

IMUNOTERAPIA BASEADA EM CÉLULAS CAR-T

IMMUNOTHERAPY BASED ON CAR-T CELLS

NASCIMENTO, MICHEL DO¹

SILVA ISABEL CORINO DA²

1-ALUNO DA GRADUAÇÃO EM BIOMEDICINA NA UNIVERSIDADE DAS FACULDADES METROPOLITANAS UNIDAS – FMU, SÃO PAULO-SP

2- POS GRADUADA EM PSICOPEDAGOGIA NA UNIVERSIDADE CATOLICA DE PERNAMBUCO- UNICAP, RECIFE-PE

RESUMO

A imunoterapia baseada em células emergiu nas últimas décadas como um novo tratamento para doenças malignas hematológicas como as Leucemias e os Linfomas resistentes a terapias convencionais. Conhecida como células CAR (Receptor Quimérico de Antígenos) essa tecnologia utiliza linfócitos T, células do sistema imune responsáveis por combater agentes patogênicos e matar células infectadas. Os linfócitos T retirados do paciente através da leucoafereze, são isolados e reprogramados especificamente para conseguirem identificar as células do câncer e destruí-las. Os CARs são proteínas produzidas artificialmente em laboratório e consistem no fragmento variável de cadeia única de um anticorpo (ScFv) que reconhece o antígeno tumoral e o domínio de ativação de células T. Dessa forma, as células de defesa modificadas voltam com mais força para eliminar as células tumorais. Os CARs foram evoluindo para conseguir ser mais eficientes, com isso surgiram 4 gerações CAR, cada um com sua especificidade. Assim como as demais terapia, a terapia com CAR também possui efeitos colaterais e um deles é a síndrome da liberação de citocina (SLC) que pode levar a óbito o paciente. Por ser uma terapia nova, seu custo é elevado e por essa razão seu uso é limitado em ultimo caso quando os protocolos de tratamento não são mais efetivos no paciente. Em parceria, o Instituto Butantan junto com a USP e o Hemocentro de Ribeirão estão montando centros para trazer a terapia para o Brasil e torna-la mais acessível.

Palavras chaves: CAR-T, linfocitos T, imunoterapia.

ABSTRACT

Cell-based immunotherapy has emerged in recent decades as a new treatment for hematological malignancies such as Leukemias and Lymphomas resistant to conventional therapies such as chemotherapy. Known as CAR (Chimeric Antigen Receptor) cells, this technology uses T lymphocytes, cells of the immune system responsible for fighting pathogenic agents and killing infected cells. T lymphocytes taken from the patient are removed through leukoapheresis, isolated and specifically reprogrammed to be able to

identify cancer cells and destroy them. CARs are proteins artificially produced in the laboratory and consisting of a single-chain variable fragment of an antibody (ScFv) that recognizes the tumor antigen and the T cell activation domain. eliminate tumor cells. CARs have evolved to be more efficient, with that 4 CAR generations have emerged, each with its own specificity to attack the tumor. As with other therapies, therapy with CAR also has side effects and one of them is the cytokine release syndrome (CLS) which, if left untreated, can lead to the patient's death. Because it is a new therapy, its cost is high and for this reason its use is limited in the last case when the treatment protocols are no longer effective in the patient. In partnership, the Butantan Institute together with USP and the Blood Center of Ribeirão are setting up centers to bring the therapy to Brazil and make it more accessible.

keywords: CAR-T, t-lymphocytes, Immunotherapy.

