

Alen Hadžić¹, Lučka Boltežar²

Terapija z limfociti T, gensko spremenjenimi s himernimi antigenскими receptori (CAR-T)

Chimeric Antigen Receptor T-cell (CAR-T) Therapy

IZVLEČEK

KLJUČNE BESEDE: imunoterapija, adoptivna T-celična terapija, himerni antigenški receptor, CAR-T, B-celični limfom

Terapija z limfociti T, gensko spremenjenimi s himernimi antigenскими receptori, je podvrsta imunoterapije, natančneje adoptivne T-celične terapije, ki se je razvila z namenom tarčnega in specifičnega uničenja rakavih celic. V prispevku predstavljamo pregled strukture, delovanja in izdelave CAR-T, trenutne rezultate zdravljenja s CAR-T pri nekaterih hematoloških rakih in solidnih tumorjih, najpogostejše stranske učinke in osnove odpornosti na zdravljenje s CAR-T.

ABSTRACT

KEY WORDS: immunotherapy, adoptive T-cell therapy, chimeric antigen receptor, CAR-T, B-cell lymphoma

Chimeric antigen receptor T-cell (CAR-T) therapy is a subtype of immunotherapy, more specifically adoptive T-cell therapy, which has been developed to target and specifically eliminate cancer cells. In this paper, we review the structure, function and manufacturing of CAR-T, the current use of CAR-T in some haematological malignancies and solid tumours, the most common side-effects of CAR-T, and the basis of resistance to CAR-T therapy.

¹ Alen Hadžić, štud. med., Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani, Vrazov trg 2, 1000 Ljubljana; alenhadzic03@gmail.com

² Doc. dr. Lučka Boltežar, dr. med., Oddelek za zdravljenje limfomov, Onkološki inštitut Ljubljana, Zaloška cesta 2, 1000 Ljubljana; Katedra za onkologijo, Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani, Vrazov trg 2, 1000 Ljubljana

UVOD

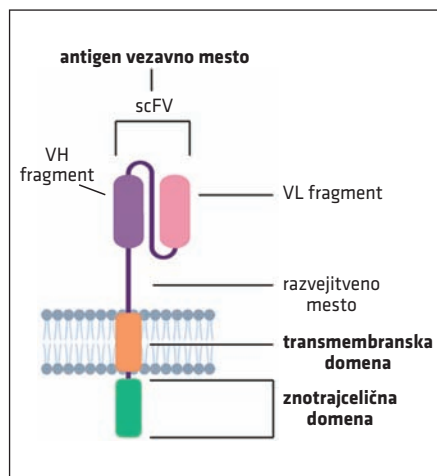
Ena izmed poglavitnih lastnosti rakavih celic je pobeg imunskemu odzivu. Preko avtokrinega kot tudi parakrinega delovanja z izločanjem citokinov si namreč rakave celice preoblikujejo mikrookolje in spremenijo lastno znotrajcelično signalizacijo, kar jim omogoča ugodne pogoje za proliferacijo, neovirano s strani imunskega sistema. To je vodilo v intenziven razvoj imunoterapije, katere cilj je ponovno vzpostaviti normalen imunski odziv proti rakavim celicam (1). Kot učinkovita se je kmalu izkazala imunoterapija z zaviralci imunskih kontrolnih točk, s katero spodbujamo aktivacijo in citotoksično delovanje limfocitov T (2). Ta pa ima tudi svoje ovire, saj je pogosto v imunski pobeg vključena tudi okrnjena prepoznava antigenov na površini rakavih celic (1, 3). V ta namen se je razvila podvrsta imunoterapije, ki jo imenujemo adoptivna T-celična terapija. Temelji na gensko spremenjenih limfocitih T, ki so ciljano usmerjeni v imunski odziv proti točno določenemu antigenu (4). Razvoj takšne terapije je omogočilo gensko inženirstvo, s katerim spodbudimo sintezo in izražanje himernega antigenskega receptorja (angl. *chimeric antigen receptor*, CAR) na površini limfocitov T. Takšnim limfocitom pravimo limfociti T, gensko spremenjeni s himernimi antigenskimi receptorji (angl. *chimeric antigen receptor T cells*, CAR-T), in predstavljajo osnovo za razvoj zdravljenja raka s terapijo CAR-T.

HIMERNI ANTIGENSKI RECEPTORJI Struktura himernih antigenskih receptorjev

CAR so rekombinantni antigenski receptorji, ki vsebujejo hkrati antigen vezočo domeno in limfocit T aktivirajočo domeno, zaradi česar jih imenujemo himerni receptorji. Lahko jih umetno sintetiziramo in določamo njihovo specifičnost. S poznavanjem za posamezne rakave celice specifičnih antigenov lahko sintetiziramo CAR, namenjene

tarčnemu prepoznavanju izbranih celic (5). Sestavljen je iz treh glavnih podenot: antigen vezavnega mesta, transmembranske domene in znotrajcelične domene (slika 1) (4–7).

Antigen vezavno mesto tvori enoverižni variabilni fragment (angl. *single chain variable fragment*, scFV), ki je sestavljen iz variabilnih fragmentov težke in lahke verige monoklonskih protiteles (angl. *variable light*, VL; *variable heavy*, VH). Antigen vezavno mesto je tisto, ki določi specifičnost in afiniteto receptorja za posamezen epitop antigena in je ključno pri sintezi CAR. S spreminjanjem afinitete scFV do epitopa lahko pomembno vplivamo na funkcijo in dogajanje s CAR-T, saj vezava z različno afiniteto vodi do različnih znotrajceličnih odzivov CAR-T, poleg tega pa je od strukture scFV odvisna stabilnost CAR na površini CAR-T (5, 7, 8). Antigen vezavno mesto je s transmembransko domeno povezano preko t. i. razvejitvenega mesta (angl. *hinge region*) (slika 1). Z uporabo različno dolgih razvejitvenih mest uravnavamo fleksibilnost



Slika 1. Struktura himernega antigenskega receptorja. scFV – enoverižni variabilni fragment (angl. *single chain variable fragment*), VH – variabilni fragment težke verige monoklonskih protiteles (angl. *variable heavy*), VL – variabilni fragment lahke verige monoklonskih protiteles (angl. *variable light*).

antigen vezavnega mesta CAR, s tem pa vplivamo na dostop do antigena, kar ima lahko pomembne *in vivo* posledice (8–10). Transmembranska domena služi predvsem sidranju CAR v membrano limfocita T, zato izbira strukturno različnih transmembranskih domen biološko najmanj vpliva na funkcijo CAR-T. Znotrajcelična domena je odgovorna za prenos signala po vezavi antigena na CAR, torej za efektorsko funkcijo CAR-T. V uporabi so CAR-T različnih generacij, ki se razlikujejo v zgradbi znotrajcelične domene.

