obavezno
	NGF i NGS za detekciju klonalnih plazma stanica	Obavezno
	Citogenetika: kariotip i FISH za detekciju del17p, t(4;14), t(14;16), ampl 1q/ gain 1q, t(11;14)	Obavezno
	Napredne tehnike: GEP, NGS	Jedino tijekom kliničkog ispitivanja
Medicinsko snimanje	WBLD-CT	Obavezno
	PET-CT	Opcionalno (može se provesti umjesto WBLD-CT ako je dostupan)
	MR cijelog tijela	Obavezan u WBLD-CT negativnim slučajevima i ako se PET-CT ne provede

2.6. LIJEČENJE

2.6.1. NOVODIJAGNOSTICIRANI PACIJENTI PODOBNI ZA HDT I ASCT

Liječenje započinje uvodnom ili indukcijskom terapijom, zatim slijedi konsolidacijska terapija te na koncu terapija održavanja. Preporučeno liječenje za podobne novodijagnosticirane pacijente, one koji su mlađi od 70 godina, jest indukcijska terapija praćena visokodoznom terapijom (engl. *high-dose therapy*, HDT) sa autolognom transplantacijom matičnih stanica (engl. *autologous stem cell transplantation*, ASCT) te na koncu terapijom održavanja lenalidomidom.

Standardna kombinacija lijekova korištena kao indukcijska terapija je kombinacija tri lijeka koja uključuje barem bortezomib i deksametazon. Prvi izbor bi bila kombinacija bortezomiba, lenalidomida i deksametazona (VRd), dok drugi izbor može biti kombinacija bortezomiba, talidomida i deksametazona (VTD). Kao prvi izbor može se i koristiti kombinacija lijekova koja uključuje monoklonsko protutijelo, tako da se koristi kombinacija četiri lijeka daratumumab i VTD (DaraVTD). Još jedna od opcija je i kombinacija lijekova bortezomib, ciklofosfamid i deksametazon (VCD).

Visokodozna terapija melfalanom (engl. *high-dose melphalan*, HDM) od 200mg/m² standardni je režim nakon koje slijedi ASCT.

Za post-ASCT terapiju održavanja EMA je odobrila lenalidomid za sve pacijente s MM-om do progresije.

2.6.2 NOVODIJAGNOSTICIRANI STARIJI PACIJENTI ILI ONI PACIJENTI KOJI NISU PODOBNI ZA HDT I ASCT

Prije 2019. godine standard liječenja za pacijente koji nisu podobni za ASCT u Europi bili su bortezomib zajedno s melfalanom i prednizonom (VMP) i kombinacija lenalidomid i deksametazon (Rd) koji se sada koriste kao druga opcija, a za prvu opciju koristi se ili VRd kombinacija, koju je EMA odobrila u travnju 2019., ili neka od kombinacija s monoklonskim protutijelom koje je EMA odobrila u listopadu te godine

daratumumab, bortezomib, melfalan i prednizon (DaraVMP) i daratumumab, lenalidomid i deksametazon (DaraRd).

2.6.3. PACIJENTI U RELAPSU ILI ONI REFRAKTORNI NA TERAPIJU

Postoje specifične smjernice ovisno o prethodnom liječenju i odgovoru na terapiju prema kojima će biti izabrana druga linija terapije. Druga ASCT je opcija za pacijente koji su primili primarnu terapiju koja je uključivala ASCT nakon čega je slijedila terapija održavanja lenalidomidom te su imali trajanje remisije od najmanje 36 mjeseci. Za pacijente koji su u početku liječeni terapijom koja je temeljena na bortezomibu te nije uključivala lenalidomid ili daratumumab preporučuju se protokoli od tri lijeka gdje su dva lenalidomid i deksametazon (Rd), a to su kombinacije s karfilzomibom (KRd) ili iksazomibom (IRd) ili elotuzumabom (EloRd) ili DaraRd. Od ovih kombinacija, DaraRd pruža najbolje preživljenje bez progresije bolesti (engl. *progression free survival*, PFS). Pacijentima koji su refraktorni na lenalidomid preporučuju se kombinacije lijekova pomalidomid, bortezomib i deksametazon (PomVD), daratumumab, karfilzomib i deksametazon (DaraKd), isatuksimab, karfilzomib i deksametazon (IsaKd) i daratumumab, bortezomib i deksametazon (DaraVd). PomVD je trenutno najbolja opcija u smislu PFS za pacijente refraktorne na lenalidomid. Venetoklaks, bortezomib i deksametazon (VenVd) kombinacija je pogodna opcija za pacijente s genetskom abnormalnošću t(11;14) koji su refraktorni na lenalidomid, ali još uvijek osjetljivi na inhibitore proteasoma kao što je bortezomib.

Za pacijente koji trebaju treću ili kasnije linije liječenja pristup isto ovisi o njihovom prethodnom liječenju, odgovoru na terapiju i specifičnim karakteristikama. Pacijenti koji su bili liječeni i li su refraktorni i na bortezomib i na lenalidomid preporučuju se kombinacije lijekova DaraKd ili isatuksimab, pomalidomid i deksametazon (IsaPd) ili IsaKd ili elotuzumab, pomalidomid i deksametazon (EloPd). Pacijenti koji imaju genetsku abnormalnost t(11;14) opcija je VenVd. Pacijenti koji su refraktorni na inhibitore proteasoma (bortezomib), imunomodulatorne lijekove (lenalidomid, talidomid, pomalidomid) i anti-CD38 monoklonalna protutijela (daratumumab, isatuksimab) mogu biti liječeni kombinacijom selineksora s deksametazonom (Sd) ili

monoterapijom belantamab mafodotinom. Trenutno je u tijeku nekoliko kliničkih studija koje procjenjuju uvođenje dodatnih terapijskih opcija (6,17).

3. CAR-T STANIČNA TERAPIJA

Imunoterapija koristi vlastiti imunološki sustav tijela u borbi protiv bolesti, raka (18). Dizajnirana je da ili aktivno cilja specifični antigen na tumoru ili pojača imunološki sustav domaćina. Prema mehanizmu kojim imunoterapiju djeluje postoji više skupina imunoterapijskih lijekova koji se koriste u liječenju raka: inhibitori imunoloških kontrolnih točaka, monoklonalna protutijela, lijekovi bazirani na onkolitičkim virusima, terapijska cijepliva, citokini i adoptivna stanična terapija (engl. *adoptive cell therapy*, ACT) . Osnovni princip adoptivne stanične terapije je da su T stanice ključne za eliminaciju stanica raka te stoga prijenos T stanica u proširenom broju može pojačati antitumorski imunitet. Terapija kimeričnim T limfocitima (engl. *chimeric antigen receptor T cell*, CAR-T stanice) vrsta je adaptivne stanične, personalizirane imunoterapije u kojoj se pacijentove T stanice genetski modificiraju u laboratoriju kako bi se stvorili umjetni receptori T stanica. Kimerički antigen receptori su inženjerski stvoreni umjetni receptori koji T stanicama daju jedinstvena svojstva za napad na specifične antigene ili tumorske stanice (19,20).

3.1 STRUKTURA KIMERIČKOG ANTIGEN RECEPTORA

Kimerički antigen receptor (CAR) građen je od četiri glavna dijela: 1)izvanstanične domene; 2)razmaknice (engl. *hinge region*); 3)transmembranske domene i 4)unutarstanične domene.

Izvanstanična domena jest antigen vezajući dio CAR-a i ona omogućuje specifičnost prema ciljanom antigenu, najčešće se temelji na varijabilnim lancima monoklonskih protutijela (engl. *single-chain variable fragment*, scFv) i utječe na afinitet, specifičnost te funkciju CAR-a. Razmaknica se također nalazi izvanstanično i ona je dio receptora koji spaja jedinicu za vezanje antigena sa transmembranskom domenom te služi za pružanje fleksibilnosti kako bi se prevladala sterička prepreka pri čemu duljina i sastav razmaknice mogu utjecati na funkcionalnost, signalizaciju i prepoznavanje epitopa. Antigen prepoznavajuća domena i razmaknica skupa čine ektodomena Glavna funkcija transmembranske domene je usidriti CAR na membranu T stanice, ali može utjecati na ekspresiju, stabilnost, signalizaciju i formiranje sinapsi. CAR-T stanice druge generacije koje se danas koriste uglavnom

su građene s CD28 ili 4-1BB kostimulacijskim domenama. Ako su korištene dvije kostimulacijske domene za izradu onda se to smatra CAR treće generacije. Unutarstanična domena se još naziva i endodomena zadužena je za prijenos aktivacijskih i kostimulacijskih signala unutrašnjosti stanice (20–22). Citoplazmatska domena CD3 ζ je najudaljeniji unutarstanični dio kimeričkog antigen receptora. Ova molekula sadrži tri imunoreceptorska aktivacijska motiva temeljena na tirozinu (engl. *immunoreceptor tyrosine-based activation motif*, ITAM) koji nakon fosforilacije šalju signal putem proteina ZAP70 (23). Postoji i četvrta generacija CAR kojom se nazivaju oni receptori s poboljšanom funkcijom, kada proizvode dodatne molekule kao što su citokini ili posjeduju dodatne receptore poput kostimulacijskih liganada. Oni se također nazivaju TRUCK (engl. *T cells redirected for universal cytokine killing*, T stanice preusmjerene za univerzalno ubijanje citokinima) (22).

3.2 PROIZVODNJA CAR-T STANICA

Postupak proizvodnje CAR-T stanica uključuje višestupanjski postupak koji se sastoji od izolacije limfocita, selekcije T stanica, prijenosa gena, ekspanzije T stanica, formulacije i osiguranja i kontrole kvalitete.

Izolacija limfocita iz krvi pacijenta se provodi tako da se postave dvije igle u obliku arteriovenske fistule gdje postoji „ulazna“ i „primajuća“ ruka. Krv prvo prolazi kroz unutarnju pumpu koja osigurava kontinuiranu brzinu protoka krvi od 2 mL/s, a zatim kroz leukoradijacijski filter koji zadržava leukocite, a posebno limfocite. Nakon obrade dovoljne količine krvi i odspajanja pacijenta od uređaja filter se ispire puferom s etilendiamintetraoctenom kiselinom (engl. *ethylenediaminetetraacetic acid*, EDTA) i fosfatnim puferom (engl. *phosphate-buffered saline*, PBS) kako bi se uklonili leukociti.

Zatim slijedi proces od par koraka centrifugiranja za dodatno odvajanje limfocita od drugih krvnih stanica. Leukociti se talože pri dnu epruvete, supernatant se odbacuje, a limfociti u međusloju se resuspendiraju i centrifugiraju nekoliko puta dok se ne

dobiju čisti limfociti. Na kraju, stanice se suspendiraju u DMSO/HSA otopini i prenose u kriogene bočice za krioprezervaciju na temperaturi od -80°C.

Prijenos gena u T stanice može se obaviti virusnim ili nevirusnim metodama. Virusni vektori, poput retrovirusa, često se koriste zbog visoke učinkovitosti prijenosa gena. Nevirusni vektori uključuju голу DNA, liposome i sustav „uspavana ljepotica“ transpozona.

Nakon transdukcije gena, CAR-T stanice se umnožavaju jedan do dva tjedna u statičkim sustavima uzgoja budući da su stanice vrlo osjetljive na smicanje i zahtijevaju stabilne i statične uvjete.

Prije primjene lijeka konačni proizvod CAR-T stanica mora proći propise i testove toksičnosti koje je formulirala Uprava za hranu i lijekove (Food and Drug Administration, FDA). Glavni testovi uključuju FACS analizu za imunotipiziranje, detekciju endotoksina i testove otpuštanja kroma za procjenu citotoksičnosti (20).

3.3 MEHANIZAM DJELOVANJA

Kimerički antigen receptori (CAR) su rekombinantni receptori koji tipično ciljaju prirodne površinske antigene stanica. Za razliku od fizioloških T staničnih receptora (engl. *T cell receptor*, TCR) koji se vežu za HLA peptidne komplekse CAR se vežu za molekule koje ne zahtijevaju obradu peptida ili ekspresiju HLA putem za prepoznavanje. Nadalje, CAR mogu ciljati tumorske stanice koje su smanjile ekspresiju HLA ili proteasomalnu obradu antigena što su dva mehanizma koja doprinose bijegu tumora od imunosti posredovane T staničnim receptorima. Još jedna karakteristika je sposobnost CAR vezanja ne samo za proteine već i za ugljikohidratne i glikolipidne strukture što dodatno proširuje raspon potencijalnih ciljeva (24).