1. INTRODUÇÃO

O papel do sistema imunológico é defender o organismo de ameaças que desequilibram a homeostase e por conseguinte ocorre uma resposta mediada por células e moléculas que compoem este sistema complexo. Na medula ossea o progenitor Linfoide é o precursor dos linfocitos que são células que pertencem ao sistema imunitario de modo que, são classificados em linfocitos T e B cuja as características são especificidade, memoria e reconhecimento. ⁽¹⁾

Os linfocitos T possuem receptores de células T (TCR) e co-receptores conhecidos como CD4+ (auxiliares) e CD8+ (citotóxico) tendo como função liberação de citocinas com interleucinas (IL) e Interferon-gama (IFN- γ) para proliferação, diferenciação e ativação de outras células do sistema imune e reconhecimento de antígeno para sua posterior destruição respectivamente. Já os linfocitos B se diferenciam em plasmócitos que sintetizam imunoglobulinas também conhecidos como anticorpos, possuindo papel fundamental na neutralização de antígenos criando assim uma memória específica para aquele patógeno, além disso, Assim como os Linfocitos T, os linfocitos B também possuem um receptor específico em sua membrana conhecido como BCR (receptor de antígeno da célula B) que passa a ser produzido a partir da diferenciação e ativação das células plasmáticas. Diante disso, o reconhecimento de um antígeno pelo sistema imune ocorre primeiramente com o estímulo de patógenos que ao serem fagocitados pelas células apresentadoras de antígenos (APCs) expõem fragmento desse patógeno em sua membrana para apresentar aos linfocitos TCD4+ por intermédio da interação do TCR do linfócito e MHC II (complexo principal de histocompatibilidade classe II) que são moléculas expressas na membrana das APCs, inicia-se assim uma cascata de reações, contudo a sinalização bioquímica para ativar outras células do sistema é

proveniente do CD3. Havendo o reconhecimento do antígeno aos linfócitos TCD4+ ocorre liberação de diversas citocinas que vão induzir a proliferação dos próprios linfócitos TCD4+, ativação de outras células do sistema imune e síntese de anticorpos, pois além do linfócito B se diferenciar em plasmócitos que secretará anticorpos, ele também é uma das células apresentadora de antígeno junto do macrófago e células dendríticas. Já a função dos linfócitos TCD8+ está ligada ao reconhecimento de antígenos e sua destruição por células nucleadas que foram parasitadas por vírus ou células tumorais que expressam em sua superfície celular o MHC I. ⁽¹⁾

O câncer é uma mutações no material genético que atingem genes responsáveis pelo controle do ciclo celular, é um processo que acontece em etapas e é mediado por fatores intrínsecos e extrínsecos. Não se trata apenas de um único fator responsável por causar uma mutação no DNA, mas sim de várias injúrias causadas ao material genético que não tem sucesso no reparo e continua o ciclo celular levando a sua formação. O processo de formação do câncer também chamado de carcinogênese acontece em etapas, sendo elas: iniciação, promoção e progressão tumoral. A iniciação é a etapa em que o material genético sofre uma injúria externa ou interna, não é devidamente reparado devido a mutações nos genes responsáveis pelo reparo e continua o ciclo celular, a promoção é a etapa em que essa célula mutada se prolifera, entrando na etapa de progressão tumoral em que essa célula ao se proliferar adquire mais mutações e conseqüentemente mais habilidades de malignidade. Devido às mutações nos genes responsáveis pelo ciclo celular a célula se prolifera descontroladamente formando um tumor que pode ser benigno ou maligno dependendo das características que apresentar, e que pode se tratar de um tumor sólido ou não sólido, os tumores não sólidos são aqueles que acometem o sangue, ou seja, são neoplasias hematológicas ⁽²⁾. O sistema imunológico tem ação anti-tumoral, porém há diversos fatores que fazem os leucócitos não destruírem células cancerígenas, uma delas é a falta de estímulo, pois alguns tumores não expressam antígenos imunogênicos para que haja ativação do sistema imunitário e como consequência ganham capacidade proliferativa. Outro fator que contribui para evasão tumoral são as MDSC (células supressoras mieloides), são células jovens não especializadas que saem da medula e por estímulo tumoral se diferenciam em células que suprimem a resposta dos linfócitos T. ^(2,3)

