

# Geenmuundatud rakke sisaldavad rätseparavimid kui uudne alternatiiv kasvajaravis

Pille Säälük<sup>1</sup>, Triin Suvi<sup>1</sup>

Eesti Arst 2023;  
102(5):288–295

Saabunud toimetusse:  
25.01.2023  
Avaldamiseks vastu võetud:  
13.03.2023  
Avaldatud internetis:  
23.05.2023

<sup>1</sup> Ravimiameti bioloogiliste preparaaside osakond

Kirjavahetajaautor:  
Pille Säälük  
pille.saalik@ravimiamet.ee

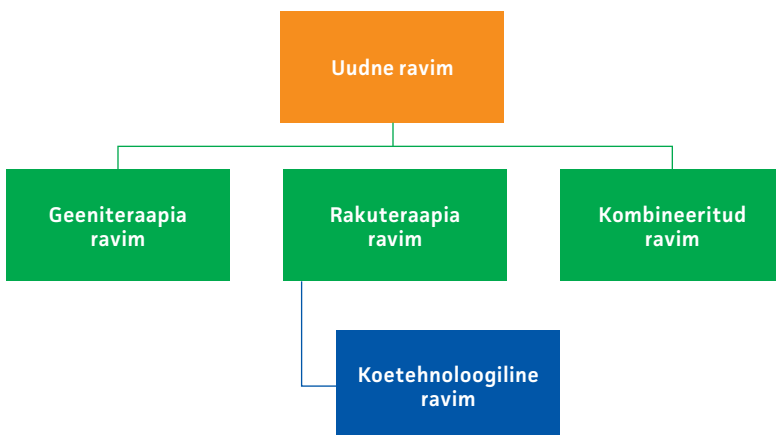
Võtmesõnad:  
uudne ravim, ATMP,  
CAR-T, kimäärse  
antigeenireseptoriga  
T-rakk

Kimäärset antigeenireseptorit kandvad T-rakud ehk CAR-T-rakud on uue toimetehanismiga ravimid, mis on näidustatud mõnede vereloomeelundkonna pahaloomuliste kasvaja raviks. Nende erinevuseks võrreldes normaalsete T-rakkudega on võime tunda ära kasvaja antigeene koosobivuskompleksi valkudest sõltumatult. See omadus suurendab nende võimet kasvajakke hävitada. CAR-T-rakud liigituvad uudseks ravimiks, mis on bioloogiliste ravimite väikesearvuline kõrgtehnoloogiline alamrühm. Esimesed CAR-T-rakkudel põhinevad ravimid said Euroopa Liidus müügiloa 2018. aastal ja 2023. aasta aprilli seisuga on neid turul juba kuus. CAR-T-rakkude arendus on väga aktiivne – eesmärk on vähendada kaasnevaid riske, suurendada tõhusust ning ravida ka teist tüüpi kasvajaid, näiteks soliidtumoreid. Artiklis on kirjeldatud CAR-T-rakkude algmaterjaliks olevaid T-rakke, CAR-T-rakkude paigutumist ravimite seas, ravimi valmistamise ja toimimise eripärasid ning samuti seda tüüpi ravimite võimalikke arengusuundi.

Alates kasvajate olemuse täpsemast mõistmisest on püütud leida viise, kuidas organismi kontrollimatult paljunevad rakud hävitada, nii et organismi ootuspäraselt toimiv osa selle juures võimalikult vähe kahjustada saaks ning ka edukalt edasi töötaks. Teisiti öelduna uuritakse, kuidas saavutada olukord, et kasvajaravim mõjuks üksnes kasvajakoele. Üheks täiesti uut tüüpi võimaluseks on vähemalt mõne kasvajavormi puhul kunstlikult loodud kimäärset antigeenireseptorit kandvad T-rakud (ingl *chimeric antigen receptor - T cells*) ehk CAR-T-rakud.

CAR-T-rakud liigituvad Euroopa Liidus (EL) bioloogiliseks ravimiks. Bioloogiliste ravimite maailm on mitmekesine, sisaldades näiteks verest saadud ravimeid ja biotehnoloogilisel teel toodetud ravimeid (peamiselt rekombinantsel teel toodetud valgud ja antikehad). Samuti on bioloogilised ravimid kõik vaktsiinid ja toksiidid. Bioloogilistele ravimitele antakse müügiloa tsentraalselt. Tsentraalne müügiloa tähendab seda, et ravimi müügiloa eehindamine toimub Euroopa Ravimiametis ja sellesse on kaasatud kõik liikmesriigid. Pärast müügiloa saamist võib bioloogilist ravimit turustada kõigis liikmesriikides.

CAR-T-ravimid kuuluvad bioloogiliste ravimite alamklassi, mida nimetatakse uuseteks ravimiteks (ingl *advanced therapy medicinal product* ehk ATMP). Uudsed ravimid on liigitatud neljaks tüübiks: geeniteraapia ravimid, somaatilise rakuteraapia ravimid ning koetehnoloogilised ja kombineeritud ravimid (vt joonis 1). Viimased peavad lisaks ühele kolmest eelnimetatust sisaldama ka meditsiiniseadet. Uudsete ravimite kohta leiab üldisemat emakeelset teavet Ravimiameti kodulehelt (1) ja Eesti Arsti 2014. aastal avaldatud artiklist (2). Tasub mainida, et artikli kirjutamise ajaks on müügiloa antud natuke rohkem kui



Joonis 1. Uudsete ravimite tüübid.

paarikümnele uudsele ravimile (mõne müügiluba on praeguseks peatatud). Seega on tegu siiski (veel) väga väikesearvulise ja teadusmahukusest tingitult ka kõrge hinnaga ravimite rühmaga.