CAR-T stanice se aktiviraju prepoznavanjem antigena putem scFv, što uzrokuje grupiranje i imobilizaciju CAR molekula. Fosforilacija ITAM domena na CD3ζ lancu pokreće signalizaciju kroz tirozin kinazu ZAP70, slično kao kod TCR signalizacije

(25). Tako se pokreće efektorski odgovor T stanica koji uključuje proliferaciju, oslobađanje citokina, metaboličke promjene i citotoksičnost. Smatra se da CAR-T stanice uglavnom vrše svoju citotoksičnu funkciju kroz sekreciju granzima i perforina, ali postoje neki podaci koji sugeriraju korištenje „receptora smrti“. Signalizacija iz kostimulacijske domene ovisi o funkciji odabrane domene i može se modulirati specifičnim mutacijama (22).

3.4 KLINIČKA PRIMJENA

Tijekom posljednjih godina, terapija CAR-T stanicama postala je nova opcija liječenja određenih hematoloških malignih bolesti i mnogi pacijenti imali su koristi od njezine primjene. Osim uspjeha u liječenju maligniteta B stanica i plazma stanica zabilježena su izvješća o učinkovitosti CAR-T staničnog liječenja i u drugim područjima medicine kao što su onkologija solidnih tumora, autoimune bolesti i infektivne bolesti. Međutim, postoje ograničenja i prepreke koje treba ozbiljno shvatiti te je potrebno daljnje istraživanje (26).

Najviše istraživani cilj za CAR-T staničnu terapiju je CAR čiji je antigen vezajući dio građen od molekule CD19, prisutne u većini B staničnih leukemija i limfoma, ali ne u normalnim tkivima osim u liniji B stanica. Osim što su najviše istraživane i provedeno je najviše kliničkih ispitivanja CD19 CAR-T stanice, među CAR-T stanicama, one se i najčešće se koriste za liječenje hematoloških malignih bolesti. 2017. godine FDA odobrila je prvi CAR-T stanični proizvod tisagenlekleucel (Kymriah®) za liječenje akutne limfoblastične leukemije (ALL) kod djece i odraslih (18,24). EMA je tisagenlekleucel odobrila u kolovozu 2018. Aksikaptagen ciloleucel (Yescarta®) je lijek koji je konstrukcija CAR-T stanica druge generacije koji se sastoji od anti-CD19 scFv dobivenog iz mišjeg hibridoma, humane CD28 kostimulacijske domene i unutarstanične TCR-CD3ζ signalne domene. Na temelju rezultata kliničkih istraživanja FDA je odobrila aksikaptagen ciloleucel za liječenje odraslih pacijenata s r/r B velikostaničnim limfomom nakon dvije ili više linija sustavne terapije. U lipnju 2018. EMA je odobrila autorizaciju za EU sa sličnom indikacijom. Breksukaptagen autoleucel (Tecartus®) je anti-CD19 CAR T-stanični proizvod koji ima isti CAR T-

stanični receptor kao aksikabtagen ciloleucel. Međutim, procesi proizvodnje se razlikuju u ključnom koraku. Tijekom proizvodnje breksukabtagen autoleucela, maligne cirkulirajuće stanice koje izražavaju CD19 uklanjaju se kako bi se smanjila moguća aktivacija i iscrpljivanje anti-CD19 CAR-T stanica tijekom *ex vivo* proizvodnje. Zbog toga je posebno dizajniran za liječenje CD19 pozitivnih malignih bolesti, poput limfoma plaštene zone (engl. *mantle cell lymphoma*, MCL) i B-staničnih leukemija. Idekaptagen vikleucel (Abecma[®]) je razvijen za liječenje pacijenata s r/r MM i za razliku od drugih odobrenih CAR-T staničnih proizvoda koji ciljaju CD19 antigen on sadrži anti-BCMA jednovalentni fragment koji cilja antigen sazrijevanja B stanica (engl. *B cell maturation antigen*, BCMA) koji je visoko izražen na stanica multiplog mijeloma, plazma stanicama i zrelim B stanicama, dok je CD19 izražen samo na malom dijelu mijelomskih stanica i stoga nije prikladan ciljni antigen za liječenje multiplog mijeloma. Lizokaptagen maraleucel (Breyanzi[®]) za razliku od drugih anti-CD19 CAR-T staničnih proizvoda tijekom proizvodnje sadrži odabir CD8+ i CD4+ T stanica iz materijala leukoforeze nakon čega slijedi neovisna aktivacija CD8+ i CD4+ T stanica, transdukcija, ekspanzija, formulacija i krioprezervacija. Lizokaptagen maraleucel se primjenjuje u podjednakim dozama CD8+ i CD4+ CAR T-stanica i daje se kao dvije odvojene infuzije, uzastopno. Ciltakaptagen autoleucel (Carvykti[®]) je uz idekaptagen vikleucel jedini FDA i EMA odobren lijek koji cilja BCMA. Budući da se sastoji od dva tandemska *nanobody* teška lanca (VHH) u jednom antigen receptoru može se vezati za dva različita epitopa BCMA (26). Dvije najčešće kostimulacijske domene koje se nalaze u lijekovima koje je odobrila FDA, CD28 i 4-1BB (CD137), povezane su s visokim stopama odgovora pacijenata. Te kostimulacijske domene razlikuju se po svojim funkcionalnim i metaboličkim profilima pri čemu se CAR s DB28 domenom diferenciraju u efektorske memorijske T stanice i prvenstveno koriste aerobnu glikolizu, dok se CAR s 4-1BB domenom diferenciraju u središnje memorijske T stanice i pokazuju povećanu mitohondrijsku biogenezu i oksidativni metabolizam (27). Kako je provedeno sve više kliničkih istraživanja, FDA i EMA su sukladno tome izmjenjivale odobrenja za korištenje lijekova.

FDA i EMA su do veljače 2024. godine odobrile šest komercijalno dostupnih CAR-T staničnih proizvoda koji su prikazani u tablici 2 (26).

Tablica 2. FDA i EMA odobrena CAR-T stanična terapija. Izrađeno prema (26).

CAR-T STANIČNA TERAPIJA		
CAR	Zaštićeni (tvornički, registrirani) naziv lijeka	Generički (službeni, nezaštićeni) naziv lijeka
Anti-CD19-CD137(4-1BB)-CD3ζ	Kymriah®	Tisagenlecleucel
Anti-CD19-CD28-CD3ζ	Yescarta®	Aksikaptagen ciloleucel
Anti-CD19-CD28-CD3ζ	Tecartus®	Breksukaptagen autoleucel
Anti-BCMA-CD137(4-1BB)-CD3ζ	Abecma®	Idekaptagen vikleucel
Anti-CD19-CD137(4-1BB)-CD3ζ	Breyanzi®	Lizokaptagen maraleucel
Anti-BCMA-CD137(4-1BB)-CD3ζ	Carvykti®	Ciltakaptagen autoleucel

Odgovarajuće indikacije za korištenje ovih lijekova sažete su u tablici 3 (26).

Tablica 3. Pregled odobrenih CAR-T staničnih terapija s indikacijama. Izrađeno prema (26).

LIJEKOVI I INDIKACIJE				
Zaštićeni naziv lijeka	Ciljani antigen	Kostimulacijska domena	FDA odobreno	EMA odobreno
Kymriah®	CD19	4-1BB	-Pacijenti ≤25 godina s B staničnom ALL koja je refraktorna ili u drugom ili kasnijem relapsu. -Odrasli pacijenti s r/r LBCL nakon dviju ili više linija sustavne terapije uključujući DLBCL NOS, HGBL i DLBCL poizašao iz FL. Ograničenje upotrebe: Kymriah nije indiciran za liječenje pacijenata s primarnim limfomom središnjeg živčanog sustava. -Odrasli pacijenti s r/r FL nakon dviju ili više linija sustavne terapije.	-Pacijenti ≤25 godina s B staničnom ALL koja je refraktorna, u relapsu nakon transplantacije ili u drugom ili kasnijem relapsu. -Odrasli pacijenti s r/r DLBCL nakon dviju ili više linija sustavne terapije

Yescarta®	CD19	CD28	<p>-Odrasli pacijenti s LBCL koji su refraktorni na prvu liniju kemoimunoterapije ili koji recidiviraju unutar 12 mjeseci od prve linije kemoimunoterapije.</p> <p>-Odrasli pacijenti s r/r LBCL nakon dviju ili više linija sustavne terapije, uključujući DLBCL NOS, PMBCL, HGBL i DLBCL proizašao iz FL.</p> <p>-Odrasli pacijenti s r/r FL nakon dviju ili više linija sustavne terapije.</p>	<p>-Odrasli pacijenti s DLBCL i HGBL koji recidiviraju unutar 12 mjeseci od završetka prve linije kemoimunoterapije ili su refraktorni na prvu liniju kemoimunoterapije.</p> <p>-Odrasli pacijenti s r/r DLBCL i PMBCL nakon dviju ili više linija sustavne terapije.</p> <p>-Odrasli pacijenti s r/r FL nakon tri ili više linija sustavne terapije.</p>
Tecartus®	CD19	CD28	<p>-Odrasli pacijenti s r/r MCL.</p> <p>-Odrasli pacijenti s r/r B staničnom ALL.</p>	<p>-Odrasli pacijenti s r/r MCL nakon dviju ili više linija sistemskog liječenja uključujući inhibitore Brutonove tirozin kinaze (BTK).</p> <p>-Pacijenti ≥26 godina s r/r B staničnom ALL.</p>
Abecma®	BCMA	4-1BB	<p>-Odrasli pacijenti s r/r MM nakon četiri ili više prethodnih linija terapije uključujući imunomodulatorne agense, inhibitore proteasoma i monoklonska protutijela anti-CD38 (daratumumab i isatuksimab).</p>	<p>-Odrasli pacijenti s r/r MM koji su primili barem tri prethodne terapije uključujući imunomodulatorne agense, inhibitore proteasoma i protutijela anti-CD38 te su pokazali progresiju bolesti tijekom posljednje terapije.</p>
Breyanzi®	CD19	4-1BB	<p>-Odrasli pacijenti s LBCL uključujući DLBCL-NOS, DLBCL nastao iz indolentnih limfoma, HGBL, PMBCL i FL stupanj 3B koji imaju sljedeće:</p>	<p>-Odrasli pacijenti s DLBCL, HGBL, PMBCL i FL stupanj 3B s relapsom bolesti unutar 12 mjeseci od završetka ili su refraktorni na prvu</p>

			<ul style="list-style-type: none"> - refraktornu bolest na prvu liniju kemoimunoterapije ili relaps unutar 12 mjeseci od prve linije kemoimunoterapije; - refraktornu bolest na prvu liniju kemoimunoterapije ili relaps nakon prve linije kemoimunoterapije te nisu kandidati za transplantaciju hematopoetskih matičnih stanica zbog komorbiditeta ili dobi; - bolesnici s r/r bolesti nakon dviju ili više linija sistemskog liječenja. 	<p>liniju kemoimunoterapije.</p> <p>-Odrasli pacijenti s r/r DLBCL, PMBCL i FL stupanj 3B nakon dviju ili više linija sistemskog liječenja.</p>
Carvykti®	BCMA	4-1BB	-Odrasli pacijenti s r/r MM nakon četiriju ili više prethodnih linija terapije uključujući inhibitore proteasoma, imunomodulatorne agense i monoklonska protutijela anti-CD38.	-Odrasli pacijenti s r/r MM, koji su primili barem tri prethodne terapije, uključujući imunomodulatorne agense, inhibitore proteasoma i monoklonska protutijela anti-CD38 te su pokazali progresiju bolesti tijekom posljednje terapije.