As terapias modernas contra o câncer dependem cada vez mais de abordagens imunoterapêuticas. Em particular, os inibidores do ponto de controle imunológico e a terapia celular adotiva (TCA), incluindo linfócitos infiltrantes de tumor (LITs), células T modificadas por receptores de células T (RCT) e células T de receptores de antígenos quiméricos (CAR) representam marcos em estratégias inovadoras para o tratamento de câncer. As células CARs combinam a dinâmica das células T com a especificidade do antígeno de um anticorpo. Elas podem se ligar ao antígeno tumoral sem processamento de antígeno e independente da apresentação de antígeno mediada por HLA. A terapia com células CAR-T específicas para CD19 (considerada um alvo ideal, pois é expressa na maioria dos tumores de linfócitos B) mostrou resultados muito promissores em malignidades de células B, incluindo leucemia Linfoblástica aguda (LLA), leucemia linfocítica crônica (LLC) e linfoma não-Hodgkin (LNH).^(4,5)

Entre as exposições identificadas como fatores de risco para leucemia estão: radiação (terapêutica, ocupacional e relacionada à guerra), quimioterapia, história familiar, síndromes e anormalidades genéticas, exposições químicas.⁽⁶⁾

A LLA geralmente surge de anormalidades genéticas não hereditárias. O cromossomo Filadélfia, ou t (9;22), é a translocação cromossômica mais comum na LLA adulta (presente em 25% dos casos) e, ao contrário das crianças, é caracterizado por um curso clínico altamente agressivo.⁽⁶⁾

A história familiar de malignidade hematológica é o fator de risco mais forte e consistente para Leucemia Linfocítica Crônica ((LLC) (mesmo que o risco absoluto entre parentes de primeiro grau seja baixo)), implicando vias genéticas hereditárias comuns na patogênese da LLC. A linfocitose monoclonal de células B (LMB), que é mais frequente em famílias de LLC de alto risco do que na população em geral, pode ser um fator genético precoce indicativo de predisposição hereditária.⁽⁴⁾

Já os linfomas são neoplasias de linfócitos B e T bem diferenciados, que tipicamente se apresentam como massas malignas no tecido linfático. As neoplasias linfoides maduras são amplamente classificadas em três grupos: neoplasias de células B maduras, neoplasias de células T maduras ou natural killer (NK) e linfoma de Hodgkin (LH). Coletivamente, as neoplasias de células B e T/NK compreendem os linfomas não-Hodgkin (LNHs), um grupo heterogêneo de mais de 60 subtipos.^(6,7)

Por outro lado, a terapia com células CARs pode desencadear reações adversas, como síndrome de liberação de citocinas (SLC), síndrome de

neurotoxicidade associada a células efectoras imunes, efeitos fora do alvo, anafilaxia, infecções associadas à infusão de células CAR-T, tumor síndrome de lise, displasia de células B, linfo-histiocitose hemofagocítica, síndrome de ativação de macrófagos e distúrbios de coagulação. Essas reações se não tratadas pode levar ao óbito⁽⁸⁾

Dentre todas as reações adversas a síndrome de liberação de citocinas também conhecida como “tempestade de citocinas” é a mais frequente quando realizada terapia com células CAR-T. As manifestações clínicas leves incluem febre (principalmente o primeiro sintoma), fadiga, cefaleia, dor articular e mialgia. Já nos casos graves são caracterizados por hipotensão e febre alta podendo causar choque, vazamento vascular, coagulação intravascular disseminada e síndrome de disfunção de múltiplos órgãos.^(8,9)

Atualmente, o diagnóstico da SLC depende principalmente das manifestações clínicas dos pacientes. As citocinas ou outros biomarcadores relacionados à ocorrência e desenvolvimento da SLC são rastreados, e a intervenção e o tratamento direcionados são administrados no tempo com base nas alterações nos níveis desses biomarcadores, para prevenir, bloquear e tratar efetivamente a SLC.⁽⁸⁾