### GEENITERAAPIA RAVIMID

Geeniteraapia ravimeid, millel on ELis müügiluba, saab vaadelda kahe rühmana: 1) geenmuundatud viirusvektorit sisaldavad ravimid ja 2) inimese geenmuundatud rakke sisaldavad ravimid. Viimaseid nimetatakse ka rakulise geeniteraapia ravimiteks (ingl *somatic cell-based gene therapy*).

Praegu (2023. aasta aprilli seisuga) on kuuest geenmuundatud viirusvektorit sisaldavast geeniteraapia ravimist viis (Zolgensma, Luxturna, Upstaza, Roctavian ja Hemgenix) sellised, mis põhinevad adenoassotsieerunud viirusel ja on mõeldud harva esinevate monogeneetiliste haiguste raviks. See tähendab, et ravitulemus saavutatakse, kui viirusega organismi viidud geenil oleva info põhjal toodetud toimiv valk kompenseerib organismi enda vigase geeni puuduliku mõju. Ravim Imlygic sisaldab samuti viirusvektorit, kuid toimib onkolüütiliselt ehk kasvajakarakke hävitavalt ning on näidustatud teatud arengujärgus melanoomide raviks. See ravim põhineb herpesviirusel.

Teise rühma geeniteraapia ravimite moodustavad rakupõhised geenmuundatud ravimid. Neist Strimvelis, Zynteglo, Libmeldy ja Skysona toimivad analoogselt enamiku viirusepõhiste geenmuundatud ravimitega: neisse on viidud harva esinevat geneetilist haigust korrigeeriva valgu geen, kuid viiruse asemel on geeni kandjaks inimese enda perifeerse vere tüvirakud.

Rakupõhiste geeniteraapia ravimite hulka liigituvaid CART-ravimeid (Yescarta, Kymriah, Tecartus, Abecma, Breyanzi ja Carvykti) võib aga pidada uudsete ravimite kõige rohkem kasutatust leidnud esindajateks. Need ravimid sisaldavad patsiendi enda (nn autoloogseid) T-rakke, mis kehavälise manipuleerimise tulemusena muudetakse kasvajakarakke tõhusamalt ära tundma ja hävitama. Praegu turul olevate CART-rakkude näidustuseks on vereloomeelundkonna kasvaja – valdavalt harva esinevad teatud tüüpi B-rakulised kasvaja ning hulgidüploom (vt tabel 1).

Kliinilistes uuringutes on CART-rakkude puhul esmase tulemusnäitajana kasutatud

enamasti objektiivse ravivastuse määra ning sõltuvalt haigusest on see jäänud vahemikku 50 kuni 80% (3). Selle arvu taustaks võib tuua, et seda tüüpi lümfoomide korral reageerib standardravile tavaliselt vähem kui 50% patsientidest. Juhul kui lisaks on tegu ravi suhtes resistentse haiguse vormiga, on standardravil efekt 7%-l patsientidest, kuid ka sel juhul on nende elulemus vaid kuus kuud (4). Kuigi päriselundmete võrdlust kliiniliste uuringute andmetega raskendab CAR-T-ravile eelnev raviskeemide erinevus ning uuringutest märkimisväärselt heterogeensem patsientide valim, viitavad olemasolevad andmed siiski kliiniliste uuringutega sarnasele tõhususele (5). Teisisõnu öelduna pikeneb CAR-T-ravimeid saanud patsientide eluiga võrreldes standardravi saanutega haigusest sõltuvalt aastast kuni mitme aastani, ulatudes mõnel juhul rohkem kui 10 aastani (6). Need tulemused on põhjustanud CAR-T-ravimite arendamise plahvatusliku kasvu üle maailma (7).

### T-RAKUD

T-lümfotsüüdid ehk T-rakud, millest CAR-T-ravimeid tehakse, on erinevate ülesannetega immuunrakkude perekond. T-rakkude eellased küpsevad inimese looteas tuumuses nn naiivseteks T-rakkudeks ja selles etapis on nad juba eristunud ka CD4<sup>+</sup> ja CD8<sup>+</sup> rakkudeks. See tähendus pärineb rakkude pinnal olevatest molekulidest, mida saab rakkude identiteedi määramisel markerina kasutada. Looteas on T-rakke organismi enda valkudega juba n-ö tutvustatud, nii et nende vastu T-rakud immuunvastust ei tekita. Et naiivsetest T-rakkudest saaks immuunvastuses osalevad aktiveerunud T-rakud, peavad nad kohtuma antigeeniga.

Kui laiemas tähenduses mõistetakse antigeenina ka tervet bakterit või viirust või ka kasvajakarakku, siis T-rakk tunneb ära vaid lühemaid valgufragmente ehk peptiide, mis on antigeene esitlevate rakkude (ingl *antigen presenting cells* – APC, peamiselt dendriitrakud ja makrofaagid) pinnal koosobivuskompleksi valkude (MHC – ingl *major histocompatibility complex*) külge kinnitunud (vt joonis 2). See tähendab, et vabalt esinevaid valgufragmente ei ole T-rakud võimelised ära tundma.

Kuna naiivseid T-rakke pole organismis väga palju (suurusjärgus 10<sup>5</sup>–10<sup>6</sup>), ei ole otstarbekas, et nad organismis ringi liiguks.