3.5 TOKSIČNOST I NUSPOJAVE

Trenutno odobrene terapije CAR-T stanicama rezultirale su izvrsnim stopama odgovora kod pacijenata u različitim skupinama bolesti te su dovele do dugotrajne remisije bolesti. Međutim, postoji niz jedinstvenih i ozbiljnih nuspojava liječenja,

posebno sindrom otpuštanja citokina i sindrom neurotoksičnosti povezan s imunološkim efektorskim stanicama (28)

Sindrom otpuštanja citokina (engl. *cytokine release syndrome*, CRS) je akutni upalni odgovor izazvan prekomjernim lučenjem citokina. Jedan je od najčešćih nuspojava uzrokovan terapijom CAR-T stanicama i može uzrokovati simptome koji variraju od blagih pa do po život opasnih. Može napredovati od blagih infuzijskih reakcija i vrućice do simptoma i znakova popuštanja vitalnih sustava uključujući hipotenziju, kapilarnu popustljivost i organsku insuficijenciju. Patofiziologija koja leži u osnovi razvoja sindroma otpuštanja citokina proizlazi iz aktivacije T stanica nakon što se antigen veže na CAR. Ova aktivacija rezultira proliferacijom i oslobađanjem citokina i kemokina koje proizvode i CAR-T stanice i druge stanice imunološkog sustava. Najčešće povišeni citokini su interleukini (IL-6, IL-8, IL-10), interferon gamma, čimbenik rasta granulocitopoeze, makrofakni upalni protein 1 β i monocitni kemotaktički protein 1. Neki od glavnih znakova i simptoma jesu povišena tjelesna temperatura, bolovi u mišićima, bolovi u zglobovima, umor, mučnina, brzo disanje, hipotenzija, osip na koži, epileptički napadaji, glavobolja, halucinacije i ponekad gubitak koordinacije. Dijagnoza je klinička i može se postaviti na temelju prisutnosti povišene tjelesne temperature, hipotenzije i hipoksije (20,28). Laboratorijski testovi mogu pokazivati visoku razinu dušičnih spojeva u krvi, visoke d-dimere, povišene transaminaze i povišenu razinu bilirubina (29). CRS može dovesti do smrti ako se ne liječi na vrijeme stoga je izuzetno važno započeti liječenje odmah (30). Neki od monoklonskih protutijela koje je odobrila FDA za liječenje su tocilizumab, sarilumab i siltuksimab, a u mnogim kliničkim ispitivanjima kortikosteroidi su također pokazali učinkovitost u liječenju (31).

Sindrom neurotoksičnosti povezan s imunološkim efektorskim stanicama (engl. *immune effector cell-associated neurotoxicity syndrome*, ICANS) je neurotoksični učinak koji se javlja nakon infuzije CAR T stanica (32). Simptomi se uglavnom pojavljuju unutar razdoblja od jednog do tri tjedna od primjene lijeka iako postoje izvješća o odgođenom razvoju sindroma (33). Spektar neurotoksičnosti nakon terapije CAR-T stanicama može varirati od encefalopatije do napadaja, somnolencije te u krajnjem slučaju i smrti (34). Atipični nalazi mogu uključivati prolaznu afaziju, facijalnu paralizu, mioklonus i hemifacijalne spazme. Patofiziologija nije dobro

razjašnjena, a neurološki događaji mogu se pojaviti neovisno o toksičnostima povezanim sa sindromom otpuštanja citokina, što ukazuje na postojanje određenih temeljnih patofizioloških razlika između tih stanja. Neke studije su pokazale da su ICANS i CRS međusobno povezani, ali se oba stanja često javljaju neovisno jedna o drugom (35). Endotelna aktivacija smatra se značajnim čimbenikom razvoja neurotoksičnosti pri čemu povećana propusnost krvno-moždane barijere omogućuje ulazak proupalnih citokina, uključujući interferon gamma i CAR-T stanica u središnji živčani sustav. Fizikalni pregled je ključan za rano otkrivanje neurotoksičnosti, pri čemu se pažljivo procjenjuju nepažnja i jezični deficiti (28). Uz odgovarajuće liječenje, svi ovi simptomi će nestati unutar tjedan dana. Kod težeg oblika bolesti postoji visok rizik od smrtonosnog malignog edema mozga i intracerebralnog krvarenja. Uz suportivno liječenje primjenjuju se sistemski kortikosteroidi i antiepileptici po potrebi. Deksametazon je često lijek izbora zbog visoke penetracije u središnji živčani sustav. Konačno, jedan od najvažnijih, ali često zanemarivan aspekt prevencije toksičnosti je pažljiv odabir pacijenata. U ključnim kliničkim ispitivanjima terapije CAR-T stanicama primijenjeni su strogi kriteriji vezani uz uključivanje u kliničko ispitivanje, što bi trebalo uzeti u obzir prilikom odabira pacijenata za terapiju u kliničkoj praksi (20,28).

3.6 OGRANIČENJA CAR-T STANIČNE TERAPIJE

3.6.1 BIJEG ANTIGENA

Jedno od najizazovnijih ograničenja terapije CAR-T stanicama je razvoj otpornosti tumora na dijelove CAR molekule koji ciljaju jedan antigen. Iako CAR-T stanice usmjerene na jedan antigen u početku liječenja mogu postići visoke stope odgovora, maligne stanice kod značajnog broja pacijenata pokazuju djelomičan ili potpun gubitak ekspresije ciljnog antigena. Ovaj fenomen je poznat kao bijeg antigena. Na primjer, iako 70-90% pacijenata s r/r ALL pokazuju trajne odgovore na CAR-T staničnu terapiju usmjerenu na CD19, nadavni podaci nastali tijekom praćenja tih

pacijenata sugeriraju na razvoj mehanizma otpornosti, uključujući smanjenje i gubitak ekspresije CD19 antigena u 30-70% pacijenata s ponovnom pojavom bolesti nakon liječenja. Slično tome, uočeno je smanjenje ili gubitak BCMA kod pacijenata s MM-om liječenih CAR-T stanicama usmjerenim na BCMA. Slični obrasci otpornosti primijećeni su i kod solidnih tumora, kao što je na primjer u jednom prikazu slučaja liječenja recidiva glioblastoma CAR-T stanicama usmjerenim na IL13Ra2 došlo do smanjena ekspresije tog antigena (21). Mnoge strategije u daljnjem razvijanju terapija CAR-T stanicama sada se oslanjaju na ciljanje više od jednog antigena. Ove strategije koriste ili dvije CAR molekule ili tandemski CAR koji je zapravo jedna CAR molekula koja sadrži dva antigen vezajuća dijela kako bi istovremeno ciljao više tumorskih antigena. Klinički se čini da obje strategije mogu rezultirati produljenim trajanjem remisije, a trenutno se provodi nekoliko kliničkih ispitivanja (36).

3.6.2 IMUNOSUPRESIVNI TUMORSKI MIKROOKOLIŠ

Aktivnost CAR-T stanica može biti ozbiljno narušena tumorskim mikrookolišem. Brojni signali koji dolaze od tumorskih i okolnih stanica značajno utječu na imunološki odgovor protiv tumora. Budući da je tumorski mikrookoliš hematoloških maligniteta uglavnom imunosupresivan onda to postaje još jedan glavni uzrok neuspjeha u liječenju. U B staničnim malignitetima izraženi su ligandi kontrolnih točaka Ligand programirane smrti-1 i Ligand programirane smrti-2 koji se vežu za protein Programirana smrt-1 izražen na aktiviranim CAR-T stanicama, inhibirajući tako njihovu funkciju (37).

3.6.3 SLABA POSTOJANOST CAR-T STANICA

Slaba postojanost CAR-T stanica *in vivo* tijekom terapije predstavlja još jednu veliku prepreku dugotrajnoj remisiji maligniteta uz terapiju CAR-T stanicama (38). To je često posljedica kombinacije međusobno povezanih čimbenika, uključujući iscrpljenost T stanica, transkripcijske i metaboličke promjene te utjecaje iz tumorskog

mikrookoliša. Postojanost CAR-T stanica može se produžiti poboljšanjem njihove aktivnosti i ekspanzije, povećanjem njihove kondicije, smanjenjem iscrpljenosti, modificiranjem stanicama da budu u manje diferenciranom stanju, promjenom njihovom metabolizma i unaprjeđenjem dizajna CAR-a. Svi ovi čimbenici su međusobno povezani. Na primjer, citokini koji reguliraju aktivnost T stanica mijenjaju stanje diferencijacije i metabolizma T stanica(37).

3.6.4 SOLIDNI TUMORI

CAR-T stanična terapija odobrena je za liječenje pacijenata s malignim bolestima B stanica ili recidivirajućim i/ili refraktornim multiplim mijelomom, ali učinkovitost protiv većine solidnih tumora i dalje ostaje uglavnom nedovoljna (39). Autologni limfociti koji infiltriraju tumor umnoženi *ex vivo* pokazali su snažnu antitumorsku aktivnost kod odabranih pacijenata s uznapredovalim stadijem solidnih tumora, posebno kod onih s melanomom (40,41). Međutim, razvoj CAR-T stanica s kliničkom korisnošću kod većine ostalih pacijenata sa solidnim tumorima ostaje nedostižan, iz razloga koji su uglavnom nepoznati. Tijekom kliničkih ispitivanja koji testiraju CAR-T stanice kod pacijenata sa solidnim tumorima većinom je proizvodnja bila izvediva, a terapija dobro podnošena.

Broj CAR-T stanica u krvi pacijenata sa solidnim tumorima u kliničkim ispitivanjima obično je pet do deset puta manji nego u najuspješnijim ispitivanjima koja testiraju CAR-T stanice usmjerene na CD19, ali je nejasno što se događa s CAR-T stanicama u ljudskom tijelu i korelira li broj CAR-T stanica u krvi s brojem prisutnim u tumoru. Ograničeni podaci dostupni su od pacijenata kojima su ubrizgani autologni limfociti koji infiltriraju tumor prošireni *ex vivo* i označeni s ¹¹¹In-oksinom te od drugog izvješća koje opisuje lokalizaciju CAR-T stanica ubrizganih pacijenticama s tumorom jajnika. Slično uzorcima viđenim u mišjim modelima, podaci prikupljeni iz ljudskih istraživanja sugeriraju početno nakupljanje u plućima i sekundarnim limfnim organima, nakon čega slijedi vrlo neučinkovit prijenos do tumora tijekom sljedećih 24-48 sati. Studija objavljena u lipnju 2023. opisuje zadržavanje CAR-T stanica označenih s ¹¹¹In nakon intratumoralne injekcije tijekom 48 sati, bez sistemske

detekcije stanica kod pacijenata s karcinomom skvamoznih stanica glave i vrata. Snimanja korištenjem genetskih tehnika označavanja (poput genetske oznake HSVtk42) tek počinju biti provedena, iako još nisu odobrena za kliničku upotrebu. Jasno je da je sposobnost praćenja lokalizacije CAR-T stanica pomoću snimanja važna i neispunjena potreba koja će pružiti ključne informacije o sudbini CAR-T stanica tijekom duljih vremenskih razdoblja.

Potencijalne prepreke za ciljanje solidnih tumora korištenjem CAR-T stanica nakon intravenske primjene uključuju: 1) skretanje T stanica prema limfoidnim tkivima umjesto prema tumorima; 2) nedostatak ekspresije adhezijskih receptora (selektinskih liganda i ICAM1) na krvnim žilama tumora; 3) nepodudaranje između kemokinskih receptora izraženih na CAR-T stanicama i kemokina proizvedenih od strane solidnih tumora; 4) barijere ekstracelularnog matriksa i stromalnih stanica (poput fibroblasta).

Što se tiče postojanosti CAR-T stanica u kliničkim ispitivanjima koja uključuju pacijente sa solidnim tumorima, gotovo svako ispitivanje provedeno do sada procijenjivalo je prisutnost CAR-T stanica samo u uzorcima krvi koristeći kvantitativni PCR i/ili protočnu citometriju. Podaci iz ovih studija prilično su usklađeni. U gotovo svakom ispitivanju solidnih tumora, broj transkripata CAR-T stanica DNA u krvi kreće se od 10^3 do 10^4 kopija po mikrogramu DNA, a CAR-T stanice su detektibilne samo otprilike mjesec dana nakon infuzije. Nasuprot tome, većina uspješnih ispitivanja koja testiraju CAR-T stanice usmjerene na CD19 kod pacijenata s leukemijom otkrila je visok broj CAR-T stanica u krvi, obično 10^5 do 10^6 kopija po mikrogramu DNA, često s postojanošću koja traje od nekoliko mjeseci do godina (39). Zanimljiva iznimka od ovog općeg zapažanja je uspješno ispitivanje pedijatrijskih pacijenata s neuroblastomom, kod kojih su zabilježene vrlo visoke razine GD2 usmjerenih CAR-T stanica u krvi s postojanošću do dvije godine (42).