As células CAR-T são um importante marco para a ciência no tratamento de patologias hematopoiética devido a sua especificidade, trazendo assim esperança para pacientes que não estão respondendo aos tratamentos convencionais, sendo essa uma das restrições da terapia para ser administrada aos pacientes, ou seja, ultima opção terapêutica quando o paciente já se utilizou de todas as demais terapias. Além disso, desde que os estudos sobre a CAR-T se iniciaram surgiram modificações em sua estrutura primária que permitiram evoluir para modelos de CAR mais assertivos e eficientes no combate ao tumor, inclusive levantando a expectativa de se usar essa terapia futuramente para tumores sólidos que encontra barreiras devido ao ambiente tumoral que dificulta a chegada da CAR-T ao local.⁽¹⁰⁾

2.JUSTIFICATIVA

Os tratamentos convencionais utilizados para combater o câncer (como a quimioterapia) não são seletivos ou específicos, pois afetam tanto células normais como tumorais e por isso são em muitos casos tratamentos paliativas. Por outro lado, utilizando-se da engenharia genética a terapia celular com células CAR tem-se mostrado ser uma terapia eficaz e ao mesmo tempo segura para uma grande

quantidade de neoplasias principalmente linfoma e leucemias. Essas células reconhecem de maneira específica moléculas presentes na superfície das células do tumor o que promove uma resposta antitumoral mais precisa. Por esse motivo trata-se de um assunto extremamente relevante no contexto do tratamento de neoplasias.

3.MÉTODOS

Com o intuito de expor o assunto escolhido elucidando questões sobre terapia celular utilizando a tecnologia de células CAR-T, foi realizada uma revisão bibliográfica de artigos científicos buscados nas seguintes plataformas: PubMed, Scielo, Google Scholar para tal, utilizou-se os termos: Imunoterapia, Receptor quimérico de antígeno, CAR-T, CD19, Reações adversas e seus correspondentes em língua inglesa. Os critérios de inclusão definidos para a seleção dos artigos foram: artigos publicados nas línguas portuguesa e inglesa; artigos de livre acesso, que retratassem a temática referente à revisão integrativa e artigos publicados e indexados nos referidos bancos de dados. Foram excluídas as publicações que não tinham relação com o tema proposto.

4. DESENVOLVIMENTO

4.1 ESTRUTURA DAS CÉLULAS CAR-T

Atualmente existem quatro gerações de receptores CAR-T que se diferenciam quanto à especificidade de ativar os linfócitos T. As células T reconhecem e erradicam as células infectadas pela detecção mediada por TCR de antígenos microbianos, na forma de aminoácidos curtos apresentados pelas principais proteínas do complexo de histocompatibilidade. A ligação ao TCR de um complexo principal específico de histocompatibilidade e combinação de peptídeos que começa uma cascata de sinalização que inicia com a fosforilação dos domínios de motivo de ativação baseado em tirosina imunorreceptor (ITAM) nas proteínas acessórias do TCR CD3 ζ , CD3 γ , CD3 δ e CD3 ϵ ^(10,11)

A estrutura básica de um CAR possui três domínios comuns em suas quatro gerações que são: domínio extracelular onde ocorre a ligação da célula T com o antígeno tumoral que possui fragmento variável da cadeia única (scFv) correspondendo às regiões da cadeia pesada e cadeia leve de um anticorpo monoclonal que é modificado para ser tornar uma única cadeia, portanto esse domínio é responsável pela especificidade com antígeno tumoral. Seguindo para o

segundo domínio, temos a região transmembranar que contém CD8. O terceiro domínio é a sinalização intracelular que corresponde a cadeia zeta da molécula CD3. ⁽¹⁰⁻¹²⁾

A CAR-T de primeira geração utiliza fragmento variável da cadeia única (scFv) proveniente de variável leve e pesada de anticorpo monoclonal com especificidade para molécula de célula tumoral. Além disso, as CAR-T de primeira geração possui CD3 zeta como domínio de sinalização que com isso é possível ativar os linfócitos T sem a necessidade do MHC ⁽¹³⁾. O problema maior desta geração é a capacidade proliferativa que não se mantém a longo prazo e outro fator importantíssimo são os níveis insuficientes de citotoxicidade para destruir a célula alvo ⁽¹⁴⁾.