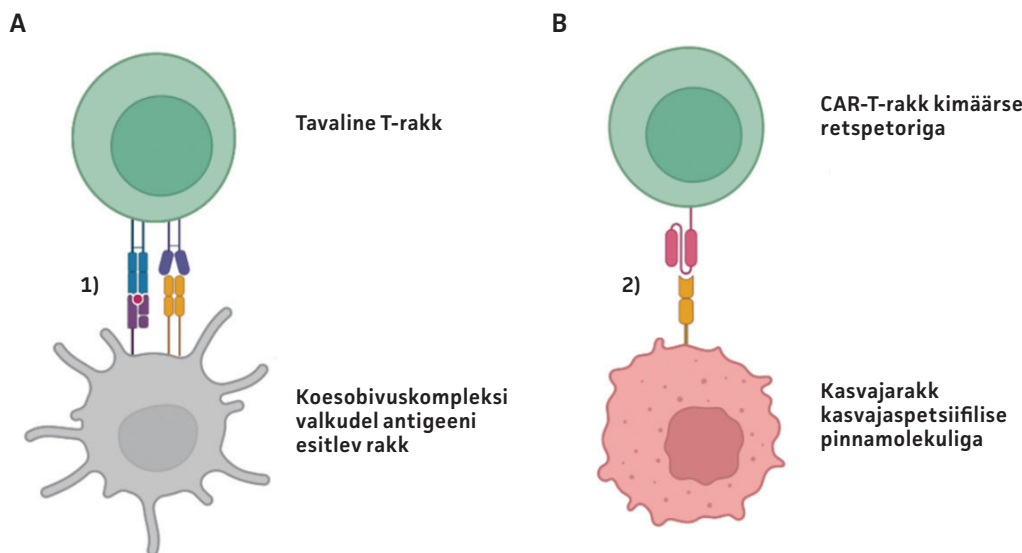
**Tabel 1.** CAR-T-ravimid, millel on Euroopa Liidus müügiluba (andmed 2023. aasta aprilli seisuga)

Ravim	Näidustus	Transfekt-sioonil kasu-tatud viirus	Kimäärse retseptori sihtmärk-molekul	Kimäärse retseptori tsütoplasmapoolses osas asuvad funktsionaalsed piirkonnad
Kymriah (tisageenlek-leutseel)	<ul style="list-style-type: none"> <li>refraktaarse, siirdamise järel retsidiveerunud või teise või hilisema retsidiiviga B-rakulise ägeda lümfoblastse leukeemia raviks lastel ja noortel täiskasvanud patsientidel vanuses kuni 25 aastat (kaasa arvatud)</li> <li>retsidiveerunud või refraktaarse difuusse B-suurrakklümfoomi (DLBCL) raviks täiskasvanud patsientidel pärast kahte või enamat süsteemset ravi</li> <li>retsidiveerunud või refraktaarse follikulaarlümfoomi raviks täiskasvanud patsientidel pärast kahte või enamat süsteemset ravi</li> </ul>	lentiviirus-vektor	CD19	4-1BB (signaaliedastus), CD3ζ (signaaliedastus)
Yescarta (aksikabtageen-tsiloleutseel)	<ul style="list-style-type: none"> <li>DLBCLi ja kõrgmaliigse B-rakklümfoomi raviks täiskasvanud patsientidel pärast retsidiivi 12 kuu jooksul või juhul, kui haigus on esimese valiku kemoimmunoteraapiale refraktaarne</li> <li>retsidiveerunud või refraktaarse (r/r) DLBCLi ja primaarse mediastinaalse B-suurrakklümfoomi raviks täiskasvanud patsientidel pärast kahe või enama süsteemse raviliini rakendamist</li> <li>Yescarta on näidustatud r/r follikulaarse lümfoomi (FL) raviks täiskasvanud patsientidel pärast kolme või enama süsteemse raviliini rakendamist</li> </ul>	gammaretro-viirusvektor	CD19	CD28 (kostimulatsioon), CD3ζ (signaaliedastus)
Tecartus	<ul style="list-style-type: none"> <li>retsidiveerunud või refraktaarse mantelrakulise lümfoomi (MRL) raviks täiskasvanud patsientidel pärast kahte või rohkemat süsteemset ravi, sealhulgas Brutoni türosiinkinaasi (BTK) inhibiitoriga</li> </ul>	gammaretro-viirusvektor	CD19	CD28 (kostimulatsioon), CD3ζ (signaaliedastus)
Abecma (idekabtagreen-vikleutseel)	<ul style="list-style-type: none"> <li>retsidiveerunud ja refraktaarse hulgemüeloomiga täiskasvanud patsientidele, kes on saanud vähemalt kolme eelnevat ravi, sealhulgas immunomodulaatorit, proteasoomi inhibiitorit ja CD38-vastast antikeha, ning kelle haigus on pärast viimast ravi progresseerunud</li> </ul>	lentiviirus-vektor	BCMA02	CD8α 4-1BB (signaaliedastus), CD3ζ (signaaliedastus)
Breyanzi (lisokabtageen-maraleutseel)	<ul style="list-style-type: none"> <li>retsidiveerunud või refraktaarse DLBCLi, primaarse keskseinandi B-suurrakklümfoomiga ja 3B-staadiumi follikulaarse lümfoomiga täiskasvanud patsientide raviks pärast kahte või rohkemat eelnevat süsteemset ravikuuri</li> </ul>	lentiviirus-vektor	CD19	4-1BB (signaaliedastus), CD3ζ (signaaliedastus)
Carvykti (tsiltakabtageen-autoleutseel)	<ul style="list-style-type: none"> <li>retsidiveerunud ja refraktaarse hulgemüeloomiga täiskasvanud patsientidele, kes on saanud vähemalt kolme eelnevat ravi, mis on sisaldanud immunomodulaatorit, proteasoomi inhibiitorit ja CD38-vastast antikeha ja kelle haigus on viimase ravi ajal progresseerunud</li> </ul>	lentiviirus-vektor	BCMA	4-1BB (signaaliedastus), CD3ζ (signaaliedastus)