U vezi s funkcionalnosti intratumoralnih CAR-T stanica, s obzirom na dostupne prekliničke podatke o funkciji CAR-T stanica i opsežnu literaturu koja opisuje gubitak citolitičke funkcije endogenih limfocita koji infiltriraju tumor kod pacijenata sa solidnim tumorom, čini se vjerojatnim da bi intratumoralne CAR-T stanice kod pacijenata

također postale nefunkcionalne unutar nekoliko dana do tjedana nakon infiltracije tumora.

Za razliku od zloćudnih bolesti B stanica ili multiplog mijeloma, ekspresija antigena kod solidnih tumora je gotovo uvijek niža i heterogenija. Dakle, osim ako CAR-T stanice ne induciraju neki oblik učinka na susjedne stanice ili širenje antigena ili ne ciljaju više antigena, vjerojatnost uspješnog liječenja je niska te iako se isprva pretpostavljalo da bi CAR-T stanice mogle imati takav učinak opći konsenzus je da CAR-T stanice same po sebi ne izazivaju značajne učinke na susjedne stanice.

Što se tiče kliničkog odgovora, antitumorska aktivnost općenito je bila ograničena, iako s nekoliko iznimaka (39). Zanimljivi odgovori na razini pojedinačnih slučajeva opisani su korištenjem višestrukih doza CAR-T stanica usmjerenih na IL-13Ra kod pacijenta s glioblastomom i korištenjem GD2 specifičnih CAR-T stanica kod četiri pedijatrijska pacijenta s difuznim intrinzičnim pontinskim ili difuznim središnjim gliomom (43,44). Obećavajući rezultati prikazani su i u dva izvješća iz kliničkih studija koje su uključivale veći broj pacijenata, što ukazuje na jasne antitumorske učinke (slične po veličini onima prijavljenim kod CAR-T stanica usmjerenih na CD19 kod pacijenata s limfomom) korištenjem CAR-T stanica usmjerenih na claudin18.2 kod pacijenata s gastrointestinalnim tumorima i već spomenute GD2 usmjerne CAR-T stanice kod pacijenata s neuroblastomom (42,45). Usprkos ponekom uspjehu, velika većina ispitivanja CAR-stanica u liječenju solidnih tumora pokazala je minimalnu kliničku aktivnost (39).

4 CAR-T STANIČNA TERAPIJA U LIJEČENJU MULTIPLOG MIJELOMA

4.1 CILJANI ANTIGEN

Antigen sazrijevanja B stanica (BCMA), također poznat kao TNFRSF17 ili CD269, je transmembranski receptor u TNF superobitelji i izražen je u dugoživućim plazma

stanicama, plazmablastima i plazma stanicama. Njegova se ekspresija rijetko opaža u drugim tkivima, zbog čega predstavlja izvrsnu metu za liječenje pacijenata s poremećajima plazma stanica. BCMA je izražen na površini stanica, ali se oslobađa nakon cijepanja izvanstanične domene i dijela transmembranske domene gama sekretazom. Zbog svog jedinstvenog profila ekspresije, BCMA je uspješno ciljan u multiplim mijelomima pomoću protutijela, konjugata protutijelo-lijek, bispecifičnih protutijela i CAR-T stanica.

Do danas su dva CAR-T stanična proizvoda odobrena za liječenje relapsnog i/ili refraktornog multiplog mijeloma. Oba proizvoda su autologna i ciljaju BCMA.

Prvi CAR-T-stanični proizvod usmjeren na BCMA koji je dobio odobrenje FDA za liječenje multiplog mijeloma bio je idekaptagen vikleucel (zaštićeni naziv je Abecma[®]) u ožujku 2021. godine na temelju rezultata faze 2 KarMMA ispitivanja. Idekaptagen vikleucel je proizvod CAR-T-stanica druge generacije koji se sastoji od anti-BCMA vezajuće domene, CD8 α izvanstanične razmaknice i transmembranske domene, 4-1BB kostimulacijske domene i unutarstaničnih CD3 ζ T-signalnih elemenata. EMA je odobrila idekaptagen vikleucel, odnosno Abecmu[®] u kolovozu 2021. godine.

2022. godine odobren je drugi CAR-T stanični proizvod usmjeren protiv BCMA ciltakaptagen autoleucel, zaštićenog imena Carvykti[®], za liječenje pacijenata s relapsnim i/ili refraktornim multiplim mijelomom. FDA ga je odobrila u veljači 2022. godine, a nedugo nakon i EMA u svibnju. Odobrenje se temeljilo na rezultatima studije CARTITUDE-1. Konstrukcija lijeka ciltakaptagen autoleucela sadrži dva jednolančana protutijela koja ciljaju BCMA (46).

4.2 KLINIČKA ISTRAŽIVANJA

4.2.1 KARMMMA

BCMA–usmjeren CAR-T stanični lijek idekaptagen vikleucel (također nazvan bb2121) pokazao je obećavajuću učinkovitost u fazi 1 ispitivanja koje je uključivalo pacijente s

relapsnim i/ili refraktornim mijelomom. Ovi rezultati su potaknuli ključno kliničko istraživanje KarMMA za procjenu učinkovitosti i sigurnosti idekaptagen vikleucela kod pacijenata s relapsnim i/ili refraktornim mijelomom izloženim trima linijama terapija te za evaluaciju farmakokinetike, imunogenosti i potencijalnih biomarkera za odgovor i progresiju. U ovom kliničkom istraživanju faze 2 s jednom skupinom ispitanika, kvalificirani pacijenti imali su 18 godina ili više; primili su najmanje tri linije liječenja za MM uključujući imunomodulatornu tvar, inhibitor proteasoma i anti-CD38 antitijelo; imali su bolest koja je bila refraktorna na njihov posljednji režim liječenja; imali su mjerljivu bolest; te su imali odgovarajuću funkciju organa(47). Mjerljivom bolešću se smatra ona u kojoj je mjerljiv serumski monoklonalni M protein (≥ 1 g/dL u serumu i/ili ≥ 200 mg/dan u urinu) (16). Limfodeplecija s fludarabinom (30 mg/m^2) i ciklofosamidom (300 mg/m^2) provedena je tijekom tri uzastopna dana nakon čega su uslijedila dva dana odmora prije infuzije istraživanog lijeka. Pacijenti su primili ciljne doze od 150×10^6 , 300×10^6 ili 450×10^6 CAR-T stanica, praćeni su najmanje 24 mjeseca, a zatim zamoljeni da sudjeluju u zasebnoj studiji dugoročnog praćenja. Primarni cilj bio je ukupni odgovor (parcijalni odgovor ili bolji). Ključni sekundarni cilj bio je kompletni odgovor ili bolji (koji uključuje kompletne i strogo kompletne odgovore). Dodatni sekundarni ciljevi uključivali su vrijeme do odgovora i trajanje odgovora, preživljenje bez progresije bolesti i ukupno preživljenje, minimalnu rezidualnu bolest, sigurnost, farmakokinetiku i imunogenost. U početku istraživanja bilo je uključeno 140 pacijenata koji su podvrgnuti leukaferezi no 128 ih je primilo infuziju idekaptagen vikleucela budući da je 12 pacijenata prekinulo sudjelovanje u istraživanju. Među 128 liječenih pacijenata medijan dobi bio je 61 godina (raspon od 33 do 78 godina), a medijan vremena od dijagnoze bio je 6 godina (raspon od 1 do 18 godina). Od 128 pacijenata koji su primili idekaptagen vikleucel, četiri su liječena dozom od 150×10^6 CAR-T stanica, sedamdeset dozom od 300×10^6 , a pedeset četiri dozom od 450×10^6 CAR-T stanica. Na medijanu praćenja od 13,3 mjeseca, 94 od 128 pacijenata imalo je odgovor na liječenje, a 42 od 128 pacijenata (33%) postiglo je kompletnu ili strogu kompletnu remisiju. Ukupno 67 pacijenata (52%) imalo je vrlo dobar djelomični odgovor ili bolji. Na ciljnim dozama od 150×10^6 , 300×10^6 i 450×10^6 CAR-T stanica, odgovor je zabilježen kod 2 od 4 pacijenta (50%), kod 48 od 70 pacijenata (69%) i kod 44 od 54 pacijenta (81%), dok je potpuna remisija ili bolja

zabilježena kod 1 od 4 pacijenta (25%), kod 20 od 70 pacijenata (29%) i kod 21 od 54 pacijenta (39%). Medijan vremena do prvog odgovora bio je 1.0 mjesec, a medijan vremena potpune remisije ili bolje bio je 2,8 mjeseca. Nakon napredovanja bolesti, 28 pacijenata je ponovno liječeno s idekaptagen vikleucelom. Šest pacijenata (21%) imalo je drugi odgovor s trajanjem odgovora od 1,9 do 6,8 mjeseci; svi pacijenti koji su imali odgovor bili su liječeni dozom većom od početne. Nuspojave su zabilježene kod svih 128 pacijenata, a nuspojave stupnja težine 3 ili 4 pojavile su se kod 127 pacijenata (99%). Većina nuspojava, osim hipogamaglobulinemije i infekcija, dogodila se unutar prvih 8 tjedana nakon primjene lijeka. Većina događaja stupnja 3 ili 4 bili su hematološki toksični učinci što uključuje neutropeniju kod 114 pacijenata (89%), anemiju kod 77 (60%) i trombocitopeniju kod 67 (52%), a barem su djelomično bili povezani s limfodeplecijom primijenjenom prije infuzije idekaptagen vikleucela. Četiri epizode krvarenja stupnja 3 ili 4 su zabilježene, uključujući cerebralno, gastrointestinalno, konjunktivalno i postproceduralno krvarenje. Infekcije su se pojavile kod 88 pacijenata (69%), a bile su stupnja 3 ili 4 kod 28 pacijenata (22%). Korištenje antimikrobnih sredstava, faktora rasta i imunoglobulina bilo je uobičajeno. Učestalost i ozbiljnost citopenija i infekcija nisu se značajno razlikovale s obzirom na dozu. Sindrom otpuštanja citokina pojavio se kod 107 pacijenata (84%) i većinom je bio stupnja 1 ili 2. Pet pacijenata (4%) imalo je sindrom otpuštanja citokina stupnja 3, jedan (<1%) stupnja 4, i jedan (<1%) stupnja 5 (kod doze od 300×10^6). Medijan vremena do pojave sindroma otpuštanja citokina bilo je 1 dan, s prosječnim trajanjem od 5 dana. U liječenju sindroma otpuštanja citokina korišten je tocilizumab kod 67 pacijenata (52%) i glukokortikoidi kod 19 pacijenata (15%). Identificirani neurotoksični učinci zabilježeni su kod 23 pacijenta (18%) od kojih su 4 pacijenta (3%) imala neurotoksične učinke stupnja 3, a nisu zabilježeni neurotoksični učinci stupnja 4 ili 5. Korištenje glukokortikoida, tocilizumaba ili oba za liječenje sindroma otpuštanja citokina i neurotoksičnih učinaka povećalo se s rastom doze CAR-T stanica. Ukupno 44 liječena pacijenta (34%) preminulo je tijekom studije, pri čemu je većina smrti (27) pripisana komplikacijama progresije multiple mijeloma, prema ocjeni istraživača. Trojica pacijenata (2%) preminula su unutar 8 tjedana nakon infuzije idekaptagen vikleucela zbog nuspojava povezanih s lijekom (bronhopulmonalna aspergiloza, gastrointestinalno krvarenje i sindrom otpuštanja

citokina). Jedan pacijent (1%) preminuo je između 8 tjedana i 6 mjeseci zbog nuspojave povezane s lijekom (citomegalovirusna upala pluća). Pet pacijenata (4%) preminulo je nakon 6 mjeseci zbog nuspojava nepovezanih s primjenom lijeka, dok je dodatnih 8 pacijenata (6%) preminulo nakon progresije bolesti. Gotovo svi tumori su izražavali BCMA, što podržava upotrebu idekaptagen vikleucela kod relapsnog i/ili refraktornog mijeloma bez ograničenja temeljenih na izražavanju BCMA antigena u tumoru. Smanjenje razina solubilnog BCMA nakon infuzije paralelno je pratilo odgovor tumora, a dulje vrijeme do povratka solubilnog BCMA bilo je povezano s duljim trajanjem odgovora. Gotovo svi pacijenti koji su mogli biti evaluirani imali su povišene vrijednosti solubilnog BCMA (97%) i još uvijek su imali detektabilne razine tumorskog BCMA (93%) u vrijeme progresije mijeloma, što upućuje na to da gubitak BCMA antigena nije uobičajen mehanizam stvaranja rezistencije na idekaptagen vikleucel.