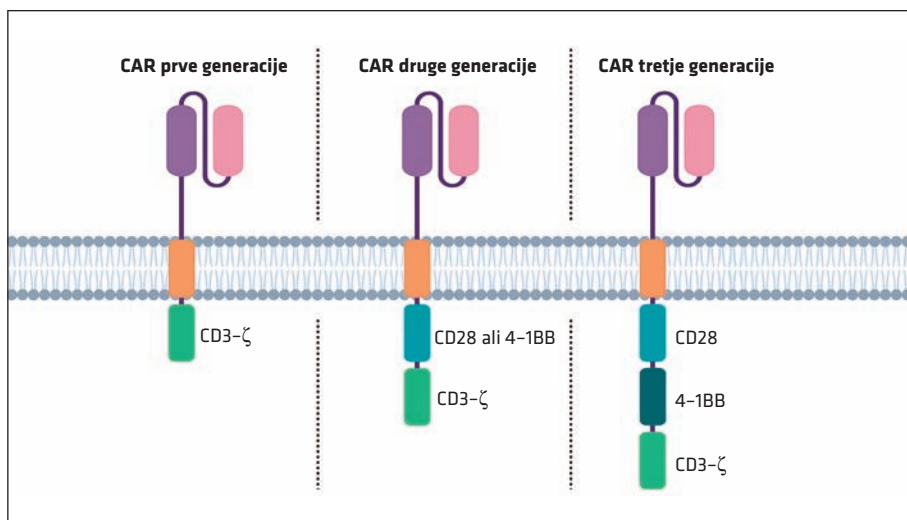
CAR prve generacije uporabljajo za znotrajcelično signalizacijo CD3- ζ (zeta) (slika 2). Gre za podenoto kompleksa CD3, ki je v limfocitih T odgovoren za prenos signala po vezavi antigena na T-celični receptor (TCR) (5, 6, 8, 11, 12). Za najbolj učinkovito delovanje limfocitov T oz. CAR-T pa se je izkazala še uporaba dodatne signalizacije z dodatno podenoto znotrajcelične domene. Na ta način lahko z dodatnim odzivom spodbudimo CAR-T k tvorbi vnetnih citokinov, zmanjšamo tonično signalizacijo (signalizacija brez vezave antigena), spodbudimo klonalno ekspanzijo ob aktivaciji (interlev-

kin-2 (IL-2), glavni rastni dejavnik za limfocite T) in podaljšamo čas delovanja CAR-T (čas do disfunkcije limfocita T).

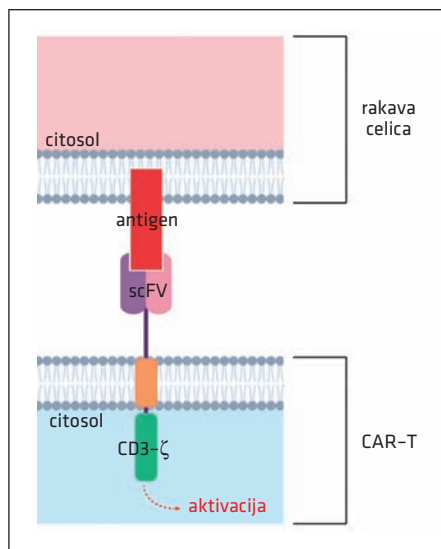
CAR druge generacije vsebujejo poleg CD3- ζ na znotrajcelični domeni še kostimulacijo podenoto; bodisi CD28 bodisi 4-1BB, CAR tretje generacije pa vsebujejo obe omenjeni podenoti (slika 2). Dodajanje četrte (CAR četrte generacije) oz. prilaganje obstoječih kostimulacijskih podenot in njihov vpliv na učinkovitost in stranske učinke zdravljenja s CAR-T je tema mnogih raziskav (6–8, 13).

Delovanje himernih antigenih receptorjev

CAR imajo pri CAR-T podobno funkcijo kot TCR na nespremenjenih limfocitih T. Ob vezavi na antigen sprožijo kaskado znotrajceličnih reakcij, ki je odgovorna za efektorsko funkcijo limfocitov T oz. CAR-T (slika 3) (6). Ima pa prepoznavo antigena s CAR kar nekaj prednosti pred klasično prepoznavo s TCR. Je namreč neodvisna od predstavitve antigena na površini rakavih celic s kompleksom tkivne skladnosti 1 (angl. *major histocompatibility complex-1*, MHC-I), kar



Slika 2. Različne generacije himernih antigenih receptorjev. CAR – himerni antigeni receptor (angl. *chimeric antigen receptor*), CD – membranski označevalec pripadnosti (angl. *cluster of differentiation*).



Slika 3. Prepoznavna rakave celice s himernim antigenimskim receptorjem. scFV – enoverižni variabilni fragment (angl. *single chain variable fragment*), CD – membranski označevalec pripadnosti (angl. *cluster of differentiation*), CAR-T – limfocit T, spremenjen s himernim antigenimskim receptorjem (angl. *chimeric antigen receptor T cells*, CAR-T).

predstavlja eno ključnih prednosti terapije CAR-T, saj s prilagajanjem limfocitov T tako združimo komponente prirojenega in pridobljenega imunskega odziva (osnovna lastnost prirojenega imunskega odziva je od MHC-I neodvisen imunski odziv, medtem ko je glavna pridobitev pridobljenega imunskega odziva specifičen imunski odziv proti točno določenemu antigenu). Poleg tega je spekter strukturno različnih epitopov (antigenov), ki jih lahko CAR prepozna, širši od spektra epitopov TCR. Tako lahko CAR-T tarčno usmerimo proti antigenom na površini rakavih celic, ki jih limfociti T ne bi mogli prepoznati. Tudi disfunkcija limfocita zaradi dolgotrajne aktivacije z antigenom nastopi pri CAR-T kasneje kot pri nespremenjenih limfocitih T (6, 7, 14, 15).

Postopek priprave terapije CAR-T

CAR-T sintetiziramo iz bolnikovih lastnih celic. Iz krvi izoliramo levkocite, nato pa

med njimi izoliramo limfocite T in jih v nadzorovanem okolju (citokini, aktivatorji in koaktivatorji) v kulturi gojimo do zrelosti. Sintezo CAR spodbudimo z vnosom gena za CAR v DNA limfocitov T. V ta namen uporabljamo predvsem retrovirusne in lentivirusne sisteme vektorskega vnosa, redkeje nevirusne sisteme, v raziskavah pa proučujejo tudi možnosti uporabe različnih vrst neposrednega genomskega urejanja. Ko limfociti T začnejo sintetizirati in izražati CAR, jih namnožimo in pripravimo za uporabo. Pred uporabo CAR-T mora bolnik večinoma prejeti še limfodeplecijsko kemoterapijo, saj z zmanjšanjem obstoječih limfocitov povišamo možnosti za preživetje vnesenih CAR-T. Terapija CAR-T poteka v enkratnem odmerku (včasih je lahko razdeljena na 2–3 dni), v čemer se bistveno razlikuje od drugih oblik sistemskega zdravljenja, pri katerih poteka zdravljenje običajno v ciklih na nekaj tednov (8, 14–17).