Seetõttu asuvad nad paiksetl perifeersetes lümfisõlmedes, põrnas ning limaskestadega seotud lümfoidkoes (ingl *mucosa-associated lymphoid tissue*, MALT) ning info haigustekitajast jõuab nendeni kehas „patrullivate“ APCde kaudu. Kui naiivne T-rakk antigeeni esitleva rakuga kohtub, tunneb T-rakk MHC molekuli külge kinnitunud antigeeni ära oma pinnal oleva T-raku retseptori abil. See sündmus koos T-rakul asuva CD28 koretsep-

tori abiga viibki T-raku aktiveerumiseni ja väga kiire paljunemiseni (ingl *expansion*). Aktiveerunud CD4<sup>+</sup> rakud ehk T-abistajarakud suunavad B-rakud tootma antigeeni vastu spetsiifilisi antikehi ning aktiveerunud CD8<sup>+</sup> rakkude ehk tsütotoksiliste T-rakkude põhiülesanne on viirustega nakatunud ja kasvajakude otsene hävitamine (8).

On teada, et T-rakud kogunevad kasvaja ümbrusesse ja sisemusse. Kuigi on



**Joonis 2. Tavalise T-raku ja CAR-T-raku võrdlus. A.** Tavaline T-rakk kontaktis antigeeni esitleva rakuga (APC). 1) T-raku aktiveerumiseks on vaja kontakti esiteks T-rakul oleva T-raku retseptori ja APC-l oleva antigeeni esitleva MHC molekuli vahel (vastavalt sinine, punane ja violetne) ning teiseks kontakti CD28 ja CD80/86 vahel (vastavalt violetne ja kollane). **B.** CAR-T-rakk kontaktis kasvajakarakuga. 2) CAR retseptor (punane) suudab seonduda kasvajakarakul oleva sihtmärkmolekuliga (kollane) MHC valkudest sõltumatult. Joonis on tehtud veebiprogrammis BioRender.

näidatud, et suurem arv CD8<sup>+</sup> tsütotoksilisi T-lümfotsüüte (CTL) mõne kasvajakoe ümber ja sees on seotud haiguse parema prognoosiga, on kasvajas olevad T-rakud sageli nn kurnatud (ingl *exhausted*) seisundis ja ei suuda kasvajakarakke piisaval hulgal hävitada (8). Seetõttu on proovitud lähenemist, kus T-rakud eraldatakse operatsioonil saadud kasvajakoeost, paljundatakse ja aktiveeritakse koekultuuris ning seejärel viiakse kasvaja hävitamise kiirendamise eesmärgil organismi tagasi (9). Selline toimimisviis pole paraku väga tõhusaks osutunud ja vaatamata suurele arvule katsetustele pole ükski seda tüüpi ravim Euroopas siiani müügiluba saanud.

Lisaks on kasvajakarakudel erinevaid mooduseid, kuidas T-rakkude rünnakut vältida. Üheks immuunvastuse vältimise viisiks on koosobivuskompleksi valkude allaregulatsioon kasvajakarakkude pinnalt. Selle tulemuseks on, et kuigi T-rakk võib küll kasvajakaraku kõrval asuda, ei toimu MHC molekulide ja nendel esitletud antigeenide puudumise tõttu T-raku aktiveerumist ega kasvaja arengu takistamist (8).

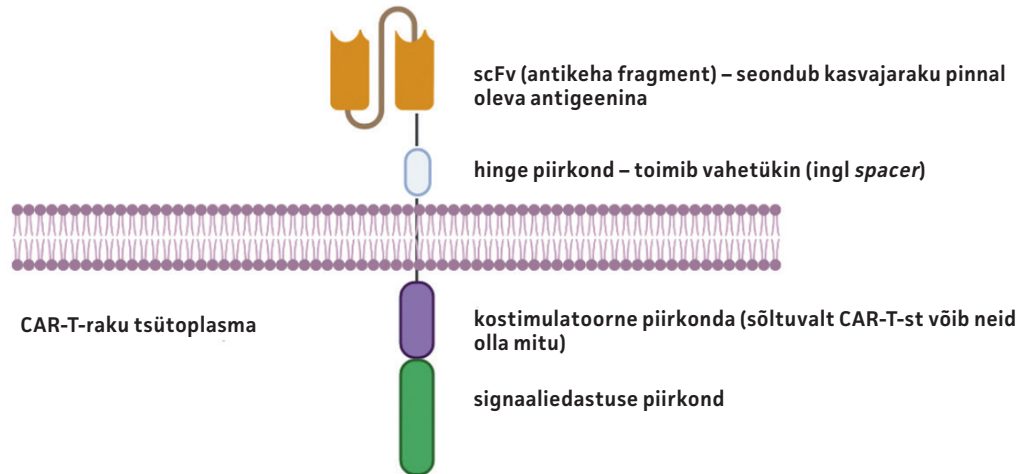
### KIMÄÄRSE RETSEPTORIGA T-RAKK

Nagu mainitud, peavad naiivsed T-rakud aktiveerumiseks kohtuma võõra valguga,

mida esitlevad MHC molekulid. **CAR-T-raku eelis naiivse T-rakuga võrreldes on kasvajaspetsiifilise molekuli äratundmine ja sellega seondumine, ilma et koosobivuskompleks kasvajavalgust pärinevat peptiidi esitleks** (vt joonis 2). Selle omaduse tõttu suudab CAR-T-rakk rünnata ka neid kasvajakarakke, mis on MHC molekulid enda pinnalt ära kaotanud.