Zaključno, liječenje idekaptagen vikleucelom u fazi 2 KarMMa studije pokazalo je značajnu učinkovitost kod pacijenata s relapsnim i/ili refraktornim multiplim mijelomom koji su već bili izloženi trima linijama terapija. Odgovor na liječenje zabilježen je kod 73% liječenih pacijenata, pri čemu je 33% postiglo kompletnu ili strogu kompletnu remisiju. Najveća doza (450×10^6 CAR-T stanica) dala je najbolje rezultate pri čemu je 81% pacijenata odgovorilo na liječenje, a 39% postiglo potpunu remisiju ili bolju. Medijan trajanja odgovora bio je 10,7 mjeseci s preživljenjem bez progresije bolesti od 8,8 mjeseci i ukupnim preživljenjem od 19,4 mjeseca. Pacijenti s dubljim odgovorima imali su duže trajanje odgovora, a prisutnost CAR-T stanica zabilježena je kod 36% pacijenata nakon 12 mjeseci. Unatoč tome, kod nekih pacijenata je došlo do progresije bolesti što sugerira mogući razvoj otpornosti ili disfunkciju T stanica. Nuspojave uključuju sindrom otpuštanja citokina i neurotoksičnost, koje je bilo moguće liječiti, a kod najviše 6% pacijenata zabilježene su teže forme. Hematološke nuspojave visokog stupnja bile su česte, ali obično prolazne. Kliničko istraživanje podržava značajnu antitumorsku aktivnost idekaptagen vikleucela, osobito pri višim dozama (47).

Nedavno je studija KarMMa-3 procijenila idekaptagen vikleucel u ranijim linijama liječenja. U ovoj fazi 3 kliničkog ispitivanja, koje je provedeno na međunarodnoj razini i bilo otvoreno, sudjelovali su odrasli pacijenti s relapsnim i/ili refraktornim multiplim

mijelomom. Ti su pacijenti prethodno primili dvije do četiri linije liječenja, uključujući imunomodulatore, inhibitore proteasoma i daratumumab te su bili refraktorni na zadnju liniju liječenja. Sudionici su nasumično podijeljeni u omjeru 2:1 kako bi primili ili idekaptagen vikleucel (CAR-T stanice, raspon doze od 150×10^6 do 450×10^6) ili jedan od pet standardnih režima liječenja. Primarni cilj bio je procijeniti preživljenje bez progresije bolesti, dok su ukupni odgovor i ukupno preživljenje bili ključni sekundarni ciljevi. Ukupno je 386 pacijenata uključeno u randomizacijski proces, a 254 pacijenta dodijeljena su idekaptagen vikleucel kohorti i 132 pacijenta standardnoj kohorti. Nakon medijana praćenja od 18,6 mjeseci idekaptagen vikleucel grupa pokazala je medijan preživljenja bez progresije bolesti od 13,3 mjeseca u usporedbi s izrazito kratkim od 4,4 mjeseca u standardnoj grupi. Što se tiče ukupnog odgovora, 71% pacijenata u idekaptagen vikleucel grupi postiglo je odgovor u usporedbi sa samo 42% u standardnoj grupi. Stopa potpune remisije iznosila je 39% u idekaptagen vikleucel grupi i 5% u standardnoj grupi. U vrijeme analize bilo je još prerano izračunati podatke o ukupnom preživljenju. Neželjeni događaji stupnja 3 ili 4 zabilježeni su kod 93% pacijenata u idekaptagen vikleucel grupi i 75% u standardnoj grupi. Značajno je da su u KarMMA-1 i KarMMA-3 istraživanju omjeri izgleda za ukupnu stopu odgovora bili povoljniji za pacijente starije od 65 godina u usporedbi s mlađim pacijentima, što bi se moglo objasniti mogućnošću agresivnije bolesti kod mlađih pacijenata, ali najvjerojatnije je povezano s temeljitim odabirom starijih pacijenata. Ovo je u skladu s prethodnom analizom u stvarnom svijetu kod CD19 CAR-T stanica, koja je pokazala superiorno preživljenje kod starijih pacijenata. Ovi rezultati i iskustvo kliničara s idekaptagen vikleucelom naglašavaju da ne postoji određena gornja dobna granica za liječenje CAR-T stanicama kod multiplog mijeloma. Većina kliničara očekivala je da će rezultati KarMMA-3 biti superiorni u usporedbi s KarMMA-1 budući da je ispitivanje provedeno u ranijim linijama terapije. Ovo je očekivanje temeljeno na pretpostavci da bolest ne bi bila usmjerena prema agresivnijem ponašanju zbog višestrukih linija prethodnih terapija, na boljoj kondiciji T-stanica kod pacijenata u ranijem stadiju bolesti, kao i na općem statusu pacijenata u KarMMA-3 u usporedbi s KarMMA-1. Međutim, učinkovitost u smislu ukupne stope odgovora, stope kompletnog odgovora i preživljenja bez progresije bolesti bila je usporediva između oba ispitivanja, podržavajući argument da paradigma novih

lijekova koji su učinkovitiji u ranijim linijama terapije u usporedbi s kasnijim možda nije točna za CAR-T stanice. Važan nalaz iz KarMMA-3 istraživanja koji bi mogao objasniti na prvi pogled prilično razočaravajuće rezultate bio je devastirajući ishod u kontrolnoj grupi. Unatoč korištenju uspostavljenih režima za relapsni mijelom, uključujući trojke koje uključuju CD38 ili SLAMF-7 antitijela, preživljenje bez progresije bolesti bilo je izrazito kratko od 4,4 mjeseca. Ovo naglašava da trenutno odobreni pristupi relapsnom multiplom mijelomu nisu vrlo učinkoviti te da CAR-T stanice nude jedinstvenu priliku za postizanje duboke i relativno dugotrajne remisije bez potrebe za kontinuiranim izlaganjem potencijalno toksičnim režimima s više lijekova (46).

4.2.2 CARTITUDE

Oboljeli od multiplog mijeloma koji su liječeni imunomodulacijskim lijekovima, inhibitorima proteasoma i anti-CD38 antitijelima eventualno dožive recidiv ili postanu refraktorni na ove terapije što dovodi do loše prognoze (4). Retrospektivna klinička studija o ishodu liječenja bolesnika s multiplim mijelomom izvijestila je o ukupnoj stopi odgovora od 31% s medijanom ukupnog preživljenja od 9,3 mjeseca kod refraktornih pacijenata koji su već bili liječeni s tri linije lijekova (5). Stoga je postojala potreba za novim i inovativnim terapijama kako bi se poboljšali dugoročni ishodi u ovoj populaciji bolesnika. Ciltakaptagen autoleucel lijek je iz CAR-T skupine lijekova koji izražava dva jednodomenska protutijela usmjerena na BCMA dizajnirana za povećanje aviditeta te CD3- ζ signalnu domenu s 4-1BB kostimulacijskom domenom za optimizaciju aktivacije i proliferacije T stanica (48). U fazi 1, prvom kliničkom ispitavanju na ljudima LEGEND-2 u Kini, LCAR-B38M CAR-T stanice su postigle duboke, dugotrajne odgovore s podnošljivim sigurnosnim profilom kod bolesnika s relapsnim i/ili refraktornim multiplom mijelomom koji su prethodno bili liječeni inhibitorima proteasoma, imunomodulacijskim lijekovima ili kombinacijom. Ukupna stopa odgovora bila je 88%, pri čemu je 42 (74%) od 57 bolesnika postiglo potpuni odgovor, a medijan trajanja odgovora iznosio je 22 mjeseca. Medijan preživljenja bez progresije bolesti za sve liječene bolesnike iznosio je 20 mjeseci (raspon 10-28), a 28

mjeseci (raspon 20-31) za one s negativnošću minimalne rezidualne bolesti.

CARTITUDE-1 je klinička studija faze 1b/2 o ciltakaptagen autoleucelu koja koristi konstrukciju CAR T stanica identičnu onoj koja je korištena u studiji LEGEND-2 (49,50). To kliničko istraživanje faze 1b/2 jedne skupine bez zasljepljivanja provedeno u 16 centara u SAD-u uključilo je bolesnike u dobi od 18 godina ili starije s dijagnozom multiplog mijeloma i ECOG statusom 0 ili 1 koji su primili 3 ili više prethodnih linija terapije ili su bili dvostruko refraktorni na inhibitore proteasoma i imunomodulacijski lijek i primili su inhibitor proteasoma, imunomodulacijski lijek i anti-CD38 protutijelo. Liječenje je provođeno infuzijom ciltakaptagen autoleucela (ciljana doza $0,75 \times 10^6$ CAR pozitivnih održivih T stanica po kilogramu) i to 5-7 dana nakon početka limfodeplecije koja je postignuta s trodnevnim intravenoznim davanjem 300 mg/m^2 ciklofosfamida i 30 mg/m^2 fludarabina. Primarni ciljevi istraživanja bili su sigurnost i potvrda doze za fazu 2 (faza 1b) te ukupna stopa odgovora (faza 2) kod svih bolesnika koji su primili terapiju. Sekundarni ciljevi bili su trajanje odgovora i preživljenja bez progresije bolesti. Između 16. srpnja 2018. i 7. listopada 2019. godine, uključeno je 113 bolesnika koji su podvrgnuti aferezi no 16 ih nije primilo lijek zbog napredovanja bolesti, smrti ili povlačenja iz kliničkog ispitivanja. 97 bolesnika (29 u fazi 1b i 68 u fazi 2) primilo je infuziju lijeka u preporučenoj dozi. Ukupna stopa odgovora bila je 97% (95% CI 91,2–99,4; 94 od 97 bolesnika); 65 (67%) je postiglo strogi potpuni odgovor; vrijeme do prvog odgovora bilo je 1 mjesec. Odgovori su se s vremenom produbljivali. Medijan trajanja odgovora nije postignut (95% CI 15,9–nije procjenjivo), kao ni preživljenje bez progresije bolesti (16,8–nije procjenjivo). Stopa preživljenja bez progresije bolesti u 12 mjeseci iznosila je 77% (95% CI 66,0–84,3), a ukupna stopa preživljenja bila je 89% (80,2–93,5). Svih 97 pacijenata imalo je nuspojave, a najčešće su bile hematološke nuspojave. Nuspojave stupnja težine 3-4 bile su neutropenija (92 [95%] od 97 bolesnika), anemija (66 [68%]), leukopenija (59 [61%]), trombocitopenija (58 [60%]) i limfopenija (48 [50%]). Infekcije su se pojavile kod 56 (58%) od 97 bolesnika, od kojih je 19 (20%) bilo stupnja 3–4. Infekcije gornjeg dišnog trakta bile su jedine infekcije prijavljene kod 10% ili više bolesnika (15 [16%]; jedan bolesnik imao je stupanj 3). Najčešće infekcije stupnja 3–4 bile su upala pluća (8 [8%]) i sepsa (4 [4%]). Devet slučajeva sekundarnih primarnih maligniteta zabilježeno je kod sedam bolesnika, a istraživač ih je procijenio kao nepovezane s

liječenjem ciltakaptagen autoleucelom: pet slučajeva mijelodisplastičnog sindroma, dva akutne mijeloične leukemije te po jedan slučaj karcinoma prostate i karcinoma bazalnih stanica. Sindrom otpuštanja citokina pojavio se u 92 (95%) od 97 bolesnika (4% je bilo stupnja 3 ili 4) s medijanom vremena do nastanka od 7,0 dana i medijanom trajanja od 4,0 dana. 88 (91%) od 97 bolesnika primilo je potporne mjere za liječenje sindroma ili s njim povezanih simptoma, najčešće tocilizumab, ali još i kortikosteroide i anakinru. Sindrom otpuštanja citokina povukao se kod svih osim jednog pacijenta sa stupnjem težine 5 i hemofagocitnom limfohistiocitozom. Neurotoksičnost uzrokovana CAR-T stanicama pojavila se kod 20 (21%) bolesnika (9% je bilo stupnja 3 ili 4). Zabilježeno je 14 smrtnih slučajeva: šest zbog nuspojava povezanih s liječenjem (sepsa i septički šok, sindrom otpuštanja citokina i hemofagocitna limfohistiocitoza, plućni apsces, zatajenje disanja, neurotoksičnosti), pet zbog progresije bolesti, a tri zbog nuspojava nepovezanih s liječenjem (upala pluća i akutna mijeloična leukemija). Stoga je izveden zaključak da infuzija ciltakaptagen autoleucela u ciljnoj dozi od $0,75 \times 10^6$ CAR-T stanica po kilogramu može dovesti do ranih, dubokih i trajnih odgovora kod prethodno teško liječenih bolesnika s multiplim mijelomom uz podnošljiv sigurnosni profil (48).