KLINIČNA UPORABA CAR-T

Klinično se je terapija s CAR-T izkazala za zelo učinkovito pri nekaterih vrstah levkemij in limfomov, prav tako pa potekajo raziskave na več vrstah solidnih tumorjev. V Sloveniji je v času pisanja terapija s CAR-T v uporabi pri akutni B-limfoblastni levkemiji (angl. *B-cell acute lymphoblastic leukaemia*, B-ALL) in difuznem velikoceličnem B-celičnem limfomu, uporaba v zdravljenju hematoloških rakavih bolezni pa se hitro širi (18–21). V svetu je za klinično uporabo registriranih šest produktov CAR-T: axicaptagene ciloleucel, brexucaptagene autoleucel, tisagenlecleucel, lisocaptagene maraleucel, idecabtagene vicleucel in ciltacaptagene autoleucel. V Sloveniji je na voljo le Novartisov preparat tisagenlecleucel s tovarniškim imenom Kymriah® (18, 22). Ena pomembnih omejitev zdravljenja s CAR-T je visoka cena produkta, kar omejuje njihovo širšo uporabo v številnih državah.

Akutna B-limfoblastna levkemija

Pri B-ALL kaže terapija s CAR-T dober odziv na zdravljenje že več kot deset let. Učinkovitost terapije so dokazali tako pri odrasli kot pediatrični populaciji (18, 23, 24). Leta 2010 so Brentjens in sodelavci v klinični raziskavi faze 1 pri bolnikih s ponovitvami B-ALL uporabili CAR-T, usmerjene proti CD19, ki jo izražajo zreli limfociti B in vsi njihovi predhodniki (25). Leta 2018 so poročali o dolgoročnih izidih omenjene raziskave, v kateri je 53 bolnikov z B-ALL prejelo aplikacijo CAR-T, od tega so popolni odgovor na zdravljenje dosegli pri kar 83 % vključenih bolnikov (24). V času pisanja je na voljo več podobnih raziskav, ki poročajo o dolgoročnih učinkih zdravljenja

na večjih populacijah bolnikov (tj. čas spremljanja več kot eno leto in vključenih vsaj 20 bolnikov) (tabela 1) (18). V navedenih raziskavah so vključevali bolnike, ki so imeli ponovitve B-ALL oz. refraktorno B-ALL in so prestali že vsaj dva reda sistemskega zdravljenja (20). V večini raziskav so popolni odgovor na zdravljenje (popolno remisijo brez minimalne rezidualne bolezni) dosegli pri 70–80 % bolnikov. Srednje preživetje brez bolezni se med raziskavami zelo razlikuje. Vzrok temu je verjetno velika heterogenost skupin vključenih bolnikov (še posebej po starosti), pomembne pa so tudi razlike v prejemanju nadaljevalnega (konsolidacijskega) zdravljenja – alogene (darovalec je ožji sorodnik) presaditve

Tabela 1. Uporaba terapije s CAR-T pri bolnikih z akutno B-celično limfoblastno levkemijo (18). EFS – preživetje brez dogodka (angl. *event-free survival*), RFS – preživetje brez ponovitve bolezni (angl. *relapse-free survival*).

Raziskava (leto objave)	Populacija (število bolnikov)	Srednji čas spremljanja	Delež bolnikov, pri katerih je dosežen popolni odgovor	Preživetje
Shah in sod. (2021) (30)	pediatrična in mladi odrasli, ^a odrasli (50)	4,8 let	62 %	srednje EFS: 3,1 meseca
Laetsch in sod. (2023) (31)	pediatrična in mladi odrasli, ^a odrasli (79)	39 mesecev	82 %	srednje EFS: 24 mesecev
Jacoby in sod. (2022) (32)	pediatrična in mladi odrasli, ^a odrasli (37)	3 leta	86 %	srednje EFS: 17 mesecev
Wayne in sod. (2022) (33)	pediatrična in mladi odrasli, ^a odrasli (24)	36 mesecev	67 %	srednje EFS: 5,2 meseca
Hay in sod. (2019) (34)	odrasli (53)	31 mesecev	85 %	srednje EFS: 7,6 meseca
Park in sod. (2018) (24)	odrasli (53)	29 mesecev	83 %	srednje EFS: 6,1 meseca
Shah in sod. (2021) (35)	odrasli (45)	22 mesecev	69 %	srednje RFS: 7 mesecev
Roddie in sod. (2021) (36)	odrasli (20)	22 mesecev	85 %	EFS po dveh letih: 44 %
Shah in sod. (2021) (37)	odrasli (55)	16 mesecev	71 %	srednje RFS: 11,6 meseca
Wang in sod. (2021) (38)	pediatrična in mladi odrasli ^a (24)	16 mesecev	83 %	EFS po treh letih: 37 %
Frey in sod. (2020) (26)	odrasli (35)	13 mesecev	69 %	srednje EFS: 5,6 meseca

^a Stari do 25 let.

krvotvornih matičnih celic (angl. *haematopoietic stem cell transplantation*, HSCT). Raziskave se (glede na razlike v načrtu raziskave) razlikujejo v deležu bolnikov s popolnim odgovorom, ki so po zdravljenju s CAR-T prejeli HSCT (razpon 17–88 % bolnikov), kar pa lahko vpliva na dolgoročne izide preživetja teh bolnikov (18). V večini raziskav je delež bolnikov s ponovitvijo po popolnem odgovoru večji med tistimi, ki po zaključenem zdravljenju niso prejeli nadaljevalne alogene HSCT (18, 26). Izjema so določene pediatrične populacije, pri katerih se kaže, da bi lahko terapija z anti-CD19 CAR-T imela enak učinek tudi brez nadaljevanja z alogeno HSCT. V prihodnje bo ključnega pomena natančnejša določitev podskupine bolnikov, pri katerih je (oz. pri katerih ni) nadaljevalna alogena HSCT nujno potrebna (27). Leta 2021 so v ta namen Hu in sodelavci opravili metaanalizo, v katero so vključili 758 bolnikov z B-ALL, zdravljenih s CAR-T. Njihovi rezultati kažejo na nižji delež ponovitev in daljše srednje celokupno preživetje ob kombinaciji CAR-T z alogeno HSCT. Obstajajo pa pomembne razlike glede na raso (slabša učinkovitost nadaljevalne HSCT pri belcih) in strukturo izbranih CAR-T – izbira različnih kostimulatornih podenot (28). Te razlike bo treba v prihodnosti še natančneje opredeliti. Pomembno je tudi opredeliti napovedne dejavnike, ki bi lahko vplivali na ponovitev in celokupno preživetje bolnikov z B-ALL, zdravljenih s CAR-T. Med te trenutno uvrščamo predvsem visoko tumorsko breme v času prejemanja CAR-T oz. tik pred zdravljenjem, prizadetost centralnega živčnega sistema (ČŽS), mutacijo v genu za protein p53 *TP53* (angl. *tumor protein p53*, negativni prediktivni dejavniki) in izbiro različnih generacij CAR-T (CAR-T tretje in četrte generacije kažejo manjši delež ponovitev po zdravljenju) (29). Poleg omenjenega sta predmet raziskav še kombiniranje različnih CAR-T (tako kombinacija različnih generacij kot kombinacija CAR-T, usmer-

jenih v različne antigene) in aplikacija dodatnega (drugega) odmerka CAR-T (29).