Ajalooliselt tähendab kimäär lõvist, kitsast ja maost kokku pandud mütoloolist olendit, kuid CAR-T-rakkude kontekstis tähendab kimäärsus laboritingimustes loodud kunstlikku geeni, mis on kokku pandud eri valkude kindla ülesandega piirkondi ehk domeene kodeerivatest DNA järjestustest. Kui kunstlikult loodud geen T-rakkude genoomi koosseisu viiakse, hakkab rakk geenil oleva info põhjal kimäärset valku valmistama. Oma toime avaldamiseks peab kimäärne retseptor jõudma T-raku membraani, nii et retseptori üks ots ulatub rakust välja ja teine jääb raku sisemusse, tsütoplasma poole (vt joonis 3).

Kasvaja antigeeni äratundmise eest vastutab CAR-T-raku pinnal paikneva retseptori osa, mis pärineb enamasti kasvaja antigeeniga seonduvast antikehast. Antikehast kasutatakse aga vaid fragmenti, mis leitakse molekulaartehnoloogiliselt, enamasti hübri-



**Joonis 3.** Kimäärse antigeeniretseptori skeem. Joonis on tehtud veebiprogrammis BioRender.

doomi meetodi\* abil. Kui kimäärne retseptor on kasvajakarakul oleva sihtmärgiga seondunud, aktiveeruvad retseptori piirkonnad, mis asuvad tsütoplasmapoolses osas. Need algatavad CAR-T-rakkude paljunemiseks, organismis püsimiseks ning tsütokiinide sekretsiooniks vajalikud sündmused, mis kokkuvõttes viivad kasvajakarade hävitamiseni, mida teevad CAR-T-rakkude poolt sekreteeritavad lüütilised valgud perforiin ja gransüüm. Samuti on CAR-T-rakud võimelised muunduma T-mälurakkudeks, säilitades seeläbi mõnda aega võime kasvajakarade taastekke korral need hävitada (8). Ülevaate praegu Euroopa Liidus ja USAs turul olevate CAR-T-ravimite ning nende kasvajakaraga seonduva kimäärse retseptori eri domeenidest saab tabelist 1.

### KUIDAS CAR-T-RAVIM VALMIB?

Kõik CAR-T-ravimid, millel on 2023. aasta aprilli seisuga müügiluba, on autoloogsed – neid tehakse patsiendi enda rakkudest. Lihtsustatult on CAR-T-ravimi valmistamiseks vaja kahte algkomponenti: T-rakke ning kimäärset retseptorit kodeerivat nukleiihapet, mis tuleb patsiendi T-rakkudesse toimetada. Praegu müügiluba omavate CAR-T-ravimite puhul kasutatakse kimäärse geeni T-rakkude genoomi viimiseks viirusi. Seega, esmalt kogutakse patsiendi verest afereesi

teel T-rakud, millele järgneb üldjuhul rakkude külmutamine ja transport ravimi tootmiskohta. Seal rakud sulatatakse, pannakse koekultuuri kasvama ja nakatakse viirusega, mis kannab kunstlikult loodud kimäärse antigeeniretseptori geeni. Viirusteks on paljunemisvõimetud rekombinantset lenti- või retroviirused. Seejärel rakud aktiveeritakse, kasutades CD3- ja/või CD28-vastaseid antikehi. Selle tulemusena hakkavad rakud kiiresti paljunema (3) (vt joonis 4).

Retroviirused ja nende perekonda kuuluvad lentiviirused on RNA-viirused. Lisaks raku sisenemise võimele, mis on iseloomulik kõigile viirustele, on neile omane sisestada oma pärilik info peremeesraku genoomi (DNA) koosseisu. Laiemast bioloogilisest vaatepunktist annab oma genoomi peremeesraku genoomi koosseisu lisamine viirusele evolutsioonilise eelise: sel viisil jõuab viiruse pärilikkusaine rakkude järgmisesse põlvkonda.\*\* Samuti ei suuda peremeesrakk enda genoomi lisatud võõrast DNA-lõiku ära tunda ja viirus on seeläbi ka immuunsüsteemi rünnaku eest kaitstud.

Enne peremeesraku genoomi sisenemist peavad viirused tegema raku enda pärilikkusainest RNast pöördtranskriptaasi nimelise ensüümi abil DNA, sest RNAd DNA koosseisu lisada ei saa. CAR-T-rakkude kontekstis

\* Katselooma süstitakse antigeeniga, mille tulemusena tekivad põrnas selle antigeeni vastu suunatud antikehade erinevaid kloonid tootvad B-lümfotsüüdid. Nende põrnast eraldamisel ja kokkusulandamisel (hübriidiseerimisel) müeloomi rakuliiniga tekivad hübriidsed rakud, millel on mõlema raku omadused: toodavad konkreetset antikeha kloonid ja paljunevad lõputult. Nende rakkude abil saab konkreetset antikeha suures koguses toota.

\*\* Kõrvalepõikena tasub märkida, et genoomi integreerimine pole viiruste maailmas siiski ainus moodus järgmise raku põlvkonda jõudmiseks – papilloomiviirused kasutavad lähenemisviisi, kus viiruse genoomi koopiad kinnitatakse peremeesraku kromosoomidele. Kui kromosoomid mitoosis lahknud, jõuab viiruse genoom kromosoomile kinnitununa tütarrakkudesse.

tähendab kimäärse geeni viimine rakkude genoomi seda, et geen ja sellelt toodetav kimäärne retseptor jõuab CAR-T-rakkude paljunemise tulemusena ka tütarakkudesse ja ravimi mõju on seetõttu pikaajalisem. Üldjuhul suudavad CAR-T-rakud organismis püsida ligikaudu aasta, kuid on juhtumeid, kus tsütotoksilise toime säilitanud rakud on organismis funktsionaalsed rohkem kui 10 aastat pärast CAR-T-rakkude manustamist (6).