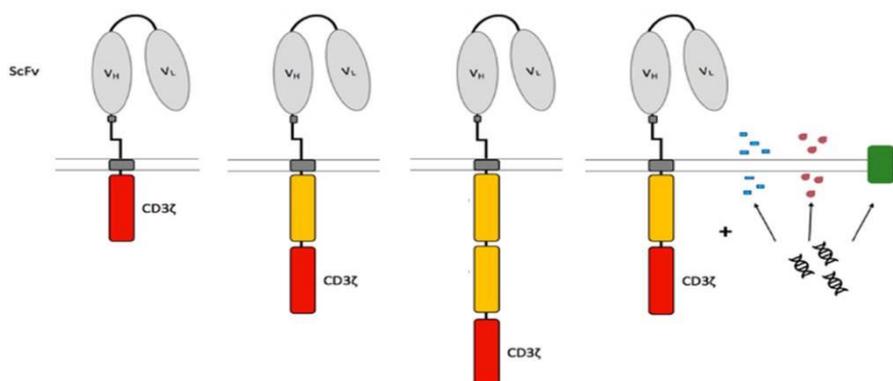
A Segunda geração CAR-T obteve uma evolução, uma modificação através de moléculas coestimulatórias tal como CD 28, este por sua vez corrige a ineficiência que a primeira geração CAR-T possuía em relação a sua capacidade proliferativa de se manter ao longo prazo, além disso aumento da citotoxicidade para atacar a célula alvo, outro benefício que esta geração trouxe foi a possibilidade de atacar tumores de célula B que expressam o antígeno CD 19. Quanto à terceira geração CAR-T, Diferentemente da segunda que utiliza apenas uma molécula coestimuladora, essa geração faz uso de mais de uma molécula coestimuladora com por exemplo CD28 e o CD137. E por fim a quarta geração de CAR-T, esta por sua vez também chamada de TRUNKs (T-cells redirected for universal cytokine-mediated killing) é proveniente da combinação da segunda geração da CAR-T com liberação de citocina para que haja uma atividade antitumoral que possibilite acesso a superfície de tumores, essa característica da quarta geração age diminuindo a atividade imunossupressora dos tumores através da interleucina-12 (IL-12), permite assim a esperança de usar a terapia CAR-T para tumores sólidos que até então não houve grandes avanços devido a dificuldade imposta pelo microambiente tumoral dos tumores sólidos ⁽¹⁵⁻¹⁷⁾.

A CAR-T atualmente no Brasil é direcionada para o tratamento Leucemia linfoblástica aguda de células B, linfoma não Hodgkin de células B e mieloma múltiplo. Todos os produtos que temos atualmente para uso da terapia foram liberados pela ANVISA (Agencia Nacional de Vigilância Sanitária) que aprovou em 23 de fevereiro de 2022 o registro no Brasil para produto Kymriah da empresa Novartis Biociências para Leucemia Linfoblástica Aguda refratária ou recidiva e para

Linfoma Difuso de Grandes Células B, segundo o site da ANVISA o tratamento é indicado para jovens de até 25 anos. No mesmo ano, 01 de Abril e 26 de Outubro a ANVISA também autorizou Carvykti da Janssen-Cilag Farmacêutica para Mieloma Múltiplo e Yescarte do laboratório Kite para Linfoma de grandes Células B respectivamente com indicação para pacientes refratários ou recindivados. ⁽¹⁸⁻²⁰⁾.