Izvršena je unaprijed definirana analiza kliničkog istraživanja CARTITUDE-1 koja je dovršena početkom 2022. godine, s medijanom praćenja od 28 mjeseci. Svi bolesnici koji su primili ciltakaptagen autoleucel bili su uključeni u analizu učinkovitosti lijeka. S medijanom praćenja od 27,7 mjeseci, ukupna stopa odgovora iznosila je 97,9%, stopa strogog kompletnog odgovora bila je 82,5%. Stopa vrlo dobrog djelomičnog odgovora bila je 12,4%, a stopa djelomičnog odgovora bila je 3,1%. Medijan vremena do prvog odgovora bio je 1 mjesec, medijan vremena do najboljeg odgovora bio je 2,6 mjeseci, a medijan vremena do potpunog odgovora ili boljeg bio je 2,9 mjeseci. Medijan trajanja odgovora i medijan preživljenja bez progresije bolesti nisu postignuti što ukazuje na kontinuiranu kliničku bolest. Vrijeme u kojem je 75% bolesnika bilo bez progresije bolesti (75. percentil) bilo je 12,9 mjeseci. U vremenskoj točki od 27 mjeseci stopa preživljenja bez progresije iznosila je 54,9% među svim pacijentima i 64,2% kod bolesnika sa strogim kompletnim odgovorom. Medijan ukupnog preživljenja nije postignut, a 75. percentil iznosio je 24,1 mjesec (95% CI, 14,62 do nije procjenjivo). Stopa ukupnog preživljenja nakon 27 mjeseci u ukupnoj populaciji

iznosila je 70,4%. Do datuma krajnjeg praćenja, tri pacijenta su ponovno liječena ciltakaptagen autoleucelom i to u istoj dozi kao i kod početnog liječenja. Šezdeset i jedan pacijent imao je uzorke koji su bili procjenjivi za status minimalne rezidualne bolesti (MRD), definirano kao oni koji su prošli kalibraciju i kontrolu kvalitete te su imali dovoljno stanica za procjenu. Na pragu od 10^{-5} , 56 (91,8%) pacijenata postiglo je MRD negativnost, koja je bila održana tijekom ≥ 6 mjeseci kod 68% i ≥ 12 mjeseci kod 55%. Stope preživljenja bez progresije bolesti kod pacijenata koji su postigli održanu MRD negativnost tijekom ≥ 6 i ≥ 12 mjeseci bile su 73,0% i 78,8% redom, a stope ukupnog preživljenja iznosile su 93,5% i 90,8%. Od 52 pacijenta s uzorkom procjenjivim za MRD status na pragu od 10^{-6} , 39 (75,0%) postiglo je MRD negativnost. Najčešće nuspojave stupnja 3 ili 4 za koje je potrebno hitno zbrinjavanje jesu i dalje bile one hematološke ($\geq 25\%$ pacijenata). Najčešće nehematološke nuspojave povezane s liječenjem stupnja 3 ili 4 ($\geq 5\%$ pacijenata) bile su upala pluća, hipofosfatemija, povišena gama glutamil transferaza, hipertenzija, umor i povišeni AST. Od primarne publikacije nisu zabilježeni novi slučajevi sindroma otpuštanja citokina. Pojavio se jedan novi slučaj znakova i simptoma parkinsonizma što čini ukupno šest u kliničkom istraživanju. Ukupno je prijavljeno 20 sekundarnih primarnih maligniteta kod 16 pacijenata, a svi su bili nepovezani s ciltakaptagen autoleucelom. Zabilježeno je 30 smrtnih slučajeva tijekom istraživanja nakon primjene lijeka. Nije bilo smrtnih slučajeva unutar prvih 30 dana, dva su se dogodila unutar 100 dana, dok se preostalih 28 dogodilo više od 100 dana nakon infuzije. Četrnaest pacijenata umrlo je zbog progresije bolesti, a šest smrtnih slučajeva bilo je povezano s liječenjem (prema procjeni istraživača) i dogodilo se unutar prvih 12 mjeseci. Preostalih 10 smrtnih slučajeva bilo je posljedica nuspojave koje nisu bile povezane s istraživanim lijekom. Ova unaprijed određena analiza CARTITUDE-1 ispitivanja potvrđuje dugotrajnu kliničku učinkovitost ciltakaptagen autoleucela kod pacijenata s relapsnim i/ili refraktornim multiplim mijelomom koji su primili medijan od šest prethodnih linija terapije. Analiza je pokazala visoke stope odgovora u svim podskupinama pacijenata, uključujući one s visokorizičnim značajkama. Iako su preživljenje bez progresije bolesti, trajanje odgovora i ukupno preživljenje bili niži u nekim visokorizičnim podskupinama, učinkovitost lijeka je i dalje bila superiornija u odnosu na druge terapije za prethodno intenzivno liječene pacijente s relapsnim i/ili

refraktornim multiplim mijelomom. Analiza podskupina bila je ograničena malim uzorcima nekih grupa. Jedinствена структура ciltakaptagen autoleucela, koja cilja na dva epitopa BCMA, može doprinijeti njegovoj superiornoj učinkovitosti u usporedbi s drugim CAR-T terapijama. Iako se sigurnosni profil i dalje mogao kontrolirati nakon 28 mjeseci, s dosljednim nuspojavama povezanim s liječenjem i bez sekundarnih primarnih maligniteta povezanih s ciltakaptagen autoleucelom, pojava parkinsonizma naglašava potrebu za kontinuiranim praćenjem pacijenata. Implementacija strategija kontroliranja pacijenata smanjila je učestalost parkinsonizma u drugim ciltakaptagen autoleucel studijama. Potrebno je nastaviti dugoročno praćenje kako bi se dalje procijenila dugoročna učinkovitost i sigurnost lijeka te je zato i pokrenuta zasebna CARTinue studija koja će pratiti pacijente do 15 godina (51).

Provedeno je istraživanje kojem je cilj bio procijeniti učinkovitost ciltakaptagen autoleucela u usporedbi s terapijom prema odabiru liječnika. Uspoređeni su neizravno s obzirom na nedostatak izravnih usporednih ispitivanja. Vanjska kontrolna skupina za CARTITUDE-1 stvorena je od pacijenata iz dugoročnog praćenja u tri klinička ispitivanja daratumumaba (POLLUX, CASTOR i EQUULEUS) koji su ispunili kriterije uključivanja za CARTITUDE-1. Ti pacijenti su primili terapiju prema odabiru liječnika nakon prekida ispitivanih lijekova. Rezultati su pokazali da liječenje ciltakaptagen autoleucelom pokazuje bolje rezultate u usporedbi s terapijom prema izboru liječnika. Imali su 2,95 puta veću vjerojatnost da postignu ukupni odgovor i 111,70 puta veću vjerojatnost da postignu kompletnu ili strogu kompletnu remisiju. Pacijenti liječeni ciltakaptagen autoleucelom imali su medijan preživljenja bez progresije bolesti od 22,8 mjeseci, međutim ovo je dosegnuto kada je malo pacijenata ostalo u riziku i očekivalo se da će biti podcijenjeno. Ipak, ovo trajanje je više od četiri puta dulje od medijana preživljenja bez progresije bolesti u kohorti pacijenata liječenih terapijom liječničkog odabira (5,6 mjeseci). U analizi osjetljivosti koja je uključila sve upisane pacijente iz kliničkog istraživanja CARTITUDE-1, rezultati su bili u skladu s glavnom analizom, sa statistički značajnim učincima liječenja u korist ciltakaptagen autoleucela. Zabilježeni su sljedeći rezultati: ukupna stopa odgovora (relativni rizik: 3,17 [95% CI 2,48, 4,06; $p < 0,0001$]); stopa kompletne ili strogo kompletne remisije (relativni rizik: 76,05 [95% CI 31,42, 184,07; $p < 0,0001$]); preživljenja bez progresije bolesti (omjer hazarda: 0,27 [95% CI 0,18, 0,39;

p<0,0001]); vrijeme do sljedećeg liječenja (omjer hazarda: 0,16 [95% CI 0,11, 0,23; p<0,0001]); i ukupno preživljenje (omjer hazarda: 0,26 [95% CI 0,17, 0,40; p<0,0001]). Istraživači su na temelju rezultata zaključili da je ciltakaptagen autoleucel pokazao superiornu učinkovitost, statistički i klinički, u usporedbi s terapijom prema odabiru liječnika što ga čini obećavajućom novom opcijom liječenja za pacijente s relapsnim i/ili refraktornim multiplim mijelomom izloženim trima linijama terapija (52).

Slično kao i kod idekaptagen vikleucela, učinkovitost ciltakaptagen autoleucela u ranijim linijama liječenja, procijenjena je u studiji CARTITUDE-4. U ovom randomiziranom, otvorenom kliničkom ispitivanju faze 3, pacijenti s bolešću refraktornom na lenalidomid bili su raspoređeni da prime ili ciltakaptagen autoleucel ili lijek po izboru liječnika između kombinacije pomalidomid, bortezomib, deksametazon i kombinacije lijekova daratumumab, pomalidomid, deksametazon. Svi pacijenti su prethodno primili jednu do tri linije liječenja. Od 419 pacijenata uključenih u studiju, 208 ih je bilo dodijeljeno da prime ciltakaptagen autoleucel, dok je 211 liječeno s jednom od dvije kombinacije lijekova do progresije bolesti. Na 12-mjesečnoj točki preživljenje bez progresije bolesti je bilo 75,9% (95% CI, 69,4%–81,1%) u ciltakaptagen autoleucel grupi i 48,6% (95% CI, 41,5%–55,3%) u kontrolnoj grupi. Ciltakaptagen autoleucel grupa je pokazala veći udio pacijenata s ukupnim odgovorom (84,6% naspram 67,3%), kompletnim odgovorom ili boljim (73,1% naspram 21,8%) i odsutnošću minimalne rezidualne bolesti (60,6% naspram 15,6%).