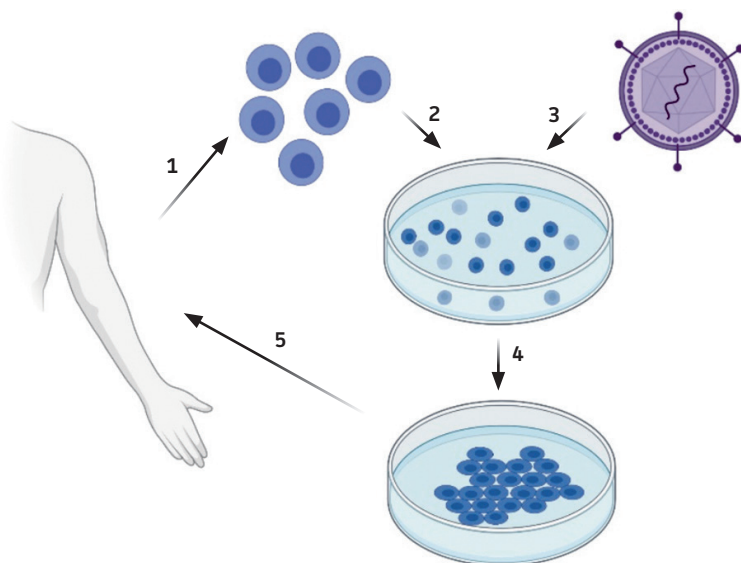
Pärast seda, kui kimäärset geeni kandev viirus on patsiendi T-rakkude kasvukeskkonda lisatud, tehakse teatud arvu päevade möödudes kindlaks, kas kimäärse retseptori geen on tõesti rakkude genoomi jõudnud ja toodab seal rakumembraanile retseptori valku. Kui kõik vajalikud kontrollid on tehtud ja ravim vastab kehtestatud nõuetele, transporditakse rakud tagasi patsiendini ja veeni kaudu tema organismi. Kogu protsess – rakkude eraldamine verest, transport, CAR-T-rakkude tootmine kuni ravimi manustamiseni – võtab sõltuvalt CAR-T-ravimist aega 2–4 nädalat.

### CAR-T-RAVIMITE PEAMISED KÕRVALTOIMED

CAR-T-rakkude kõrvaltoimed saab laias laastus jagada kaheks: esiteks sekreteerivad CAR-T-rakud aktiivselt erinevaid tsütokiine, mille tulemusena tekib patsientidel reeglina tsütokiinide vabanemise sündroom (ingl *cytokine release syndrome*, CRS). Teiseks probleemseks kõrvaltoimeks on toksilisus, mis tekib CAR-T-rakkude seondumisel oma sihtmärkmolekuliga, kui seda leidub lisaks kasvajarakkudele ka normaalsete keharrakkude pinnal (ingl *on-target, off-tumor effect*) (10).

Tsütokiinide vabanemise sündroomi tõttu tekivad patsiendil kõrge palavik, madal vererõhk, nõrkus ja südame töö häired, mis kokkuvõttes võivad viia süsteemse elundi-puudulikkuseni. Samuti viib tsütokiinide liig enamikul CAR-T kasutamise juhtudel neurotoksilisuseni, mis võib avalduda segasusseisundi, mäluhäirete, deliiriumi, kõnehäirete (afaasia) ja entsefalopaatiana, harvadel juhtudel võib tekkida ajuturse. Nii CRS kui ka neurotoksilisus on põhjustanud kliinilistes uuringutes ka surmaga lõppenud juhtumeid (10).

Neurotoksilisuse tekke täpsem mehhanism pole selge, kuid arvatakse, et selles mängib rolli aju veresoonte endoteelirakkude aktivatsioon ja sellest tulenev vere-



**Joonis 4. CAR-T-rakkude tootmise skeem.** 1. Patsiendi verest eraldatakse afereesi teel T-rakud ning need transporditakse külmutatuna ravimi tootmiskohta. 2. Ravimi tootmiskohas pannakse T-rakud kunstlikes tingimustes kasvama. 3. Lenti- või retroviirusvektori abil viiakse T-rakkudesse kimäärset antigeeniretseptorit kodeeriv kunstlik geen. 4. Viirusega transfekteeritud T-rakke kontrollitakse, et kimäärne antigeeniretseptor oleks rakkude membraani jõudnud ja toimiks, ning seejärel paljundatakse. 5. CAR-T-rakud külmutatakse, transporditakse tagasi patsiendini ning manustatakse veeni kaudu. Joonis on tehtud veebiprogrammis BioRender.

soonte lekkimine – vere ja ajukoe vahelise tõkke hematoentsefaalbarjääri nõrgenemine. Samas on nii CRSi kui ka neurotoksilisust võimalik ravimitega kontrolli all hoida: neurotoksilisuse vähendamiseks kasutatakse kortikosteroide ning tsütokiinide vabanemise sündroomi raviks kas interleukiin-6 või selle retseptorit blokeerivaid antikehi (siltuksimab, totsilizumab) (3). Seetõttu tuleb kõigis CAR-T-rakkudega ravimise keskustes tagada kindla koguse totsilizumabi kättesaadavus. Lisaks toimub intensiivne arendustöö kimäärse retseptori disainimisel, et retseptori eri piirkondade molekulaarse „tunimise“ läbi jõuda nõrgema CRSi ja *on-target, off-tumor*-toksilisuseni ning seeläbi paremini talutavate kõrvaltoimeteeni. Samuti testitakse erinevaid ravimeid, et CAR-T kõrvaltoimeid paremini kontrollida (10).