Em relação ao tratamento restrito à linhagem de células B direcionada especificamente a proteína CD-19, há quatro diferentes produtos de células CAR T que foram desenvolvidos - tisagenlecleucel (Kymriah; Novartis, Basel, Suíça), axicabtagene ciloleucel (Yescarta; Kite, Santa Monica, CA, EUA), brexucabtagene autoleucel (Tecartus; Kite, Santa Monica, CA, EUA) e lisocabtagene maraleucel (Breyanzi; Juno Therapeutics, Seattle, WA, EUA) - todos aprovados pela Food and Drug Administration (FDA) para tratar leucemia linfoblástica aguda de células B ou linfoma não-Hodgkin. ⁽²¹⁾

Figura 1: Gerações quiméricas de receptores de antígenos



Fonte: International Journal of Molecular Sciences, Optimizing Manufacturing Protocols of Chimeric Antigen Receptor T Cells for Improved Anticancer Immunotherapy, 2019. Imagem adaptada.

4.2. MANUFATURA DA CAR-T

O processo de produção da CAR-T se inicia com a coleta dos linfócitos através do procedimento chamado aférese que é a coleta de leucócitos (leucaferese) por meio de punção venosa em bolsa plástico feita por uma maquina, o processo é similar a doação de sangue convencional. Nesta etapa o paciente tem

restrições antes de realizar o procedimento, pois em se tratar de pacientes submetidos a vários tipos de tratamentos inclusive quimioterapia o acesso venoso fica comprometido, pois para realização da aférese necessita de veias que aguente o processo sem estourar, ademais, pacientes que fez sessões de quimioterapia recente possuem populações de linfócitos diminuídas o que reforça a necessidade de quantificação do CD3+ que está presente nos linfócitos TCD4+ e TCD8+ como marcador de membrana. Posteriormente, a bolsa obtida na aférese passa por purificações e avaliação imunofenotípica, pois na bolsa além da obtenção de linfócitos, outras células como monócitos, neutrófilos, NK, plaquetas são coletadas no processo. É feito lavagem com salina para retirada de plasma e plaquetas e depois outra etapa para retirar células que podem interferir nas etapas seguintes.⁽²²⁾

O próximo passo é ativação dos linfócitos e transdução, esses processos implicam na adição de anticorpo anti CD3 e CD8 para ativação dos linfócitos e um vetor que pode ser viral como lentivírus ou retrovírus ou não viral como transposon que hospede o CAR. A construção do CAR Após a transdução ocorre o processo de expansão e criopreservação com a finalidade de aumentar a quantidade de células T modificadas e conservação em caso de transporte de um lugar para outro respectivamente. Em contra partida, a criopreservação diminui o numero de células, mas não a qualidade das que restaram na bolsa que será infundida, além disso é utilizado agentes preservantes de celulas como o DMSO (dimetilsulfóxido).O ultimo passo do processo é o descongelamento e infusão do produto no paciente, sendo que, o descongelamento precisa ser rápido.⁽²²⁾