V Sloveniji se CAR-T v času pisanja uporablja za zdravljenje pediatrične populacije in mladih odraslih (starih do 25 let) z B-ALL, ki je neozdravljiva na zdravljenje, s ponovitvijo B-ALL po alogeni presaditvi HSCT ali s katero drugo kasnejšo ponovitvijo bolezni (20).

Visokomaligni B-celični limfomi

Med visokomaligne B-celične limfome glede na klasifikacijo Svetovne zdravstvene organizacije uvrščamo več citološko in (po novem) tudi genetsko opredeljenih entitet, med njimi je tudi difuzni velikocelični B-celični limfom (za podrobno klasifikacijo glej Alaggio in sod., 2022) (39). Tako kot pri B-ALL med indikacije za zdravljenje s CAR-T sodijo neozdravljiva bolezen ali bolezen s ponovitvami. V času pisanja imamo na voljo več raziskav, ki poročajo o dolgoročnih učinkih zdravljenja s CAR-T pri teh bolnikih (tabela 2, vključene so raziskave s časom spremljanja vsaj dve leti in z vsaj 20 vključenimi bolniki) (18). Tudi pri teh raziskavah so skupine vključenih bolnikov heterogene (starost, vrsta limfoma, stadij bolezni) in so zato izidi pri preživetju zelo različni, medtem ko se delež bolnikov s popolnim odgovorom giblje nekje med 50–65 %, kar kaže na dobro učinkovitost zdravljenja s CAR-T kot tretjega (ali kasnejšega) reda zdravljenja pri teh bolnikih. Pomemben je tudi podatek, da je večina raziskav pokazala, da obstaja tudi podskupina bolnikov oz. en delež bolnikov, ki so bili zdravljeni s CAR-T in pri katerih popolni odgovor (remisija) vztraja brez nadaljevalnega zdravljenja tudi dve leti po zdravljenju ali celo več (18). Raziskave se razlikujejo tudi po tem, da nekatere potekajo brez limfodeplecijske kemoterapije oz. le-ta ni bila dovoljena, medtem ko se v večini raziskav limfodeplecijska kemoterapija uporablja.

Tabela 2. Uporaba terapije s CAR-T pri bolnikih z visokomalignimi B-celičnimi limfomi (18). DLBCL – difuzni velikocelični B-celični limfom (angl. *diffuse large B-cell lymphoma*), FL – folikularni limfom, PFS – preživetje brez napredovanja bolezni (angl. *progression free survival*), PMBCL – primarni mediastinalni B-celični limfom, tFL – transformiran folikularni limfom, EFS – preživetje brez dogodka (angl. *event-free survival*), CLL – kronična limfocitna levkemija (angl. *chronic lymphocytic leukaemia*), SLL – drobnocelični B-limfom (angl. *small lymphocytic lymphoma*), MCL – limfom plaščnih celic (angl. *mantle cell lymphoma*), LBCL – velikocelični B-celični limfom (angl. *large B-cell lymphoma*), HGBCL – visokomaligni B-celični limfom (angl. *high-grade B-cell lymphoma*).

Raziskava (leto objave)	Bolezen (število bolnikov)	Srednji čas spremljanja	Delež bolnikov, pri katerih je dosežen popolni odgovor	Preživetje
Chong in sod. (2021) (40)	DLBCL in FL (38)	61 mesecev	55 %	DLBCL – 5-letno PFS 31-%, FL – 5-letno PFS 43-%
Jacobson in sod. (2021) (41)	DLBCL, PMBCL in tFL (101)	51 mesecev	54 %	srednje EFS: 5,7 meseca
Cappell in sod. (2020) (42)	DLBCL/PMBCL, indolentni limfom, CLL/SLL (43)	42 mesecev	58 %	srednje EFS: 55 mesecev
Schuster in sod. (2021) (43)	DLBCL, HGBCL in tFL (115)	40 mesecev	39 %	srednje EFS: 2,8 meseca
Hirayama in sod. (2019) (44)	tFL in FL (21)	38 mesecev (tFL) 24 mesecev (FL)	46 % (tFL) 88 % (FL)	srednje PFS 1,9 meseca
Wang in sod. (2023) (45)	MCL (68)	36 mesecev	68 %	srednje PFS 26 mesecev
Abramson in sod. (2021) (46)	LBCL (270)	ni podan (vsi več kot 24 mesecev)	53 %	srednje PFS 6,8 mesecev
Locke in sod. (2022) (47)	DLBCL, HGBCL, drugo (180)	25 mesecev	65 %	srednje PFS 15 mesecev

V Sloveniji v času pisanja s CAR-T zdravimo odrasle bolnike s ponovitvami ali z neodzivno obliko difuznega velikoceličnega B-celičnega limfoma po dveh ali več redih sistemskega zdravljenja (20). V tujini pa potekajo raziskave s CAR-T v zgodnejših linijah zdravljenja.

Plazmocitom

Tudi pri bolnikih s plazmocitomom se zdravljenje s CAR-T uporablja pri tistih s ponovitvami bolezni ali z neodzivno obliko bolezni. V primerjavi z B-ALL in visokomalignimi B-celičnimi limfomi je podatkov o dolgoročnih učinkih zdravljenja manj, tisti, ki so na voljo, pa kažejo na visok delež bolnikov s popolnim odgovorom na

zdravljenje (30–80 %), pri nekaterih od teh bolnikov pa je opaziti tudi podaljšan popolni odgovor na zdravljenje (več kot eno leto brez dodatne terapije). Terapija s CAR-T tako kaže dober potencial za uporabo tudi pri nekaterih bolnikih s plazmocitomom (18, 48). V Sloveniji trenutno tovrstno zdravljenje bolnikov s plazmocitomom še ni na voljo.