### ON-TARGET-, OFF-TUMOR-TOKSILISUS

Inglise keeles tähendab „*on-target toxicity*“ olukorda, kus ravimi toime sihtmärgile toob

lisaks soovitud teraapilisele mõjule kaasa ka kõrvalmõjusid. „*Off-tumor toxicity*“ tähendab omakorda, et ravimi toksilisus tekib organismis seetõttu, et ravim mõjub ka teistele rakkudele kui üksnes kasvajakarakud. Ideaalis peab CAR-T-rakk ära tundma ja hävitama üksnes kasvajakaraku, jättes normaalsed keharakud puutumata. See eeldaks olukorda, kus kasvajale spetsiifiline valg on üksnes kasvajakarade pinnal ning normaalsetel rakkudel seda ei leidu. Enamasti leidub aga kasvajale iseloomulikke antigeeni ka organismi teiste rakkude pinnal, tekitades *off-tumor*-toime.

See on pidurdanud paljude potentsiaalsete CAR-T-ravimite arendust. Praegu turul olevad Yescarta, Kymriah, Tecartus ja Breyanzi on disainitud ära tundma CD19-nimelist molekuli, mida ekspresseerivad kõik B-rakud, nii normaalsed kui ka kasvajalised. Seetõttu väheneb CAR-T-rakke saanutel kõigi seda tüüpi rakkude hulk veres (nn B-rakkude aplaasia). B-rakkude vähesuse tõttu tekkiv immuunglobuliinide puudus on siiski immuunglobuliinide regulaarsete ülekannetega hästi ravitav.

Hiljuti on kirjeldatud BCMA (B-rakkude küpsemise antigeen, ingl *B cell maturation antigene*) vastu suunatud CAR-T-ravimi Carvykti võimaliku *on-target*-toimena patsiendil avaldunud Parkinsoni haigust (11). Seisundit kirjeldati küll vaid ühel patsiendil, kuid põhjuslikku seost manustatud rakuravimiga ei saa välistada, kuna samas artiklis näidati BCMA antigeeni ekspressiooni basaalganglioni rakkudes ning samuti leiti CAR-T-rakke seljaajuvedelikus. Esimene tulemus laiendab seniseid teadmisi BCMA valgu ekspressioonist organismis ja teine tulemus näitab, et CAR-T-rakud suudavad vähemalt mõnedel patsientidel läbida hematoentsefaalbarjääri. Üldistusena aga peab uue sihtmärgi vastu suunatud CAR-T-rakkude puhul nagu iga uue ravimiga arvestama seni tundmata kõrvaltoimetega.

## CAR-T-TEHNOLOOGIA ARENGUSUUNAD

CAR-T-rakkude kõrvaltoimete vähendamiseks on rakendatud erinevaid molekulaarseid lähenemisviise. Näiteks püütakse luua mitut erinevat kasvajamolekuli korruga ära tundvaid CAR-T-rakke või siis panna kasvajakaruga seondumine sõltuma kindla molekuli puudumisest või konkreetse sihtmärkmolekuli hulgast rakupinnal (nn

afiinsushäällestus). Samuti on kliinilistesse uuringutesse jõudnud CAR-T-rakud, kuhu viiakse kimäärse retseptori geen hoopis mRNA kujul, nii et selle ekspressioon jääb viirusvektoriga transfekteeritud CAR-T-rakkudega võrreldes lühemaajaliseks (10).

Arenduses on ka mitmeid soliidtuumorite ehk tahkete kasvajate vastu suunatud CAR-T-ravimeid, kuid võrreldes vereloomeelundkonna rakkudest pärit ja molekulaarselt suhteliselt homogeensete kasvajatega teevad tahkete kasvajate puhul CAR-T-de rakendamise keerukaks mitmete muude tegurite hulgas näiteks CAR-T-rakkude pääs kasvajakoe sisemusse ja sealne immuunsupressiivne keskkond.

Sellele vaatamata lisandub lähiaastatel olemasolevatele CAR-T-ravimitele tõenäoliselt veel tõhusamaid ja vähemate kõrvaltoimetega rakuravimeid. Tuleb vaid loota, et need saavad peatselt ka Eesti patsientidele kättesaadavaks. Käesoleva artikli kirjutamise ajal on müügiloaga CAR-T-ravimite kasutamise hind suurusjärgus pool miljonit eurot, mis sisaldab ka järelravi maksumust (12).

## TÄNUSÕNAD

Artikli autorid tänavad Siim Suutret, Julia Maslovskajat, Keiu Heinlat ja Ott Laiust artikli redigeerimise eest.

## VÕIMALIKU HUVIKONFLIKTI DEKLARATSIOON

Autorid kinnitavad, et neil pole seoses artiklis kajastatud teemadega huvide konflikti.

## SUMMARY

### Cell-based precision medicines as a novel alternative in cancer treatment

Pille Säälük<sup>1</sup>, Triin Suvi<sup>1</sup>

Chimeric antigen receptor-expressing T cells or so-called CAR-T cells or CAR-Ts represent a group of pharmaceuticals with a novel mechanism of action and is indicated for the treatment of some haematological malignancies. Unlike normal T cells, the CAR-T cells can recognize tumour antigens independently of major histocompatibility proteins, making them more effective compared to normal T cells. CAR-T cells belong to the group of pharmaceuticals called advanced therapy medicinal products (ATMP), a group of drugs that are regula-

<sup>1</sup> Department of Biologicals, State Agency of Medicines, Tartu, Estonia

Correspondence to:  
Pille Säälük  
pille.saalik@ravimiamet.ee

Keywords:  
advanced therapy medicinal product (ATMP), CAR-T, chimeric antigen receptor T cell-therapy

tively placed under biological medicinal products. First CAR-T cells reached the EU market in 2018, and since April 2023, six CAR-T cell-based pharmaceuticals have held marketing authorisation in the EU. In parallel to the fact that CAR-Ts are the most widely employed ATMPs to date, development in this field is very intense aiming to design CAR-Ts that demonstrate a higher benefit-risk ratio, as well as have the ability to treat solid tumours. This review addresses the following topics: regulatory background of CAR-Ts, T-cells as the starting material of CAR-Ts, specificities of their manufacturing and the mechanism of action; in addition, some examples of the future scenarios of these drugs are given.