Um das desvantagem dessa terapia é seu alto custo e para diminuir valores e pode incluir no SUS a terapia CAR-T o Instituto Butantan, a USP e Hemocentro de Ribeirão Preto, vem desenvolvendo pesquisas para disponibilizar centros de aplicação da terapia aqui no Brasil ⁽²³⁾. Um outra desvantagem da terapia além do alto custo, ela só pode ser utilizada em pacientes que não respondem mais aos protocolos de tratamentos convencionais e a terapia pode desencadear a síndrome da liberação de citocinas (SLC) que se não monitorada devidamente pode levar a óbito, pois excesso de citocinas pelas células do sistema imune que desencadeiam uma série de reações imunológicas e manifestações clínicas que podem ser autolimitada ou expandir para outros órgãos e se não for tratada prontamente pode evoluir para disfunção de múltiplos órgãos levando o paciente a óbito o que causa um alarme para cuidados intensivos para sintomas mais intensos e persistentes ⁽²⁴⁾.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Nas últimas décadas a imunoterapia foi alvo de muitas pesquisas, principalmente com foco em doenças oncológicas. A terapia em foco que usa células T modificadas em laboratório com receptor de antígeno quimérico (CAR-T) é a terapia que está em alvo no momento sendo considerado como novo instrumento para o tratamento de neoplasias hematológicas. O sistema imunitário tem a capacidade de reconhecer moléculas seja um microrganismo ou células anormais através de células efetoras que sofreram estímulos e passam a gerar resposta ao que está causando um desequilíbrio. Assim, partindo deste conhecimento sabemos que as células do sistema imunitário tem ação antitumoral, porém por causa dos diversos mecanismos tumorais que driblam os mecanismos de eliminação, o tumor se instala e se desenvolve. A terapia CAR-T é uma alternativa que aumenta a resposta das células T para serem efetivas na eliminação do tumor e por esse motivo a terapia é alvo de vários cientistas que em seus ensaios clínicos aprimoram a terapia para ser eficiente, específica e com menos efeitos colaterais para o paciente, pois ao ser infundida libera uma quantidade grande de citocinas para atacar as células tumorais e por essa razão ocorrem inúmeras reações imunológicas no organismo que se não controlada pode levar a óbito.

Assim sendo, em virtude dos fatos mencionados, a terapia CAR-T é uma terapia promissora para neoplasias hematológicas surgindo como alternativa para casos em que os protocolos convencionais não respondem mais, entretanto é uma terapia restrita sendo aplicado por enquanto para leucemia linfocítica crônica, linfoma não-Hodgkin e mieloma múltiplo, no que diz respeito aos demais tumores há várias pesquisas em desenvolvimento com o intuito de também alcançar efetividade em sua remissão.

REFERÊNCIA BIBLIOGRAFICA

1. Mesquita JD , Araújo JAP , Catelan TTT , Souza AWS , Crunivel WM , Andrade LEC , et al . Sistema imunitário – parte II : fundamentos da resposta imunológica mediada por linfócitos T e B . Revista Brasileira de Reumatologia . 2010 oct;50(5):552-80
2. Peters JM, Gonzalez FJ. The Evolution of Carcinogenesis. *Toxicological Sciences*. 1º de outubro de 2018;165(2):272-6.
3. Silva EVS, Nascente EP de, Miguel MP, Alves CEF, Moura VMDB de. Elucidando a imunovigilância e imunoeedição tumoral: uma revisão abrangente. *Ciênc anim bras [Internet]*. 2021;22:e–68544.
4. Stock S, Schmitt M, Sellner L. Optimizing manufacturing protocols of chimeric antigen receptor t cells for improved anticancer immunotherapy. *Int J Mol Sci*. 2019;20(24).
5. Wang Z, Wu Z, Liu Y, Han W. New development in CAR-T cell therapy. *J Hematol Oncol*. 2017;10(1):1–11.
6. Baeker Bispo JA, Pinheiro PS, Kobetz EK. Epidemiology and etiology of leukemia and lymphoma. *Cold Spring Harb Perspect Med*. 2020;10(6).
7. Thandra KC, Barsouk A, Saginala K, Padala SA, Barsouk A, Rawla P. Epidemiology of Non-Hodgkin ' s Lymphoma. 2021;1–9.
8. Miao L, Zhang Z, Ren Z, Li Y. Reactions Related to CAR-T Cell Therapy. *Front Immunol*. 2021;12(April).
9. Lee DW, Santomasso BD, Locke FL, Ghobadi A, Turtle CJ, Brudno JN, et al. ASTCT Consensus Grading for Cytokine Release Syndrome and Neurologic Toxicity Associated with Immune Effector Cells. *Biol Blood Marrow Transplant [Internet]*. 2019;25(4):625–38.
10. 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*. 9, (2017) 1183–1197
11. Cartellieri M, Bachmann M, Feldmann A, Bippes C, Stamova S, Wehner R et al. Chimeric antigen receptor-engineered T cells for immunotherapy of cancer. *Journal of biomedicine & biotechnology*, v.2010, n. 956304, p. 1-13, 2013.
12. abate-daga D, Davila M. CAR models: next-generation CAR modifications for enhanced T-cell function. *Molecular Therapy – Oncolytics*. v.14, n.3, mai, 2016.
13. Ataca P, Arslan Ö. Chimeric Antigen Receptor T Cell Therapy in Hematology. *Turkish J Haematol Off J Turkish Soc Haematol*
14. Klampatsa A, Dimou V, Albelda SM. Mesothelin-targeted CAR-T cell therapy for solid tumors. *Expert Opin Biol Ther*. 2021 Apr;21(4):473-486. doi: 10.1080/14712598.2021.1843628. Epub 2020 Nov 12. PMID: 33176519.
15. Savoldo B, Ramos CA, Liu E, Mins MP, Keating MJ, Carrum G, et al. CD28 costimulation improves expansion and persistence of chimeric antigen receptor-modified T cells in lymphoma patients. *The Journal of Clinical Investigation*. v.121, n.5, p.1822-1826, May. 2011.
16. Zhang E, Gu J, Xu H. Prospects for chimeric antigen receptor-modified T cell therapy for solid tumors. *Mol Cancer*. 2018 Dec 12;17(1):7. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29329591>
17. Lim WA, June, CH. - The Principles of Engineering Immune Cells to Treat Cancer. *Cell* 168, (2017) 724–740.
18. Agência Nacional de Vigilância Sanitária [homepage na internet] Anvisa aprova produto de terapia avançada para tratamento de câncer [citado em 7 de Abril de 2023]. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/noticias->