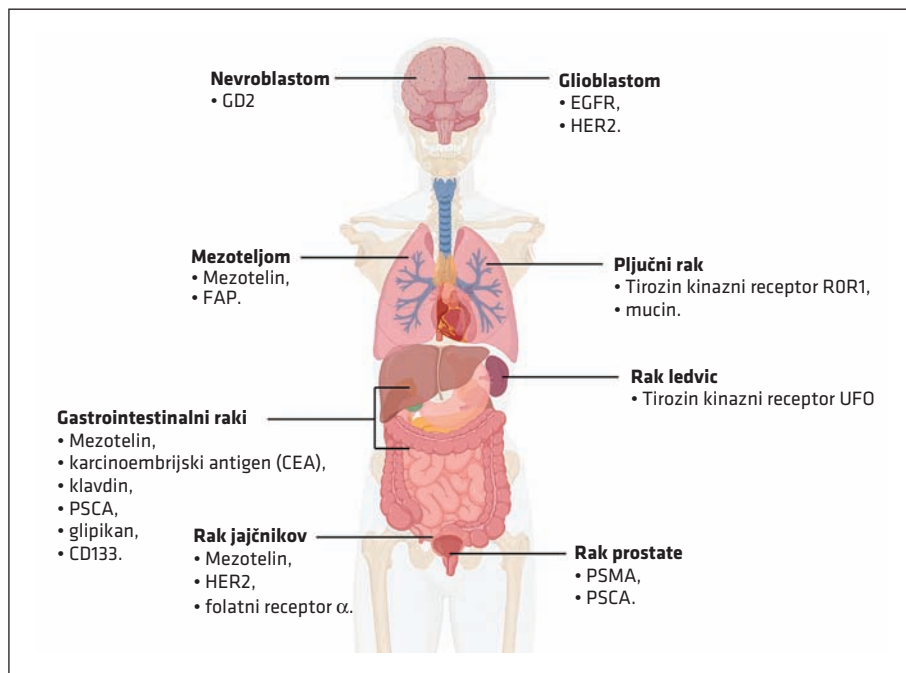
Solidni tumorji

Zaradi visokega terapevtskega potenciala zdravljenja s CAR-T poteka veliko raziskav na področju uporabe CAR-T pri zdravljenju solidnih tumorjev. Težava se pojavi predvsem pri opredelitvi označevalcev oz. tarč CAR-T, ki bi bile dovolj specifične za tumorske

celice (kot je to npr. CD19 pri B-celičnih limfomih). Ker gre pri tumorjih za heterogene tvorbe, je namreč težko opredeliti dobre tarče, ki bi omogočale tarčno delovanje CAR-T brez prekomernih stranskih učinkov zaradi napada na človeku lastne nespremenjene celice (49). Pri zdravljenju B-celičnih limfomov je CD19 izražen tudi na zdravih limfocitih B in tako terapija ni popolnoma specifična, a lahko (neželene) učinke zdravljenja s CAR-T na zdrave limfocite B dobro nadziramo (npr. z nadomeščanjem protiteles) (50). Naslednja ovira za zdravljenje solidnih tumorjev pa je sam vstop limfocitov T (oz. CAR-T) v tumorsko tkivo. Tumorsko mikrookolje je namreč pogosto spremenjeno v protivnetno, z zmanjšano proizvodnjo ustreznih adhezijskih molekul, kemokimov in citokinov, kar predstavlja

težavo vsem oblikam imunoterapije. Trenutni pristopi k reševanju opisanih preprek vključujejo uporabo različnih režimov predprave bolnika in kombiniranje različnih oblik zdravljenja (4, 49, 51–53).

Zaradi omenjenih preprek je za zdaj vloga CAR-T v zdravljenju solidnih tumorjev predvsem v izboljšanju izida zdravljenja s kombiniranjem CAR-T z drugimi že obstoječimi terapijami, kot so klasično obsevanje, kemoterapija in imunoterapija (49, 51, 54). Trenutno poteka več raziskav, ki se ukvarjajo s tovrstno uporabo CAR-T pri zdravljenju bolnikov z glioblastomom, kolorektalnim rakom, rakom trebušne slinavke, ledvičnim rakom in rakom jeter, rakom prostate, jajčnikov, dojke, mezoteliomom in rakom pljuč. Najbolj aktualne so raziskave na področju rakavih obolenj, pri



Slika 4. Uporaba CAR-T pri solidnih tumorjih (51, 54). EGFR – receptor za epidermalni rastni dejavnik (angl. *epidermal growth factor receptor*), HER2 – receptor 2 za humani epidermalni rastni dejavnik (angl. *human epidermal growth factor receptor 2*), FAP – aktivator fibroblastov (angl. *fibroblast activation protein*), CEA – karcinoembrijski antigen (angl. *carcino-embryonic antigen*), PSCA – antigen matičnih celic prostate (angl. *prostate stem cell antigen*), CD – membranski označevalec pripadnosti (angl. *cluster of differentiation*), PSMA – za prostatu specifični membranski antigen (angl. *prostate specific membrane antigen*).

katerih sta s trenutnimi pristopi k zdravljenju odziv na zdravljenje in preživetje slaba. Tarče, ki se v kliničnih raziskavah uporabljajo pri posameznih solidnih tumorjih, so povzete na sliki 4. Za podrobnejši opis posameznih raziskav pri solidnih tumorjih glej Mehrabadi in sod. (2022) in Patel in sod. (2022) (51, 54). V Sloveniji CAR-T za zdravljenje solidnih tumorjev še niso na voljo.

STRANSKI UČINKI ZDRAVLJENJA S CAR-T

Stranske učinke zdravljenja s CAR-T delimo na kratkoročne in dolgoročne. Med kratkoročne uvrščamo sindrom sproščanja citokinov (angl. *cytokine release syndrome*, CRS) in sindrom z imunskimi efektorskimi celicami posredovane nevrotoksičnosti (angl. *immune effector cell-associated neurotoxicity*, ICANS), ki se pojavita v prvem tednu ali mesecu po zdravljenju. Med dolgoročne učinke uvrščamo citopenije in hipogamaglobulinemijo. Posredno lahko med stranske učinke zdravljenja s CAR-T uvrščamo tudi razna vnetja, ki pa so bolj posledica v nadaljevanju opisanih citopenij in hipogamaglobulinemije (55).

Trenutno so podporni ukrepi pri stranskih učinkih predvsem simptomatski – za drug pristop bi bilo treba namreč vzpostaviti nekakšno stikalo, s katerim bi lahko delovanje CAR-T hitro in nadzorovano prekinili. Med predlaganimi pristopi so uporaba spodbujene apoptoze, t. i. samomorilskih genov (angl. *suicide genes*) in zaviralnih CAR-T (usmerjenih proti prvotno vnesenim CAR-T). Ker pa gre pri CAR-T za terapijo z živimi celicami, je odziv na zdravljenje težko predvideti in vnaprej določiti primeren čas za tovrstno prekinitev zdravljenja (tako kot je težko deterministično obravnavati človekov imunski odziv). V teoriji bi bil primeren trenutek za prekinitev delovanja ob pojavu življenja ogrožajočih stranskih učinkov zdravljenja ali pa kasneje, ko je tumor (ali v primeru hematoloških boleznih rakave celice) v celoti odstranjen (50).

Sindrom sproščanja citokinov

CRS je eden izmed glavnih stranskih učinkov zdravljenja s CAR-T, pri katerem gre za prekomeren sistemski vnetni odziv, v eni izmed oblik pa se pravzaprav pojavi pri skoraj vseh bolnikih, zdravljenih s CAR-T. Nastane kot posledica izločanja vnetnih citokinov in kemokinov CAR-T (internefron γ , tumor nekrotizirajoč faktor, IL-2, IL-8, IL-10) (56). V blagih oblikah se kaže s prehladu podobnimi simptomi: povišana telesna temperatura, bolečine v mišicah in skeletu, glavobol, utrujenost; poznamo pa tudi nevarnejše oblike, pri katerih lahko (poleg že omenjenih) prihaja še do hipoksije, tahikardije, aritmij, motenj v koagulaciji, citopenije, jetrne toksičnosti, ledvične odpovedi in (v najbolj izraženih oblikah) do sindroma večorganske odpovedi (55, 57). Dolga leta ni bilo vzpostavljenega enotnega sistema za ocenjevanje stopnje CRS, zato so leta 2019 Lee in sod. z Ameriško zvezo za transplantacijo in celično terapijo (American Society for Transplantation and Cellular Therapy, ASCTC) dosegli soglasje, s katerim so natančneje opredelili in poenotili vrednotenje CRS. Skladno s stopnjo CRS so opredelili tudi ustrezne podporne ukrepe. Pri blažjih oblikah sta potrebni predvsem hidracija in znižanje telesne temperature, sledi pričetek imunosupresivnega zdravljenja (zaviralci IL-6, kortikosteroidi), z nastopom hipoksije in hipotenzije pa je potrebno še dodajanje kisika in vazopresinov, v izrazitejših oblikah pa je potrebno tudi sprejetje na oddelek za intenzivno nego (56, 58).