KIRJANDUS / REFERENCES

1. Ravimiamet. Mis on uudne ravim? <https://ravimiamet.ee/veri-rakud-koed-elundid-uudne-ravim/uudsed-ravimid/mis-uudne-ravim>.
2. Maimets T, Tiido T. Uudsed ravimid. *Eesti Arst* 2014;93:650–3.
3. Larson RC, Maus MV. Recent advances and discoveries in the mechanisms and functions of CAR T cells. *Nat Rev Cancer* 2021;21:145–61.
4. Abramson JS, Palomba ML, Gordon LI, et al. Lisocabtagene maraleucel for patients with relapsed or refractory large B-cell lymphomas (TRANSCEND NHL 001): a multicentre seamless design study. *The Lancet* 2020;396:839–52.
5. Westin JR, Kersten MJ, Salles G, et al. Efficacy and safety of CD19-directed CAR-T cell therapies in patients with relapsed/refractory aggressive B-cell lymphomas: Observations from the JULIET, ZUMA-1, and TRANSCEND trials. *Am J Hematol* 2021;96:1295–312.
6. Melenhorst JJ, Chen GM, Wang M, et al. Decade-long leukemia remissions with persistence of CD4+ CAR T cells. *Nature* 2022;602:503–9.
7. Hartmann J, Schüßler-Lenz M, Bondanza A, Buchholz CJ. Clinical development of CAR T cells—challenges and opportunities in translating innovative treatment concepts. *EMBO Mol Med* 2017;9:1183–97.
8. Abbas AK, Lichtman AH, Pillai S. *Cellular and Molecular Immunology*. 10th ed. Philadelphia: Elsevier; 2022.
9. Klebanoff CA, Gattinoni L, Restifo NP. Sorting through subsets: Which T-cell populations mediate highly effective adoptive immunotherapy? *J Immunother* 2012;35:651–60.
10. Rafiq S, Hackett CS, Brentjens RJ. Engineering strategies to overcome the current roadblocks in CAR T cell therapy. *Nat Rev Clin Oncol* 2020;17:147–67.
11. van Oekelen O, Aleman A, Upadhyaya B, et al. Neurocognitive and hypokinetic movement disorder with features of parkinsonism after BCMA-targeting CAR-T cell therapy. *Nat Med* 2021;27:2099–103.
12. Choi G, Shin G, Bae S. Price and Prejudice? The value of chimeric antigen receptor (CAR) T-cell therapy. *Int J Environ Res Public Health* 2022;19.

**Paradoks: rasvunud ja ülekaalulistel patsientidel on võrreldes normaal- ja alakaalulistega ägedasse koronaarsündroomi haigestumise korral parem prognoos**

Vaieldamatult on ülekaal ja rasvumine südame-veresoonkonnahaiguste riskitegurid. Aastakümneid tagasi avaldatud mitme uuringu materjalidest selgus nn rasvumise paradoks: ülekaalulistel/rasvunud patsientidel oli südame-veresoonkonnahaigustesse haigestumisel parem lühi- ja pikaegne prognoos kui samasuguse südame-veresoonkonnahaiguste riskiprofiiliga alakaalulistel patsientidel.

Israelis tehtud uuringus analüüsiti riikliku ägeda koronaarsündroomi registri andmete

alusel ägeda koronaarsündroomiga patsientidel haigestumisest 30 päeva jooksul tekkinud tõsiste kardiovaskulaarsete tüsistuste kujunemise ja suremuse seoseid kehamassiindeksiga.

Aastatel 2000–2018 uuringusse kaasatud 13 816 patsiendist olid 104 alakaalulised, 3921 normaalkaalus, 6224 ülekaalulised ja 3567 rasvunud. Aasta jooksul suri 24,8% alakaalulistest, 10,7% normaalkaalulistest, 7,1% ülekaalulistest ja 7,5% rasvunud patsientidest. Tüsistusi kujunes 24,3%-l alakaalulistest, 19,6%-l normaalkaalulistest, 11,6%-l ülekaalulistest ja 11,7%-l rasvunud patsientidest. Kõigi esitatud näitajate erinevus oli statistiliselt oluline.

Viimasel kümnendil on ägeda koronaarsündroomi ravivõimalused oluliselt tõhustunud ning

uuringu andmeil on suremus ja 30 päeva jooksul tekkinud tõsiste kardiovaskulaarsete tüsistuste esinemissagedus vähenenud võrreldes sellele eelneva kümnendiga kõigis kehamassiindeksi rühmades, välja arvatud alakaalulised patsiendid. Selles patsiendirühmas ei olnud nii suremus kui ka tüsistuste näitajad vaadeldud kümnendite jooksul muutunud.

Autorid järelavad, et ka tänapäeva kardioloogia taseme ja võimaluste juures esineb ägeda koronaarsündroomiga patsientide puhul endiselt rasvumise paradoks.

REFEREERITUD

Gurevitz C, Assali A, Mohsan J, et al. The obesity paradox in patients with acute coronary syndromes over 2 decades - the ACSIS registry 2000-2018. *Int J Cardiol* 2023;380:48–55.

LÜHIDALT