anvisa/2022/anvisa-aprova-produto-de-terapia-avancada-para-tratamento-de-cancer

19. Agencia Nacional de Vigilância Sanitária [homepage na internet] Anvisa aprova registro de produto de terapia avançada para câncer [citado em 7 de Abril de 2023]. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/noticias-anvisa/2022/anvisa-aprova-registro-de-produto-de-terapia-avancada-para-cancer>
20. Agencia Nacional de Vigilância Sanitária [homepage na internet] Anvisa aprova 3º produto de terapia avançada para tratamento do câncer [citado em 7 de Abril de 2023]. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/noticias-anvisa/2022/anvisa-aprova-3o-produto-de-terapia-avancada-para-tratamento-do-cancer>
21. Meng J, Wu X, Sun Z, Xun R, Liu M, Hu R et al. Efficacy and Safety of CAR-T Cell Products Axicabtagene Ciloleucel, Tisagenlecleucel, and Lisocabtagene Maraleucel for the Treatment of Hematologic Malignancies: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Front Oncol.* 2021 Jul 26;11:698607
22. Santis GC, Junior DML, Feitosa A, Junior AM, Kutner JM, Covas DT et al. Consenso da Associação Brasileira de Hematologia, Hemoterapia e Terapia Celular sobre Células Geneticamente Modificadas.V: Manufatura e Controle de Qualidade.2021.[citado em 23 de Abril de 2023]. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.htct.2021.09.005>
23. Instituto Butantan [homepage na internet] Butantan, USP e Hemocentro de Ribeirão Preto lançam maior programa de terapias avançadas para tratamento de câncer da América Latina.[citado em 7 de Abril de 2023]. Disponível em: <https://butantan.gov.br/noticias/butantan-usp-e-hemocentro-de-ribeirao-preto-lancam-maior-programa-de-terapias-avancadas-para-tratamento-de-cancer-da-america-latina>
24. Zhang X, Zhu L, Zhang H, Chen S, Xiao Y. CAR-T Cell Therapy in Hematological Malignancies: Current Opportunities and Challenges. *Front Immunol.* 2022 Jun 10;13:927153.