Sindrom z imunskimi efektorskimi celicami posredovane nevrotoksičnosti

Tudi ICANS se pojavi v prvem tednu ali prvem mesecu po začetku zdravljenja s CAR-T. Največkrat se pojavi skupaj s CRS, redkeje pa se lahko pojavi tudi neodvisno. Vzrok ICANS je slabše raziskan kot vzrok CRS, najverjetneje pa gre za prekomerne

vnetne procese v osrednjem živčnem sistemu. V zgodnjih oblikah se kaže s splošno zmedenostjo, pomanjkanjem pozornosti, ekspresivno afazijo in težavami s pisanjem (tremor), v napredovalih oblikah pa lahko sledijo nezavest, koma, epileptični napadi, hujše težave z motoriko in možganski edem, ki je lahko smrten. Podporni ukrepi so večinoma simptomatski in vključujejo zdravljenje z imunosupresivi (zaviralci IL-6, kortikosteroidi), zdravljenje z antiepileptiki, spremljanje bolnikov z elektroencefalografijo in sprejetje na oddelek za intenzivno nego (50, 55, 56, 59).

Citopenije in hipogamaglobulinemija

Citopenije se pojavijo pri približno tretjini bolnikov, zdravljenih s CAR-T. V zgodnji (akutni) fazi (v prvem mesecu po začetku zdravljenja) se najpogosteje pojavi nevtropenija, sledita še trombocitopenija in anemija. V pozni fazi (po prvem mesecu ali kasneje) v približno enakem razmerju opazimo tako nevtropenijo kot trombocitopenijo, medtem ko je anemij manj (60). Zgodnje citopenije pripisujemo predvsem vrsti limfodeplecijske kemoterapije, CRS in vrstam predhodnih kemoterapij ali pa obsežnemu predhodnemu zdravljenju z obsevanjem. Vzrok poznih oz. vztrajajočih citopenij (več kot mesec po začetku zdravljenja) ni dobro pojasnjen. Povezujemo jih predvsem s hujšimi stopnjami CRS v zgodnji fazi zdravljenja, predhodnimi redi sistemskega zdravljenja in predhodno HSCT. Najverjetneje gre za zaradi vnetnih odzivov okrnjeno krvotvorno funkcijo kostnega mozga, ki se po zdravljenju (in fazi zgodnjih citopenij) ne povrne na bazalni fiziološki nivo. Če krvotvorna funkcija ni bila popolna že pred pričetkom zdravljenja s CAR-T, je tveganje za razvoj citopenij še večje (61, 62). Podporno zdravljenje anemij in trombocitopenij temelji na nadomeščanju eritrocitov in trombocitov, za zdravljenje nevtropenije pa najpogosteje upora-

bljamo stimulirajoč faktor granulocitnih kolonij (angl. *granulocyte colony-stimulating factor*, G-CSF) (55, 56, 61, 62).

Pomanjkanje limfocitov B je pri zdravljenju bolnikov z B-celičnimi limfomi z anti-CD19 CAR-T pričakovano, saj CD19 izražajo tudi zdravi, nespremenjeni limfociti B. Hipogamaglobulinemijo, ki sledi, zdravimo z nadomeščanjem protiteles (54).

ODPORNOST NA ZDRAVLJENJE S CAR-T

Odpornost na zdravljenje s CAR-T je lahko posledica okrnjene klonске ekspanzije CAR-T, okrnjene ali prekomerne aktivacije CAR-T, pojava t. i. antigenškega pobega (angl. *antigen escape*) in pogostih mutacij rakavih celic. Z izjemo klonске ekspanzije večino omenjenih preprek rešujemo pri sami izdelavi CAR, torej pred samim vnosom terapije. Pristopi k doseganju optimalne klonске ekspanzije CAR-T vključujejo dodajanje spodbujajočih citokinov (IL-6, IL-7, IL-15) *in vitro* in uporabo zaviralcev Brutonove tirozinske kinaze *in vivo* (ta fiziološko zavira klonsko ekspanzijo limfocitov T). Aktivacija CAR-T je nujna za opravljanje njihove efektorske funkcije (uničevanja tarčnih celic), medtem ko lahko prekomerna aktivacija vodi do disfunkcije CAR-T in apoptoze. Zato je za doseg najboljše aktivacije ob stiku s tarčnim antigenom ključno prirejanje različnih znotrajceličnih signalnih domen pri izdelavi CAR (stimulatorne in kostimulatorne podenote, glej podpoglavje *Struktura himernih antigenških receptorjev*). Antigenški pobeg je pojav, pri katerem rakave celice zaradi mutacij zmanjšajo izražanje antigena, ki smo ga izbrali kot tarčo pri izdelavi CAR. V ta namen se razvijajo CAR-T, ki bi bili usmerjeni proti več antigenom hkrati, s čimer bi zmanjšali možnost pojava antigenškega pobega. Poleg omenjene mutacije pa se lahko rakave celice tudi z drugimi spremembami prilagodijo na zdravljenje in postanejo nanj odporne (npr. zmanjšajo izražanje proapoptotskih molekul) (63).

ZAKLJUČKI

Zdravljenje s CAR-T kaže dobre rezultate pri zdravljenju hematoloških rakov že zadnjih deset let. Dobre dolgoročne rezultate je pokazalo več raziskav pri bolnikih z B-ALL, visokomalignim B-celičnim limfomom in plazmacitomom. V Sloveniji v času pisanja s CAR-T zdravimo populacijo pediatričnih bolnikov in mladih odraslih s ponovitvami ali neodzivno obliko B-ALL in odrasle bolnike s ponovitvami ali neodzivno obliko difuznega velikoceličnega B-celičnega limfoma, indikacije za zdravljenje pa se po svetu hitro širijo. Glavne prepreke pri uporabi CAR-T predstavljajo predvsem pomanjkanje jasnih napovednih označevalcev za odgovor na zdravljenje, razvoj odpornosti

na zdravljenje in visoka cena samega zdravljenja. Nekatere države so zato začele s proizvodnjo lastnih produktov CAR-T, med katere bo zelo verjetno kmalu sodila tudi Slovenija. Težavo lahko predstavlja tudi dolg čas do izdelave produkta CAR-T, saj lahko od odvzema bolnikovih limfocitov do aplikacije izdelanih CAR-T mine tudi pet tednov ali več, kar pa je za bolnike z agresivnimi hematološkimi malignomi izredno dolga čakalna doba. V uporabo prihajajo drugi produkti s podobno učinkovitostjo (npr. bispecifična protitelesa), ki pa bodo bolniku dostopni takoj. Prihodnost zdravljenja s CAR-T so torej ozke indikacije za skrbno izbrane bolnike ob ustreznem času.