U tijeku je CARTITUDE-5, kliničko ispitivanje faze 3, koje cilja na uključivanje 650 pacijenata kako bi se proučila učinkovitost liječenja ciltakaptagen autoleucelom kod pacijenata s novodijagnosticiranim multiplim mijelomom. Pacijenti su randomizirani da prime ili VRd, a zatim Rd ili da budu liječeni s kombinacijom lijekova VRd nakon čega slijedi liječenje CAR-T stanicama. Učinkovitost će se procjenjivati primarnim ciljevima preživljenja bez progresije bolesti, kao i sekundarnim ciljevima uključujući potpunu remisiju bez minimalne rezidualne bolesti, ukupno preživljenje, vrijeme do sljedeće terapije i preživljenje bez progresije bolesti pri sljedećoj liniji terapije. Značajno je da ispitivanje uključuje pacijente koji nisu podobni ili nisu prvenstveno namijenjeni za primanje autologne transplantacije matičnih stanica (ASCT) što naglašava da alternativa pacijenata koji su podobni ili nepodobni za transplantaciju više neće biti točna, jer će se u nadolazećim godinama pojaviti treća populacija

pacijenata, a to su oni koji nisu podobni za ASCT, ali su podobni za CAR-T staničnu terapiju. Dodatno, CARTITUDE-6/EMN-28 će uspoređivati učinkovitost kombinacije lijekova DVRd nakon čega slijedi ciltakaptagen autoleucel, u odnosu na DVRd nakon kojeg slijedi ASCT kod pacijenata s novodijagnosticiranim multiplim mijelomom koji su podobni za transplantaciju. Ova studija će vrlo vjerojatno odgovoriti na mnoga pitanja, uključujući kakvu buduću ulogu ima ASCT u multiplim mijelomima, kao i hoće li CAR-T stanice pružiti kurativnu opciju za mlade i zdrave pacijente s multiplim mijelomom (46).

4.2.3 USPOREDBA CARTITUDE I KARMMMA ISTRAŽIVANJA

Komparativna učinkovitost dvaju CAR-T proizvoda ciltakaptagen autoleucela i idekaptagen vikleucel nije procijenjena u direktnoj kliničkoj usporedbi u liječenju pacijenata s relapsnim i/ili refraktornim multiplim mijelomom prethodno izloženim trima linijama terapija. U nedostatku direktnih kliničkih ispitivanja, neizravne usporedbe liječenja mogu pružiti uvid u komparativnu učinkovitost nerandomiziranih kohorti pacijenata. Međutim, naivna usporedba rezultata iz oba ispitivanja može biti pristrana zbog konfuzije koja proizlazi iz nerazmjernosti u prognostičkim karakteristikama uspoređivanih kohorti. Korištenjem podataka na razini pojedinačnih pacijenata iz CARTITUDE-1 studije i objavljenih sažetaka rezultata iz KarMMA studije, metoda usporedbe prilagođene usklađenosti (engl. *matching-adjusted indirect comparison*, MAIC) može prilagoditi pogreške u tumačenju posredne povezanosti i veličina učinka rezultata se onda može da se predvidjeti kao da je populacija iz KarMMA primila ciltakaptagen autoleucel. Cilj ove studije bio je procijeniti komparativnu učinkovitost ciltakaptagen autoleucela u usporedbi s idekaptagen vikleucelom za liječenje pacijenata s relapsnim i/ili refraktornim multiplim mijelomom prethodno izloženim trima linijama terapija koristeći MAIC. Pacijenti liječeni ciltakaptagen autoleucelom imali su 1,3 puta veću vjerojatnost da će odgovoriti na liječenje i 2,2 puta veću vjerojatnost da će postići potpuni odgovor u usporedbi s idekaptagen vikleucelom što pokazuje veću vjerojatnost dubljeg odgovora s ciltakaptagen autoleucelom. Dubina odgovora je važan indikator prognoze za

pacijente s relapsnim i/ili refraktornim multiplim mijelomom jer je povezana s poboljšanjima u preživljenju bez progresije bolesti i ukupnom preživljenju. Stopa potpunog odgovora, koja je uobičajena mjera dubine odgovora, procijenjena je u ovoj studiji, a rezultat je takav da stopa u CARTITUDE-1 istraživanju (80,4%) daleko nadmašuje onu zapaženu kod pacijenata koji su primili doze od 300×10^6 i 450×10^6 CAR-T stanica u KarMMa istraživanju (33,1%).

Ciltakaptagen autoleucel je pokazao klinički superiorne rezultate za sve proučavane ishodne mjere (ukupna stopa odgovora, stopa kompletnog odgovora, trajanje odgovora, preživljenje bez progresije bolesti i ukupno preživljenje), a ti su rezultati bili dosljedni u svim analizama osjetljivosti. Na temelju tih rezultata, može se zaključiti da ciltakaptagen autoleucel nudi značajne kliničke prednosti za pacijente s relapsnim i/ili refraktornim multiplim mijelomom prethodno izloženim trima linijama terapija u usporedbi s idekaptagen vikleucelom (3).

Objavljena je još jedna analiza, godinu dana nakon, kojoj je cilj bio predstaviti ažurirane rezultate usporedbe dva lijeka koristeći dugoročnije podatke praćenja. Rezultati ove ažurirane analize koja koristi dugoročnije podatke praćenja pokazali su da ciltakaptagen autoleucel i dalje pruža superiornu učinkovitost u usporedbi s idekaptagen vikleucelom, izvan razdoblja praćenja uključenog u izvornu MAIC metodom uspoređivanu analizu. Iako su ažurirane procjene bile u skladu s onima iz izvorne objave, korištenje zrelijih podataka rezultiralo je preciznijim intervalima pouzdanosti oko tih procjena. Superiorna učinkovitost ciltakaptagen autoleucela u usporedbi s idekaptagen vikleucelom očuvana je za sve proučavane ishodne varijable (ukupna stopa odgovora, stopa kompletnog odgovora, trajanje odgovora, preživljenje bez progresije bolesti i ukupno preživljenje). Općenito, rezultati upućuju na to da ciltakaptagen autoleucel pruža značajne kliničke prednosti za pacijente koje su veće od onih koji nudi idekaptagen vikleucel (53).

4.2.4 CAR T STANICE KOJE CILJAJU GPRC5D

Iako trenutno odobrene CAR T stanice usmjerene na BCMA dovode do stopa duboke i dugotrajne remisije kod pacijenata koji su bili podvrgnuti intenzivnim prethodnim terapijama, mnogi pacijenti dožive recidiv unutar prve 2 godine. Iscrpljenost CAR-T stanica i imuniteta domaćina, razvoj antitijela protiv lijekova, te izbacivanje BCMA kroz gama sekretaze opisani su kao mogući načini otpornosti. Nadalje, bialelni gubitak BCMA na kromosomu 16 prijavljen je kao mogući mehanizam rezistencije tumora u nekoliko slučajeva. Stoga se istražuju alternativne mete za proizvodnju CAR-T stanica za liječenje relapsnog i/ili refraktornog multiplog mijeloma. GPRC5D je transmembranski proteinski receptor s još uvijek nejasnom funkcijom i signalnim mehanizmom unutar stanica multiplog mijeloma. Ovaj receptor povezan s G proteinom gotovo je isključivo izražen u stanicama multiplog mijeloma, a jedina iznimka među zdravim tkivima su folikuli dlake. Također je pokazano da je visoka ekspresija GPRC5D povezana s lošom prognozom kod multiplog mijeloma. Ekspresija GPRC5D na CD138 pozitivnim plazma stanicama slična je onoj od BCMA, međutim, ekspresije GPRC5D i BCMA ne koreliraju jedna s drugom, što GPRC5D čini razumnom terapijskom metom za BCMA-negativne plazma stanice, kao što je slučaj kod pacijenata s relapsnim multiplim mijelomom nakon terapije CAR-T stanicama usmjerenim na BCMA. Nekoliko kliničkih ispitivanja istražuje sigurnost i učinkovitost GPRC5D CAR-T stanica u liječenju relapsnog i/ili refraktornog multiplog mijeloma. Prvi rezultati iz POLARIS ispitivanja, prve faze kliničkog ispitivanja na ljudima, pokazali su da je GPRC5D obećavajuća terapija za pacijente s relapsnim i/ili refraktornim multiplim mijelomom, jer su svi od 10 liječenih pacijenata pokazali odgovor, a 60% je postiglo strogu kompletnu remisiju i 40% vrlo dobru djelomičnu remisiju.

U fazi 2 kliničkog ispitivanja u Kini, GPRC5D CAR-T stanice pokazale su ohrabrujuću kliničku učinkovitost s prihvatljivim sigurnosnim profilom kod relapsnog i/ili refraktornog multiplog mijeloma. U drugom ispitivanju faze 1, istraživači iz Memorijalnog centra za tumore „Sloan Kettering” pokazali su sigurnost i učinkovitost GPRC5D-usmjerenih CAR-T stanica MCARH109. Od 17 intenzivno liječenih pacijenata, 71% je postiglo odgovor, a medijan trajanja odgovora bio je 7,8 mjeseci. S obzirom na visoke stope negativnosti minimalne rezidualne bolesti kod pacijenata koji su već bili izloženi anti-BCMA terapiji, anti-GPRC5D CAR-T stanice će vrlo

vjerojatno postati klinički relevantne u bliskoj budućnosti, pod uvjetom kontrole relevantnih neuroloških nuspojava.

Daljnja istraživanja usmjerena su na korištenje CAR-T stanica koji ciljaju BCMA i GPRC5D istovremeno. Testirani su različiti pristupi u miševima, a svi su uspješno spriječili odgovore posredovane bijegom BCMA. Prvi klinički rezultati ovih studija, koje su započele 2022. godine, su visoko očekivani kako bi se procijenio utjecaj ove nove terapijske strategije u liječenju multiplog mijeloma (46).

5 ZAHVALE

Zahvaljujem se mentoru na stručnim savjetima i smjernicama pri izradi diplomskog rada, prijateljicama s kojima sam provela sate učenja, svojoj obitelji na podršci i ohrabrenju tijekom cijelog studija i Stjepanu na mentalnoj potpori, kontinuiranoj podršci i motivaciji pred svaki ispit te za svu pomoć pri izradi diplomskog rada.

6 POPIS LITERATURE

1. van de Donk NWCJ, Pawlyn C, Yong KL. Multiple myeloma. *Lancet Lond Engl.* 30. siječanj 2021.;397(10272):410–27.
2. Mohty M, Avet-Loiseau H, Harousseau JL. Requirements for operational cure in multiple myeloma. *Blood.* 21. listopad 2021.;138(16):1406–11.
3. Martin T, Usmani SZ, Schechter JM, Vogel M, Jackson CC, Deraedt W, i ostali. Matching-adjusted indirect comparison of efficacy outcomes for ciltacabtagene autoleucel in CARTITUDE-1 versus idecabtagene vicleucel in KarMMa for the treatment of patients with relapsed or refractory multiple myeloma. *Curr Med Res Opin.* 03. listopad 2021.;37(10):1779–88.
4. Jagannath S, Rifkin RM, Gasparetto CJ, Toomey K, Durie BGM, Hardin JW, i ostali. Treatment Journeys of Patients With Newly Diagnosed Multiple Myeloma (NDMM): Results From The Connect MM Registry. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk.* svibanj 2020.;20(5):272–6.
5. Gandhi UH, Cornell RF, Lakshman A, Gahvari ZJ, McGehee E, Jagosky MH, i ostali. Outcomes of patients with multiple myeloma refractory to CD38-targeted monoclonal antibody therapy. *Leukemia.* rujan 2019.;33(9):2266–75.