LITERATURA

1. Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: The next generation. *Cell*. 2011; 144 (5): 646–674.
2. Mellman I, Coukos G, Dranoff G. Cancer immunotherapy comes of age. *Nature*. 2011; 480 (7378): 480–89.
3. Taylor BC, Balko JM. Mechanisms of MHC-I downregulation and role in immunotherapy response. *Front Immunol*. 2022; 13: 844866.
4. Rajčević U. Adoptive cell therapy and chimeric antigen receptor – T cells. *Zdravniški Vestnik*. 2020; 89 (7–8): 398–407.
5. Sadelain M, Brentjens R, Rivière I. The basic principles of chimeric antigen receptor design. *Cancer Discov*. 2013; 3 (4): 388–98.
6. June CH, Sadelain M. Chimeric Antigen Receptor Therapy. *N Engl J Med*. 2018; 379 (1): 64.
7. Sterner RC, Sterner RM. CAR-T cell therapy: Current limitations and potential strategies. *Blood Cancer J*. 2021; 11 (4): 1–11.
8. Guedan S, Calderon H, Posey AD, et al. Engineering and design of chimeric antigen receptors. *Mol Ther Methods Clin Dev*. 2019; 12: 145–156.
9. Hudecek M, Sommermeyer D, Kosasih PL, et al. The nonsignaling extracellular spacer domain of chimeric antigen receptors is decisive for in vivo antitumor activity. *Cancer Immunol Res*. 2015; 3 (2): 125–135.
10. Alabanza L, Pegues M, Geldres C, et al. Function of novel anti-CD19 chimeric antigen receptors with human variable regions is affected by hinge and transmembrane domains. *Mol Ther*. 2017; 25 (11): 2452–65.
11. Malissen B, Schmitt-Verhulst AM. Transmembrane signalling through the T-cell-receptor-CD3 complex. *Curr Opin Immunol*. 1993; 5 (3): 324–33.
12. Bridgeman JS, Ladell K, Sheard VE, et al. CD3 ζ -based chimeric antigen receptors mediate T cell activation via cis- and trans-signalling mechanisms: implications for optimization of receptor structure for adoptive cell therapy. *Clin Exp Immunol*. 2014; 175 (2): 258–67.
13. Abate-Daga D, Davila ML. CAR models: Next-generation CAR modifications for enhanced T-cell function. *Mol Ther Oncolytics*. 2016; 3: 16014.
14. Ainefaie A, Albogami S, Asiri Y, et al. Chimeric antigen receptor T-cells: An overview of concepts, applications, limitations, and proposed solutions. *Front Bioeng Biotechnol*. 2022; 10: 797440.
15. Larson RC, Maus M V. Recent advances and discoveries in the mechanisms and functions of CAR T cells. *Nat Rev Cancer*. 2021; 21 (3): 145–61.
16. Levine BL. Performance-enhancing drugs: Design and production of redirected chimeric antigen receptor (CAR) T cells. *Cancer Gene Ther*. 2015; 22 (2): 79–84.
17. Zhang C, Liu J, Zhong JF, et al. Engineering CAR-T cells. *Biomark Res*. 2017; 5 (1): 1–6.
18. Cappell KM, Kochenderfer JN. Long-term outcomes following CAR T cell therapy: What we know so far. *Nat Rev Clin Oncol*. 2023; 20 (6): 359–71.
19. Patel U, Abernathy J, Savani BN, et al. CAR T cell therapy in solid tumors: A review of current clinical trials. *EJHaem*. 2022; 3 (Suppl 1): 24–31.
20. Jezeršek Novaković B, Boltežar L, Gašljević G, et al. Recommendations for diagnosis and treatment of patients with malignant lymphoma. *Onkologija : A Medical-Scientific Journal*. 2022; 26 (1): 34–75.
21. Brown PA, Shah B, Advani A, et al. Acute Lymphoblastic Leukemia, Version 2.2021, NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology. *Journal of the National Comprehensive Cancer Network*. 2021; 19(9) : 1079–1109.
22. Centralna baza zdravil. n.d. <http://www.cbz.si>.
23. Maude SL, Laetsch TW, Buechner J, et al. Tisagenlecleucel in children and young adults with B-cell lymphoblastic leukemia. *N Engl J Med*. 2018; 378 (5): 439–48.
24. Park JH, Rivière I, Gonen M, et al. Long-term follow-up of CD19 CAR therapy in acute lymphoblastic leukemia. *N Engl J Med*. 2018; 378 (5): 449–59.
25. Brentjens RJ, Rivière I, Park JH, et al. Safety and persistence of adoptively transferred autologous CD19-targeted T cells in patients with relapsed or chemotherapy refractory B-cell leukemias. *Blood*. 2011; 118 (18): 4817–28.
26. Frey N V, Shaw PA, Hexner EO, et al. Optimizing chimeric antigen receptor T-cell therapy for adults with acute lymphoblastic leukemia. *J Clin Oncol*. 2020; 38 (5): 415–22.
27. Qayed M, Bleakley M, Shah NN. Role of chimeric antigen receptor T-cell therapy: Bridge to transplantation or stand-alone therapy in pediatric acute lymphoblastic leukemia. *Curr Opin Hematol*. 2021; 28 (6): 373–79.

28. Hu L, Charwudzi A, Li Q, et al. Anti-CD19 CAR-T cell therapy bridge to HSCT decreases the relapse rate and improves the long-term survival of R/R B-ALL patients: AA systematic review and meta-analysis. *Ann Hematol.* 2021; 100 (4): 1003–12.
29. Gu J, Liu S, Cui W, et al. Identification of the predictive models for the treatment response of refractory/relapsed B-cell ALL patients receiving CAR-T therapy. *Front Immunol.* 2022; 13: 858590.
30. Shah NN, Lee DW, Yates B, et al. Long-term follow-up of CD19-CAR T-cell therapy in children and young adults with B-ALL. *J Clin Oncol.* 2021; 39 (15): 1650–59.
31. Laetsch TW, Maude SL, Rives S, et al. Three-year update of tisagenlecleucel in pediatric and young adult patients with relapsed/refractory acute lymphoblastic leukemia in the ELIANA trial. *J Clin Oncol.* 2023; 41 (9): 1664–9.
32. Jacoby E, Bielorai B, Hutt D, et al. Parameters of long-term response with <sc>CD28</sc>-based <sc>CD19</sc> chimaeric antigen receptor-modified<sc> T cells in children and young adults with <sc>B</sc>-acute lymphoblastic leukaemia<sc>. *Br J Haematol.* 2022; 197 (4): 475–81.
33. Tasian SK, Silverman LB, Whitlock JA, et al. Temsirolimus combined with cyclophosphamide and etoposide for pediatric patients with relapsed/refractory acute lymphoblastic leukemia: a Therapeutic Advances in Childhood Leukemia Consortium trial (TACL 2014-001). *Haematologica.* 2022; 107 (10): 2295–303.
34. Hay KA, Gauthier J, Hirayama A V, et al. Factors associated with durable EFS in adult B-cell ALL patients achieving MRD-negative CR after CD19 CAR T-cell therapy. *Blood.* 2019; 133 (15): 1652–63.
35. Shah BD, Bishop MR, Oluwale OO, et al. KTE-X19 anti-CD19 CAR T-cell therapy in adult relapsed/refractory acute lymphoblastic leukemia: ZUMA-3 phase 1 results. *Blood.* 2021; 138 (1): 11–22.
36. Roddie C, Dias J, O'Reilly MA, et al. Durable responses and low toxicity after fast off-rate CD19 chimeric antigen receptor-T therapy in adults with relapsed or refractory B-cell acute lymphoblastic leukemia. *J Clin Oncol.* 2021; 39 (30): 3352–63.
37. Shah BD, Ghobadi A, Oluwale OO, et al. KTE-X19 for relapsed or refractory adult B-cell acute lymphoblastic leukaemia: phase 2 results of the single-arm, open-label, multicentre ZUMA-3 study. *The Lancet.* 2021; 398 (10299): 491–502.
38. Wang S, Wang X, Ye C, et al. Humanized CD19-targeted chimeric antigen receptor T (CAR-T) cells for relapsed/refractory pediatric acute lymphoblastic leukemia. *Am J Hematol.* 2021; 96 (5): E162–5.
39. Alaggio R, Amador C, Anagnostopoulos I, et al. The 5th edition of the World Health Organization classification of haematolymphoid tumours: Lymphoid neoplasms. *Leukemia.* 2022; 36 (7): 1720–48.
40. Chong EA, Ruella M, Schuster SJ. Five-year outcomes for refractory B-cell lymphomas with CAR T-cell therapy. *N Engl J Med.* 2021; 384 (7): 673–4.
41. Jacobson C, Locke FL, Ghobadi A, et al. Long-term (≥ 4 year and ≥ 5 year) overall survival (OS) by 12- and 24-month event-free survival (EFS): An updated analysis of ZUMA-1, the pivotal study of axicabtagene ciloleucel (Axi-Cel) in patients (Pts) with refractory large B-cell lymphoma (LBCL). *Blood.* 2021; 138 (Suppl 1): 1764.
42. Cappell KM, Sherry RM, Yang JC, et al. Long-term follow-up of anti-CD19 chimeric antigen receptor T-cell therapy. *J Clin Oncol.* 2020; 38 (32): 3805–15.
43. Schuster SJ, Tam CS, Borchmann P, et al. Long-term clinical outcomes of tisagenlecleucel in patients with relapsed or refractory aggressive B-cell lymphomas (JULIET): A multicentre, open-label, single-arm, phase 2 study. *Lancet Oncol.* 2021; 22 (10): 1403–15.
44. Hirayama A V, Gauthier J, Hay KA, et al. High rate of durable complete remission in follicular lymphoma after CD19 CAR-T cell immunotherapy. *Blood.* 2019; 134 (7): 636–40.
45. Wang M, Munoz J, Goy A, et al. Three-year follow-up of KTE-X19 in patients with relapsed/refractory mantle cell lymphoma, including high-risk subgroups, in the ZUMA-2 Study. *J Clin Oncol.* 2023; 41 (3): 555–67.
46. Abramson JS, Palomba ML, Gordon LI, et al. Two-year follow-up of transcend NHL 001, a multicenter phase 1 study of lisocabtagene maraleucel (liso-cel) in relapsed or refractory (R/R) large B-cell lymphomas (LBCL). *Blood.* 2021; 138 (Suppl 1): 2840.
47. Locke FL, Miklos DB, Jacobson CA, et al. Axicabtagene ciloleucel as second-line therapy for large B-cell lymphoma. *N Engl J Med.* 2022; 386 (7): 640–654.
48. Raje N, Berdeja J, Lin Y, et al. Anti-BCMA CAR T-Cell therapy bb2121 in relapsed or refractory multiple myeloma. *N Engl J Med.* 2019; 380 (18): 1726–37.
49. D'Aloia MM, Zizzari IG, Sacchetti B, et al. CAR-T cells: The long and winding road to solid tumors. *Cell Death Dis.* 2018; 9 (3): 282.
50. Bachmann M. The UniCAR system: A modular CAR T cell approach to improve the safety of CAR T cells. *Immunol Lett.* 2019; 211: 13–22.

51. Mehrabadi AZ, Ranjbar R, Farzanehpour M, et al. Therapeutic potential of CAR T cell in malignancies: A scoping review. *Biomed Pharmacother.* 2022; 146: 112512.
52. Munn DH, Bronte V. Immune suppressive mechanisms in the tumor microenvironment. *Curr Opin Immunol.* 2016; 39: 1–6.
53. Wrzesinski C, Paulos CM, Kaiser A, et al. Increased intensity lymphodepletion enhances tumor treatment efficacy of adoptively transferred tumor-specific T cells. *J Immunother.* 2010; 33 (1): 1–7.
54. Patel U, Abernathy J, Savani BN, et al. CAR T cell therapy in solid tumors: A review of current clinical trials. *EJHaem.* 2022; 3 (Suppl 1): 24–31.
55. Gill S, Brudno JN. CAR T-cell therapy in hematologic malignancies: Clinical role, toxicity, and unanswered questions. *Am Soc Clin Oncol Educ Book.* 2021; (41): e246–5.
56. Schubert ML, Schmitt M, Wang L, et al. Side-effect management of chimeric antigen receptor (CAR) T-cell therapy. *Ann Oncol.* 2021; 32 (1): 34–48.
57. Shimabukuro-Vornhagen A, Gödel P, Subklewe M, et al. Cytokine release syndrome. *J Immunother Cancer.* 2018; 6 (1): 56.
58. Lee DW, Santomasso BD, Locke FL, et al. ASTCT consensus grading for cytokine release syndrome and neurologic toxicity associated with immune effector cells. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2019; 25 (4): 625–38.
59. Sterner RC, Sterner RM. Immune effector cell associated neurotoxicity syndrome in chimeric antigen receptor-T cell therapy. *Front Immunol.* 2022; 13: 879608.
60. Jain T, Olson TS, Locke FL. How I treat cytopenias after CAR T-cell therapy. *Blood.* 2023; 141 (20): 2460–9.
61. Sharma N, Reagan PM, Liesveld JL. Cytopenia after CAR-T cell therapy—A brief review of a complex problem. *Cancers (Basel).* 2022; 14 (6): 1501.
62. Si X, Gu T, Liu L, et al. Hematologic cytopenia post CAR T cell therapy: Etiology, potential mechanisms and perspective. *Cancer Lett.* 2022; 550: 215920.
63. Berger TR, Maus M V. Mechanisms of response and resistance to CAR T cell therapies. *Curr Opin Immunol.* 2021; 69: 56–64.

Prispelo 13. 7. 2023