6. Dimopoulos MA, Moreau P, Terpos E, Mateos MV, Zweegman S, Cook G, i ostali. Multiple myeloma: EHA-ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up†. *Ann Oncol.* ožujak 2021.;32(3):309–22.
7. Turesson I, Bjorkholm M, Blimark CH, Kristinsson S, Velez R, Landgren O. Rapidly changing myeloma epidemiology in the general population: Increased incidence, older patients, and longer survival. *Eur J Haematol.* kolovoz 2018.;101(2):237–44.
8. Ríos-Tamayo R, Sánchez Rodríguez D, Chang- Chan YL, Sánchez Pérez MJ. Epidemiology of Multiple Myeloma. U: Ahmed Al-Anazi K, urednik. Update on Multiple Myeloma [Internet]. IntechOpen; 2019 [citirano 18. lipanj 2024.]. Dostupno na: <https://www.intechopen.com/books/update-on-multiple-myeloma/epidemiology-of-multiple-myeloma>
9. Zhou L, Yu Q, Wei G, Wang L, Huang Y, Hu K, i ostali. Measuring the global, regional, and national burden of multiple myeloma from 1990 to 2019. *BMC Cancer.* prosinac 2021.;21(1):606.
10. Jagannath S, Mikhael J, Nadeem O, Raje N. Digital Health for Patients With Multiple Myeloma: An Unmet Need. *JCO Clin Cancer Inform.* prosinac 2021.;(5):1096–105.
11. Huang J, Chan SC, Lok V, Zhang L, Lucero-Prisno DE, Xu W, i ostali. The epidemiological landscape of multiple myeloma: a global cancer registry estimate of disease burden, risk factors, and temporal trends. *Lancet Haematol.* rujan 2022.;9(9):e670–7.
12. Peter Hoskin, Peter Ostler. *Klinička onkologija - temeljna načela i praksa.* peto izdanje. Zagreb: Medicinska naklada; 2022.
13. Gazdek D, Strnad M, Mustajbegovic J, Nemet-Lojan Z. Lymphohematopoietic Malignancies and Oil Exploitation in Koprivnica-Krizevci County, Croatia. *Int J Occup Environ Health.* srpanj 2007.;13(3):258–67.
14. Padala SA, Barsouk A, Barsouk A, Rawla P, Vakiti A, Kolhe R, i ostali. Epidemiology, Staging, and Management of Multiple Myeloma. *Med Sci.* 20. siječanj 2021.;9(1):3.
15. Turgeon ML. *Clinical Hematology: Theory And Practice.* sixth. Philadelphia: Wolters Kluwer;
16. Rajkumar SV. Multiple myeloma: 2022 update on diagnosis, risk stratification, and management. *Am J Hematol.* kolovoz 2022.;97(8):1086–107.
17. Holstein SA, McCarthy PL. Immunomodulatory Drugs in Multiple Myeloma: Mechanisms of Action and Clinical Experience. *Drugs.* travanj 2017.;77(5):505–20.
18. Li D, Li X, Zhou WL, Huang Y, Liang X, Jiang L, i ostali. Genetically engineered T cells for cancer immunotherapy. *Signal Transduct Target Ther.* 20. rujan 2019.;4(1):35.

19. Sahu M, Suryawanshi H. Immunotherapy: The future of cancer treatment. *J Oral Maxillofac Pathol JOMFP*. 2021.;25(2):371.
20. Ahmad U, Khan Z, Ualiyeva D, Amissah OB, Noor Z, Khan A, i ostali. Chimeric antigen receptor T cell structure, its manufacturing, and related toxicities; A comprehensive review. *Adv Cancer Biol - Metastasis*. srpanj 2022.;4:100035.
21. Sterner RC, Sterner RM. CAR-T cell therapy: current limitations and potential strategies. *Blood Cancer J*. 06. travanj 2021.;11(4):69.
22. Larson RC, Maus MV. Recent advances and discoveries in the mechanisms and functions of CAR T cells. *Nat Rev Cancer*. ožujak 2021.;21(3):145–61.
23. Feucht J, Sun J, Eyquem J, Ho YJ, Zhao Z, Leibold J, i ostali. Calibration of CAR activation potential directs alternative T cell fates and therapeutic potency. *Nat Med*. siječanj 2019.;25(1):82–8.
24. Sadelain M, Brentjens R, Rivière I. The Basic Principles of Chimeric Antigen Receptor Design. *Cancer Discov*. 01. travanj 2013.;3(4):388–98.
25. Ramello MC, Benzaïd I, Kuenzi BM, Lienlaf-Moreno M, Kandell WM, Santiago DN, i ostali. An immunoproteomic approach to characterize the CAR interactome and signalosome. *Sci Signal*. 12. veljača 2019.;12(568):eaap9777.
26. Blüm P, Kayser S. Chimeric Antigen Receptor (CAR) T-Cell Therapy in Hematologic Malignancies: Clinical Implications and Limitations. *Cancers*. 22. travanj 2024.;16(8):1599.
27. Kawalekar OU, O'Connor RS, Fraietta JA, Guo L, McGettigan SE, Posey AD, i ostali. Distinct Signaling of Coreceptors Regulates Specific Metabolism Pathways and Impacts Memory Development in CAR T Cells. *Immunity*. veljača 2016.;44(2):380–90.
28. Chohan KL, Siegler EL, Kenderian SS. CAR-T Cell Therapy: the Efficacy and Toxicity Balance. *Curr Hematol Malig Rep*. travanj 2023.;18(2):9–18.
29. Tedesco VE, Mohan C. Biomarkers for Predicting Cytokine Release Syndrome following CD19-Targeted CAR T Cell Therapy. *J Immunol*. 01. travanj 2021.;206(7):1561–8.
30. Abboud R, Keller J, Slade M, DiPersio JF, Westervelt P, Rettig MP, i ostali. Severe Cytokine-Release Syndrome after T Cell–Replete Peripheral Blood Haploidentical Donor Transplantation Is Associated with Poor Survival and Anti–IL-6 Therapy Is Safe and Well Tolerated. *Biol Blood Marrow Transplant*. listopad 2016.;22(10):1851–60.
31. Riegler LL, Jones GP, Lee DW. Current approaches in the grading and management of cytokine release syndrome after chimeric antigen receptor T-cell therapy. *Ther Clin Risk Manag*. veljača 2019.;Volume 15:323–35.

32. Holtzman NG, Bentzen SM, Kesari V, Bukhari A, El Chaer F, Hutnick E, i ostali. Immune Effector Cell-Associated Neurotoxicity Syndrome (ICANS) after CD19-Directed Chimeric Antigen Receptor T-Cell Therapy (CAR-T) for Large B-Cell Lymphoma: Predictive Biomarkers and Clinical Outcomes. *Blood*. 13. studeni 2019.;134(Supplement_1):3239–3239.
33. Siegler EL, Kenderian SS. Neurotoxicity and Cytokine Release Syndrome After Chimeric Antigen Receptor T Cell Therapy: Insights Into Mechanisms and Novel Therapies. *Front Immunol*. 28. kolovoz 2020.;11:1973.
34. Rubin DB, Al Jarrah A, Li K, LaRose S, Monk AD, Ali AB, i ostali. Clinical Predictors of Neurotoxicity After Chimeric Antigen Receptor T-Cell Therapy. *JAMA Neurol*. 01. prosinac 2020.;77(12):1536.
35. Morris EC, Neelapu SS, Giavridis T, Sadelain M. Cytokine release syndrome and associated neurotoxicity in cancer immunotherapy. *Nat Rev Immunol*. veljača 2022.;22(2):85–96.
36. Rafiq S, Hackett CS, Brentjens RJ. Engineering strategies to overcome the current roadblocks in CAR T cell therapy. *Nat Rev Clin Oncol*. ožujak 2020.;17(3):147–67.
37. Huang J, Huang X, Huang J. CAR-T cell therapy for hematological malignancies: Limitations and optimization strategies. *Front Immunol*. 28. rujan 2022.;13:1019115.
38. Byrne M, Oluwole OO, Savani B, Majhail NS, Hill BT, Locke FL. Understanding and Managing Large B Cell Lymphoma Relapses after Chimeric Antigen Receptor T Cell Therapy. *Biol Blood Marrow Transplant*. studeni 2019.;25(11):e344–51.
39. Albelda SM. CAR T cell therapy for patients with solid tumours: key lessons to learn and unlearn. *Nat Rev Clin Oncol*. siječanj 2024.;21(1):47–66.
40. Rosenberg SA, Restifo NP. Adoptive cell transfer as personalized immunotherapy for human cancer. *Science*. 03. travanj 2015.;348(6230):62–8.
41. Betof Warner A, Corrie PG, Hamid O. Tumor-Infiltrating Lymphocyte Therapy in Melanoma: Facts to the Future. *Clin Cancer Res*. 15. svibanj 2023.;29(10):1835–54.
42. Del Bufalo F, De Angelis B, Caruana I, Del Baldo G, De Ioris MA, Serra A, i ostali. GD2-CART01 for Relapsed or Refractory High-Risk Neuroblastoma. *N Engl J Med*. 06. travanj 2023.;388(14):1284–95.
43. Brown CE, Alizadeh D, Starr R, Weng L, Wagner JR, Naranjo A, i ostali. Regression of Glioblastoma after Chimeric Antigen Receptor T-Cell Therapy. *N Engl J Med*. 29. prosinac 2016.;375(26):2561–9.

44. Majzner RG, Ramakrishna S, Yeom KW, Patel S, Chinnasamy H, Schultz LM, i ostali. GD2-CAR T cell therapy for H3K27M-mutated diffuse midline gliomas. *Nature*. 31. ožujak 2022.;603(7903):934–41.
45. Qi C, Gong J, Li J, Liu D, Qin Y, Ge S, i ostali. Claudin18.2-specific CAR T cells in gastrointestinal cancers: phase 1 trial interim results. *Nat Med*. lipanj 2022.;28(6):1189–98.
46. Fischer L, Grieb N, Platzbecker U, Vucinic V, Merz M. CAR T cell therapy in multiple myeloma, where are we now and where are we heading for? *Eur J Haematol*. siječanj 2024.;112(1):19–27.
47. Munshi NC, Anderson LD, Shah N, Madduri D, Berdeja J, Lonial S, i ostali. Idecabtagene Vicleucel in Relapsed and Refractory Multiple Myeloma. *N Engl J Med*. 25. veljača 2021.;384(8):705–16.
48. Berdeja JG, Madduri D, Usmani SZ, Jakubowiak A, Agha M, Cohen AD, i ostali. Ciltacabtagene autoleucel, a B-cell maturation antigen-directed chimeric antigen receptor T-cell therapy in patients with relapsed or refractory multiple myeloma (CARTITUDE-1): a phase 1b/2 open-label study. *The Lancet*. srpanj 2021.;398(10297):314–24.
49. Zhao WH, Liu J, Wang BY, Chen YX, Cao XM, Yang Y, i ostali. A phase 1, open-label study of LCAR-B38M, a chimeric antigen receptor T cell therapy directed against B cell maturation antigen, in patients with relapsed or refractory multiple myeloma. *J Hematol Oncol* *J Hematol Oncol*. 20. prosinac 2018.;11(1):141.
50. Wang BY, Zhao WH, Liu J, Chen YX, Cao XM, Yang Y, i ostali. Long-Term Follow-up of a Phase 1, First-in-Human Open-Label Study of LCAR-B38M, a Structurally Differentiated Chimeric Antigen Receptor T (CAR-T) Cell Therapy Targeting B-Cell Maturation Antigen (BCMA), in Patients (pts) with Relapsed/Refractory Multiple Myeloma (RRMM). *Blood*. 13. studeni 2019.;134(Supplement_1):579–579.
51. Martin T, Usmani SZ, Berdeja JG, Agha M, Cohen AD, Hari P, i ostali. Ciltacabtagene Autoleucel, an Anti-B-cell Maturation Antigen Chimeric Antigen Receptor T-Cell Therapy, for Relapsed/Refractory Multiple Myeloma: CARTITUDE-1 2-Year Follow-Up. *J Clin Oncol*. 20. veljača 2023.;41(6):1265–74.
52. Weisel K, Martin T, Krishnan A, Jagannath S, Londhe A, Nair S, i ostali. Comparative Efficacy of Ciltacabtagene Autoleucel in CARTITUDE-1 vs Physician's Choice of Therapy in the Long-Term Follow-Up of POLLUX, CASTOR, and EQUULEUS Clinical Trials for the Treatment of Patients with Relapsed or Refractory Multiple Myeloma. *Clin Drug Investig*. siječanj 2022.;42(1):29–41.
53. Martin T, Usmani SZ, Schechter JM, Rocca T, Jackson CC, Deraedt W, i ostali. Updated results from a matching-adjusted indirect comparison of efficacy outcomes for ciltacabtagene autoleucel in CARTITUDE-1 versus idecabtagene

vicleucel in KarMMa for the treatment of patients with relapsed or refractory multiple myeloma. *Curr Med Res Opin.* 02. siječanj 2023.;39(1):81–9.

7. ŽIVOTOPIS

Rođena sam 18.4.1999. u Zagrebu. Obrazovanje sam započela 2006. godine u Osnovnoj školi Šimuna Kožičića Benje u Zadru. Tijekom osnovnoškolskog obrazovanja pohađala sam Glazbenu školu Blagoje Bersa i završila osnovnu plesnu školu. 2014. godine upisujem Gimnaziju Frane Petrića, prirodoslovno-matematički smjer. U akademskoj godini 2018./2019. upisujem Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu.