



CENTRO UNIVERSITÁRIO DAS FACULDADES METROPOLITANAS UNIDAS

**O FUTURO DA IMUNOTERAPIA: CAR-T UMA INOVADORA TERAPIA NA ONCO-HEMATOLOGIA
E SUAS LIMITAÇÕES PARA TUMORES SÓLIDOS**

***THE FUTURE OF IMMUNOTHERAPY: CAR-T AN INNOVATIVE THERAPY IN ONCO-
HEMATOLOGY AND ITS LIMITATIONS FOR SOLID TUMORS***

***EL FUTURO DE LA INMUNOTERAPIA: CAR-T UNA TERAPIA INNOVADORA EN
ONCOHEMATOLOGÍA Y SUS LIMITACIONES PARA TUMORES SÓLIDOS***

PUBLICADO: 06/2023

<https://doi.org/10.47820/recima21.v4i1.3329>

SÃO PAULO 2023

DAIANA SILVA DE OLIVEIRA
MICHELE MOURA DE ARAUJO
SAULO GOES MENDONÇA

**O FUTURO DA IMUNOTERAPIA: CAR-T UMA INOVADORA TERAPIA NA ONCO-HEMATOLOGIA
E SUAS LIMITAÇÕES PARA TUMORES SÓLIDOS**

Trabalho de conclusão de curso
apresentado ao curso de Biomedicina
da faculdade metropolitanas unidas como
requisito de obtenção de título de
biomédico
sobre a orientação do Prof.^a Dra. Nathalia
Cruz de Victo.

SÃO PAULO 2023

TERMO DE APROVAÇÃO

DAIANA SILVA DE OLIVEIRA
MICHELE MOURA DE ARAUJO
SAULO GOES MENDONÇA

**O FUTURO DA IMUNOTERAPIA: CAR-T UMA INOVADORA TERAPIA NA ONCO-HEMATOLOGIA
E SUAS LIMITAÇÕES PARA TUMORES SÓLIDOS**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Biomedicina da Faculdade Metropolitanas Unidas, cidade São Paulo como requisito à obtenção do título de obtenção do grau de Biomédico, pela seguinte banca examinadora: _____ Profa. MestreOrientadora -Profa. Mestre Prof. Dr. Cidade....data /...../.....

Assinatura dos membros participantes da banca

.....
.....
.....
.....

SÃO PAULO 2023

DEDICATÓRIA

Gostaríamos de, primeiramente, agradecer a Deus por ter permitido que chegássemos até aqui e aos nossos familiares pela compreensão e apoio durante toda nossa graduação. Obrigada(o).

AGRADECIMENTOS

Gostaríamos de agradecer a todos os professores que durante esses 4 anos de graduação, contribuíram através dos seus conhecimentos, para que nos tornássemos os profissionais que nos tornamos. Obrigada(o).

RESUMO

Com o desenvolvimento crescente da utilização da imunoterapia de doenças oncológicas, o tratamento com células CAR-T (linfócitos T com Receptores Antígenos Quiméricos), estão sendo utilizadas estratégias para aproveitar o próprio sistema imunológico para combater os cânceres. A inovadora técnica de terapia celular, vem obtendo resultados impressionantes em casos que não restavam mais opções terapêuticas, cujo prognósticos eram fracos e praticamente improváveis. Estudos apresentados expõe tanto limitações para tumores sólidos e efeitos colaterais provenientes da liberação de citocinas, como avanços na reprogramação dos linfócitos T em sua produção, beneficiando pacientes hematológicos. Foram apresentados avanços na criação das gerações das células CAR-T, sabemos que existem quatro gerações, tendo como base de desenvolvimento a primeira geração. Elas mostraram uma eficácia limitada em termos de persistência a resposta antitumoral. É importante observar que essas gerações representam grandes avanços na reformulação das células CAR-T e nas estratégias de ativação e sinalização intracelular, com o objetivo de melhorar a eficácia terapêutica. O presente estudo justifica-se pelo interesse em expor dados e detalhes da terapia CAR-T cell, que representa um avanço na ciência e no tratamento de pacientes vítimas de neoplasias hematológicas. São apresentados conceitos, tecnologias e processo para terapias avançadas, onde é abordada a aplicação clínica, sendo apresentados produtos já aprovados como: Kymriah, Yescarta.

PALAVRAS-CHAVE: Imunoterapia. Linfócito T. Ccar-t. Liberação de citocinas.

ABSTRACT

With the increasing development of the use of immunotherapy of oncological diseases, the treatment with CAR-T cells (T lymphocytes with Chimeric Antigen Receptors), strategies are being used to take advantage of the immune system itself to fight cancers. The innovative technique of cell therapy has been obtaining impressive results in cases that no longer had therapeutic options left whose prognoses were weak and practically unlikely, studies presented expose both limitations for solid tumors and side effects from the release of cytokines, as advances in the reprogramming of T lymphocytes in their production, benefiting hematological patients. Advances have been presented in the creations of the generations of CAR-T cells, we know that there are four generations, based on the development of the first generation. They showed limited efficacy in terms of persisting the antitumor response. It is important to note that these generations represent major advances in the reformulation of CAR-T cells and in intracellular activation and signaling strategies, with the aim of improving therapeutic efficacy. The present study is justified by the interest in exposing data and details of CAR-T cell therapy, which represents an advance in science and in the treatment of patients suffering from hematological neoplasms. Concept, technology and process for advanced therapies are presented, where the clinical application is addressed, being presented products already approved as: Kymriah, Yescarta.

KEYWORDS: Immunotherapy. T lymphocyte. Car-t. Cytokine release.

RESUMEN

Con el creciente desarrollo del uso de la inmunoterapia de enfermedades oncológicas, el tratamiento con células CAR-T (linfocitos T con receptores de antígenos quiméricos), se están utilizando estrategias para aprovechar el propio sistema inmunológico para combatir los cánceres. La innovadora técnica de terapia celular ha ido obteniendo resultados impresionantes en casos que ya no tenían opciones terapéuticas, cuyos pronósticos eran débiles y prácticamente improbables. Los estudios presentados exponen tanto las limitaciones para los tumores sólidos y los efectos secundarios de la liberación de citoquinas, como los avances en la reprogramación de los linfocitos T en su producción, beneficiando a los pacientes hematológicos. Se han presentado avances en la creación de generaciones de células CAR-T, sabemos que son cuatro generaciones, basadas en el desarrollo de la primera generación. Mostraron una eficacia limitada en términos de persistencia de la respuesta antitumoral. Es importante destacar que estas generaciones representan grandes avances en la reformulación de células CAR-T y en estrategias de activación y señalización intracelular, con el objetivo de mejorar la eficacia terapéutica. El presente estudio se justifica por el interés en exponer datos y detalles de la terapia de células CAR-T, lo que representa un avance en la ciencia y en el tratamiento de pacientes con neoplasias hematológicas. Se presentan conceptos, tecnologías y procesos para terapias avanzadas, donde se aborda la aplicación clínica, presentándose productos ya aprobados como: Kymriah, Yescarta.

PALABRAS CLAVE: Inmunoterapia. T. Linfocito Ccar-t. Liberación de citoquinas.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1: Estrutura Básica de um CAR- Adaptado de Pule, Finney 2003

Figura 2: Gerações CAR-T- Adaptado de Journal of Cellular Immunotherapy 2, 2016

Sumário

INTRODUÇÃO	9
ESTRUTURA BASICA DE UM CAR	10
3. PROCESSO DA MANUFATURA DA CAR-T	11
4. EVENTOS ADVERSOS DA TERAPIA CAR-T	12
4.1 SÍNDROME DE LIBERAÇÃO DE CITOCINAS	12
4.2 NEUROTOXICIDADE	13
4.3 APLASIA DE CÉLULAS B	14
4.4 CITOPENIA	14
5. TERAPIA CAR-T EM TUMORES SÓLIDOS	15
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS	16
REFERÊNCIA	16

1.INTRODUÇÃO

Por muito tempo, os pacientes diagnosticados com câncer tinham tratamentos como quimioterapia, radioterapia e cirurgias, com o passar dos anos, houve o surgimento de novos tratamentos, que atacam as células cancerígenas. Com o avanço da ciência e da biotecnologia direcionada a imunologia, a imunoterapia vem sendo aplicada para diversos tipos de tumores, onde consiste em consolidar o sistema imunológico do indivíduo para que ele consiga atacar o tumor.¹

O surgimento da terapia CAR-T representa um exímio avanço na imunoterapia para o tratamento de neoplasia hematológicas, a terapia foi aprovada em 2017 nos Estados Unidos pela Food and Drug Administration (FDA) , porém foram cerca de 60 anos de pesquisas, muitos avanços e descobertas na ciência que contribuíram e permitiram o surgimento da terapia com células CAR-T da forma que é conhecida hoje.²

O desenvolvimento de um Receptor Quimérico de Antígeno (CAR) aconteceu em 1987, quando pesquisadores editaram geneticamente células T introduzindo um gene no DNA das células T que codifica o CAR , dessa forma as células T passavam a expressar o receptor de antígeno quimérico se tornando capazes de identificar e se ligar a células tumorais e recrutando mais células CAR-T para destruir a célula tumoral . Anos mais tarde, em 1992 o Michel Sadelain imunologista do Instituto de Tecnologia de Massachusetts (MIT) usou retrovírus utilizando a engenharia genética para implantar genes nas células T, para que elas passassem a atacar tumores específicos. Dois anos depois pesquisadores do Memorial Sloan Kettering Câncer Center (MSK) em Nova York conseguiram isolar células T específicas com o objetivo de usá-las em transplantes de células tronco, e elas se mostraram eficientes para tratar tumores causados por vírus.²

Alguns anos depois em 1998, a equipe do Michel Sadelain introduziu uma estimuladora nas células CAR-T, o CD-28, fazendo com que as células CAR-T ficassem ativas no organismo.²

Os pesquisadores MSK conseguiram criar as primeiras células CAR-T aptas para a destruição de tumores, eles a construíram para atacar especificamente um antígeno do câncer de próstata in vitro, e elas se mostraram capazes de sobreviver, se expandir e destruir o tumor com eficiência. Depois, pesquisadores do MIT adicionaram a molécula co- estimuladora CD-19 nas células CAR-T e foi observado que dessa forma elas destruíram células tumorais em camundongos com leucemia.²

Essa mesma equipe de pesquisadores do MIT foram os pioneiros na fabricação das células CAR-T com o CD-19, para o tratamento de pacientes vítimas de leucemia, resistente a quimioterapia e com recidiva, em 2009. No ano seguinte, em 2010 foi realizado o primeiro ensaio clínico da terapia com as células CAR-T na Universidade da Pensilvânia. Dois voluntários do ensaio clínico com leucemia linfoblástica crônica alcançaram remissão completa do câncer e estão curados até hoje.⁵ Mesmo após tantos anos ainda é possível detectar células CAR-T nesses pacientes.²

Em 2017 a agência reguladora de saúde dos Estados Unidos, a FDA (Food and Drug Administration) aprova o uso da terapia com as células CAR-T, no ano de 2019 o Brasil de forma experimental faz uso da terapia no Centro de Terapia Celular do Hemocentro de Ribeirão Preto (CTC-USP) em pacientes com leucemia e linfoma que não respondiam mais aos outros tratamentos.²

Em 2022 foi criado o Programa de Terapia Celular do Instituto Butantã, junto com a Universidade de São Paulo e Hemocentro visando disponibilizar a terapia no Sistema Único de Saúde

(SUS) e ampliando o acesso. No mesmo ano a Anvisa (Agência Nacional de Vigilância Sanitária) liberou o registro dos produtos Kymriah, Carvykti e Yescarte para Leucemia Linfoblástica Aguda refratária ou recidiva e Linfoma Difuso de Grandes Células B, Mieloma Múltiplo e Linfoma de grandes Células B respectivamente.²

Em vista disso, o trabalho exposto abordar o processo de obtenção das células CAR, tal como os efeitos colaterais da terapia e os desafios que implica a técnica, seja ela relacionada à sua produção, custos ou desafios para aplicabilidade nos tumores sólidos.

2. ESTRUTURA BÁSICA DE UM CAR

A terapia CAR-T tem como princípio o redirecionamento dos linfócitos T por meio de um receptor quimérico de antígeno (CAR) criado em laboratório e que confere especificidade para reconhecer e atacar o tumor sem a necessidade de apresentação previa via MHC. A estrutura básica de um CAR dá origem aos quatro tipos de gerações que temos atualmente, cada um com especificidade direcionada para o tumor que se quer rastrear.³

O CAR possui em sua estrutura um domínio de recolhimento do antígeno que corresponde a parte extracelular e, portanto, a parte que tem afinidade com o antígeno alvo. O CAR ainda possui uma região chamada de hinge ou espaçador, uma transmembrana e uma região intracelular que faz a sinalização das células T (FIGURA 1).⁴

A região extracelular é formada pelo fragmento variável de cadeia única (ScFv) de um anticorpo. O anticorpo é formado por regiões constantes e variáveis, duas cadeias leves (CL) e duas pesadas (CH), a porção FAB (Fragment Antigen Binding) é composta por domínios variáveis e constantes das cadeias leves e pesada, é neste local que ocorre a ligação do antígeno, contudo a especificidade vem da região variável. Já a porção FC (Fragmento cristalizável) possui domínio das cadeias pesadas. Neste contexto, para construir o CAR é usado a porção FAB, região responsável no reconhecimento de antígenos como dito anteriormente, essa região passa por modificação tornando-se uma cadeia única conhecido como fragmento variável de cadeia única (ScFv). O ScFv está conectado a uma alça extracelular, chamado de hinge ou espaçador que dá flexibilidade a molécula facilitando o reconhecimento do antígeno alvo. O hinge está ligado a região transmembrana que liga a porção extracelular e intracelular.^{4,6}

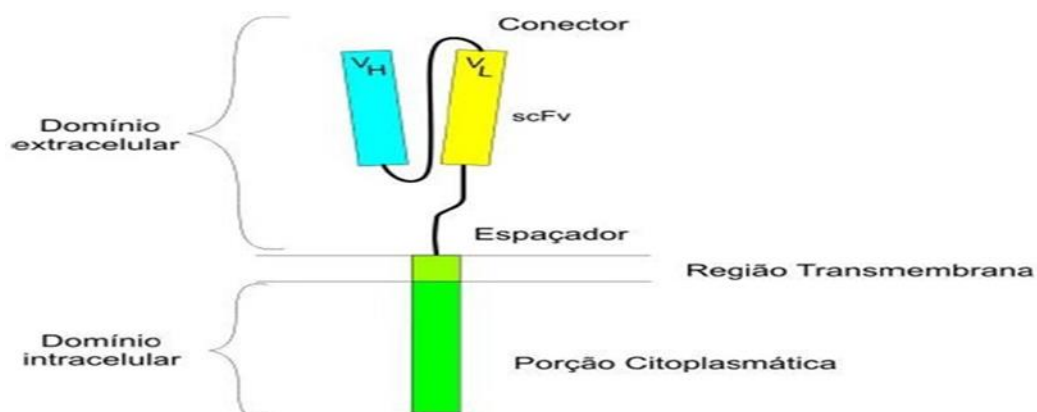


Figura 1 :Estrutura Básica de um CAR- Adaptado de Pule, Finney 2003

A região intracelular do CAR representa a sinalização e posteriormente ativação da resposta dos linfócitos efetores⁴. Convencionalmente os linfócitos possuem receptores próprios, TCR para linfócitos T e BCR para linfócitos B, os linfócitos T possuem correceptores que são CD4+ (auxiliares) e CD8+ (citotóxico). A resposta adaptativa proveniente dos linfócitos acontece após a exposição do antígeno via receptores TCR do linfócito CD4+ e MHC II (complexo de histocompatibilidade classe II) das células apresentadoras de antígenos (APCs), porém a transdução de sinais para proliferação dos linfócitos e liberação de citocinas para recrutar outras células ao local é proveniente do CD3, essa molécula é a responsável pela expressão do receptor TCR, portanto, sem essa molécula não há expressão do TCR e conseqüentemente não teremos interação TCR-MHC II para apresentação de antígeno. Em vista disso, a região intracelular do CAR possui então a molécula CD3 do TCR para que ocorra sinalização.^{7,8}

Sobre este viés, a partir dessa conformação básica vinham 4 gerações da CAR-T que se diferenciam entre si através de moléculas coestimuladoras de linfócitos. A primeira geração possui ITAM (immunoreceptor tyrosine-based activation motif) encontrado na cadeia zeta (ζ) do CD3, porém sem moléculas coestimuladoras, já a segunda geração foi incorporado moléculas coestimuladoras de linfócitos que são CD28 ou 4-1BB (CD137). Enquanto a segunda geração possui apenas uma molécula estimuladora, a Terceira geração tem 2 moléculas, entre as utilizadas estão ICOS, CD27, MYD88, CD40 e OX40 entre outras. A quarta geração também chamada de TRUCKS ((T-cells redirected for universal cytokine-mediated killing) uma combinação da segunda geração como citocinas.^{9,13}

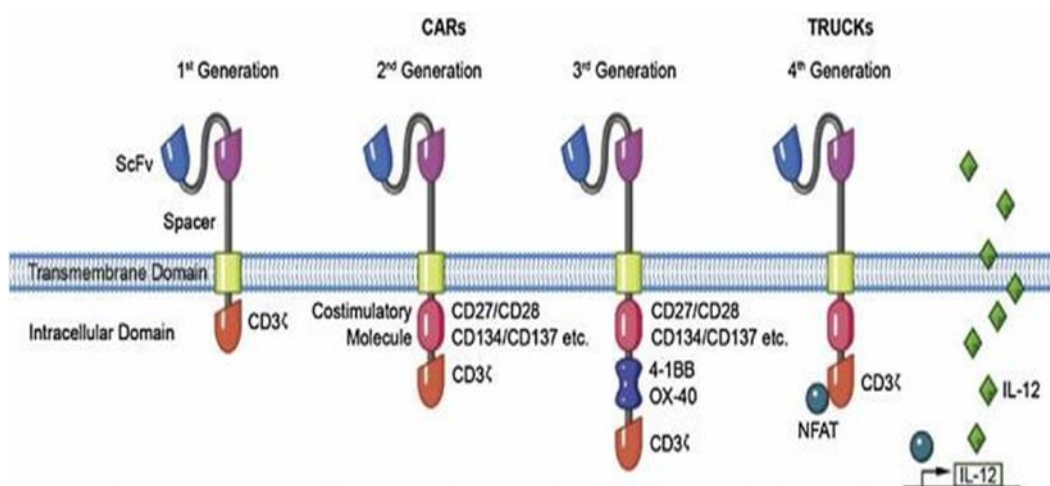


Figura 2: Gerações CAR-T- Adaptado de Journal of Cellular Immunotherapy 2, 2016

3. PROCESSO DA MANUFATURA DA CAR-T

As células CAR-T são geneticamente modificadas em laboratório e todo o processo começa através da leucaférese que pode ser alogênica ou autóloga, porém há uma restrição em uso de células provenientes de outros doadores pelo risco de transmissão de outras patologias. Os testes feitos em doadores são os mesmos empregados no banco de sangue, porém ainda há a questão da janela

imunológica, outro ponto a ser elucidado, é a não necessidade do uso de medicamentos para migração de linfócitos para o sangue periférico.¹⁴

Leucaférese autóloga é necessário dosar níveis de linfócitos, após ciclos de quimioterapia para garantir uma quantidade boa para o processamento. Após a coleta a bolsa passa por processamentos para retirada de monócitos, neutrófilos, plaquetas e plasma. A primeira é a lavagem com solução salina para retirada de plaqueta e plasma, a segunda é a separação das outras células do sistema imunológico com Ficoll ou LSM que são meios de separação de células mononucleadas, a separação também pode ser por equipamentos específicos ou separação imunomagnética. A etapa seguinte é a criopreservação das células para posterior manipulação em laboratório. O próximo passo é transdução, nessa etapa é utilizado um vetor viral que pode ser um retrovírus ou lentivírus, este último é o mais utilizado atualmente ou utilizar um transposon. Posterior a transdução vem a expansão celular que pode ocorrer em frascos T, biorreatores, bolsas plásticas entre outras, nesta etapa precisa ter um controle de qualidade para que não ocorra contaminações de microrganismo como fungos. Depois das etapas citadas ocorre a criopreservação novamente para ser transportada ao local onde está o paciente que receberá a infusão.¹⁴

Todos os processos para a obtenção das células CAR-T, possuem um controle rígido de manuseio e constantes testes para garantir a qualidade e segurança do produto a ser infundido no paciente.¹⁴

4. EVENTOS ADVERSOS DA TERAPIA CAR-T

As células T são capazes de reconhecer o antígeno alvo das células tumorais, ou seja, são capazes de destruir especificadamente o antígeno alvo independente do Complexo Principal de Histocompatibilidade (MHC). Quando o antígeno é identificado pelo domínio extracelular do CAR as células T são ativadas sinalizando o domínio intracelular para a execução da resposta da CAR-T contra o antígeno.^{15,16}

Quando as células CAR-T são ativadas secretam citocinas que ativam células imunes que também secretam citocinas e promovem uma resposta inflamatória. A alta quantidade de citocinas liberadas no organismo do paciente desencadeiam uma tempestade de citocinas que acarretam eventos adversos como a Síndrome da liberação de citocinas, neurotoxicidade, aplasia de células B e citopenia que precisam de um manejo adequado para que sejam controladas e tratadas. Dentre essas a mais comum observada é a Síndrome de liberação de citocinas, com incidência de 57 a 93%.^{16,17}

4.1 Síndrome de liberação de citocinas

A Síndrome de Liberação de Citocinas (SRC) é o principal evento adverso observado em pacientes tratados com a terapia CAR-T, se caracteriza pela liberação em excesso de citocinas pelas células do sistema imune que desencadeiam uma série de reações imunológicas e manifestações clínicas como febre, hipotensão, mialgia, fadiga, hipóxia, dificuldade para respirar, e se não for tratada adequadamente pode evoluir para disfunção de múltiplos órgãos levando o paciente a óbito.¹⁷

Quando as células CAR-T reconhecem o antígeno alvo elas são ativadas e secretam moléculas importantes para a destruição célula tumoral como a perforina, a granzima B, IFN- γ e TNF- α . A

perforina é uma proteína responsável por formar poros na célula alvo e dessa forma permitir a entrada da granzima B que atuará ativando o GSDME altamente expresso em células B tumorais que expressam o CD19 ocasionando a pirocitose (morte celular inflamatória) da célula alvo e a liberação de DAMP'S (Padrões Moleculares Associados a Danos). Os DAMP'S por sua vez, atraem e ativam células imunes inatas como macrófagos e células dendríticas aumentando a resposta inflamatória e consequentemente a liberação de citocinas como IL-1 β e a IL-6 que é a principal citocina que medeia a SRC. Os macrófagos e os monócitos são as células que mais liberam citocinas contribuindo para a SRC 21. O Receptor CD40 é expresso em células apresentadores de antígeno como as células dendríticas, os macrófagos, células B, presente em cânceres hematológicos como o Mieloma Múltiplo, e além disso também é expresso por células endoteliais, e o CD40L é expresso em células T ativadas e nas células CAR-T. E as interações entre CD40/CD40L também são responsáveis pela liberação de citocinas como a IL-1 β e TNF- α , e na ativação de células endoteliais.¹⁷

A Síndrome de Liberação de Citocinas é classificada em graus de gravidade e o tratamento é realizado de acordo com o grau que o paciente apresentar. No grau 1 é feito apenas um tratamento de suporte para aliviar os sintomas, no grau 2, 3, e 4 é administrado o medicamento Tocilizumabe que atua bloqueando os receptores da Interleucina 6, e corticosteroides, além desses também podem ser utilizados um inibidor de GM-CSF a fim de impedir que as células mieloides e as células T se infiltrem, e pode potencializar a ação antitumoral das células CAR-T. O medicamento Anakinra que bloqueia receptores da Interleucina 1 também é usado no tratamento.¹⁵

Alguns fatores influenciam na gravidade da SRC como características do câncer hematológico, a carga tumoral, estrutura do CAR, e doses das células CAR-T. Embora a SRC seja um evento adverso grave, dependendo do grau, foi observado que os pacientes que apresentaram SRC acima do grau 2 obtiveram altas taxas de remissão e ficaram livres da progressão da doença, em comparação com os pacientes que tiveram a SRC em um grau mais brando. Com isso é possível constatar que a Síndrome de Liberação de Citocinas, de uma forma controlada pode ajudar na atuação das células CAR-T. O diagnóstico de SRC é um indicativo que as células CAR-T estão em atividade atacando o alvo.¹⁷

4.2 Neurotoxicidade

Em decorrência das citocinas liberadas após a ativação das células CAR-T que ativam outras células do sistema imune, entre elas o macrófago que também libera altas quantidades de citocinas ativando as células endoteliais do cérebro ocasionando a ruptura de alguns vasos e com isso o aumento da permeabilidade da barreira hematoencefálica.¹⁷

Grandes quantidades de citocinas pró-inflamatórias são liberadas se infiltrando no Líquido Cefalorraquidiano o que pode estar relacionado com a neurotoxicidade.

Devido ao rompimento da Barreira Hematoencefálica os macrófagos, as células T e as células CAR-T se acumulam no Sistema Nervoso Central.¹⁷

A micróglia pode ser ativada pelas células imunológicas e citocinas, intensificando as respostas inflamatórias já presentes no local, levando a neurotoxicidade.¹⁸

Os principais sintomas observados nessa condição são: Cefaleia, tontura, delírio convulsões e edema cerebral. Para o tratamento da neurotoxicidade são utilizados corticosteróides porque são capazes de atravessar a Barreira Hematoencefálica.¹⁷

4.3 Aplasia de células B

A aplasia de células B também é um evento adverso muito comum em pacientes tratados pela terapia com células CAR-T. Antes da infusão das células CAR-T os pacientes são submetidos ao tratamento de quimioterapia para baixar a carga tumoral e as células CAR-T terem um melhor desempenho, porém acaba por deixar a imunidade do paciente debilitada por destruir células normais também. Além disso, as células CAR-T destroem as células B normais, visto que elas apresentam os mesmos marcadores que as células B tumorais.¹⁷

Esses eventos levam a aplasia de células B e conseqüentemente a hipogamaglobulinemia comprometendo a imunidade tumoral do paciente, o deixando muito suscetível a infecções. A infecção bacteriana é a que mais acomete os pacientes, infectando a corrente sangue sanguínea e vias respiratórias, e geralmente acontece nos primeiros meses após a infusão das células CAR-T, o que se explica seria a alta dose de células CAR-T.¹⁸

A Síndrome de Liberação de Citocinas e as infecções que acometem os pacientes devido a aplasia de células B apresentam manifestações clínicas parecidas, o que dificulta o diagnóstico exato para diferenciar, e é possível que a SRC aconteça concomitante com as infecções, ambas as condições apresentadas altos níveis de citocinas pró-inflamatórias e proteína C Reativa, o que torna a diferenciação difícil. Pode-se avaliar o nível sérico da Interleucina 6 que é umas principais citocinas presentes em altos níveis na SRC pela terapia com células CAR-T (se mostrando elevada após 3 semanas da infusão) e por infecções. É observado que os picos duplos da IL-6 alertam para uma infecção grave com risco de vida.¹⁷

É fundamental reestabelecer a imunidade humoral do paciente por isso é feito uma suplementação de imunoglobulina e o monitoramento dos níveis das gamaglobulinas. Além disso, é interessante infundir as células CAR-T de em escalonamento de doses a fim de evitar e amenizar a aplasia de células B e as conseqüências subsequentes.^{1,17}

4.4 Citopenia

Nos pacientes tratados pela terapia com células CAR-T a citopenia é quase sempre presente, e são observados anemia, trombocitopenia e leucopenia. Essa condição perdura por dias ou meses e é necessário tratamento.¹⁷

Na maior parte dos casos esse evento adverso está relacionado com a Síndrome de Liberação de Citocinas em seu grau mais grave. A expressão do CD40 é aumentada em células precursoras de granulócitos que expressam em menor quantidade o CD40L em inflamações, a interação entre CD40 e CD40L entre as células precursoras de granulócitos levam a apoptose dessas células. E além disso, as citocinas pró-inflamatórias liberadas como a IL-1, TNF- α e HMGB1 podem estar relacionadas com a supressão do hormônio responsável pela produção de eritrócitos, a eritropoetina. No processo de

atuação das células CAR-T várias células da imunidade são ativadas, entre elas o macrófago que ativado pode acabar destruindo eritrócitos.¹⁷

As células tronco hematopoiéticas saudáveis podem expressar antígenos que são alvo da células CAR-T e são destruídas também.¹⁷

Além desses fatores descritos, a quimioterapia realizada previamente ao tratamento com o intuito de baixar a carga tumoral interfere na Medula Óssea, limitando a produção de células sanguíneas.¹⁷

Para o tratamento é indicado a transfusão de hemácias, plaquetas e de fatores de crescimento hematopoiéticos como fator de crescimento estimulante de colônias de granulócitos (G-CSF), Trombopoetina (TPO) e agonistas dos receptores de Trombopoetina.¹⁷

5.TERAPIA CAR-T EM TUMORES SÓLIDOS

Enquanto a terapia CAR-T tem tido avanços significativos e comprovados em alguns cânceres hematopoiéticos, por outro lado os tumores sólidos possuem grandes limitações, porém inúmeras pesquisas neste campo estão surgindo como possibilidade futura de tratamento também para alguns tumores sólidos.¹⁹

O processo para atingir tumores sólidos é mais complexo em comparação aos cânceres hematopoiéticos, pois é necessário o tumor seja encontrado pela célula modificada geneticamente, entrar no micro ambiente tumoral e sobreviver no local, porém pode existir outros empecilhos ainda não descobertos. A infiltração das células T no local do tumor é dificultada pelo ambiente tumoral instalado no local, as quimosinas como CXCL1, CXCL12 e CXCL5 e a falta de receptores nas células CAR-T dificultam a chegada ao local, além disso, a infiltração das células T depende de processos tais como rolamento, adesão e quimiotaxia, um dos impedimentos da infiltração é a os fibroblastos associados ao tumor. O microambiente tumoral tem um baixo pH, células imunossupressoras, citocinas próprias do tumor e outros mecanismo que desfavorece as células T efetivarem sua ação na destruição das células tumorais tal como permanecer no local.²⁰

Outro aspecto limitante da terapia é a expressão do antígeno que podem ser específicos ou antígenos associados ao tumor (ATAs). Na Tumorigênese ocorrem várias alterações na expressão dos genes isso leva a formação de antígenos novos como também alterações em antígenos já existentes, aqueles que são específico estimulam mais a resposta do sistema imune, porém os antígenos associados ao tumor possuem agravantes para a terapia CAR-T, pois estes estão presentes tanto no tumor quanto em células normais e por isso não estimulam tanto o sistema imunológico como o outro por ter certa tolerância por serem antígenos conhecidos, por esse motivo, a infusão de linfócito T modificado atacara o tumor como células normais, uma paciente recebeu uma infusão de células CAR-T para tratar câncer do colón, as células T foram modificadas para atacar o antígeno HER 2, porem este também é expressado por células epiteliais do pulmão e a paciente após 5 dias veio a óbito por baixa dos níveis de HER.^{2 19,21}

Cerca de 200 experimentos até 2021 foram feitos em vários países para alguns tumores sólidos usando a terapia CAR-T, porém ainda se tem restrições e limitações que não foram elucidadas dentre os antígenos mais estudos estão mesotelina (MSLN), glicopirano-3 (GPC3), receptor do fator de

crescimento epidérmico humano 2 (HER2), antígeno carcinoembrionário (CEA), crescimento epidérmico receptor de fator e suas variantes (EGFR/EGFRvIII), antígeno de membrana específico da próstata (PSMA), Antígeno Prostático Específico (PSA) e claudina.^{18,2, 22}

6. CONSIDERAÇÕES

A imunoterapia CAR-T representa uma abordagem inovadora e promissora para o tratamento do câncer refratário. Compreendendo os seus mecanismos de ações, enfrentar os desafios clínicos, e explorar perspectivas futuras são aspectos e pontos cruciais para o avanço dessa terapia revolucionária. A contínua pesquisa e desenvolvimento nesse campo tem um grande potencial de se transformar em prática clínica e oferecer uma esperança renovada para pacientes com câncer em todo o mundo.

REFERÊNCIAS

1. National Institutes of Health. CAR T Cells: Engineering Patient's Immune Cells to Treat Their Cancers. 2017. [citado em 21 fev. 2023]. Disponível em: <<https://www.cancer.gov/about-cancer/treatment/research/car-t-cells>>
2. A história da terapia CAR-T: 60 anos de evolução e pioneirismo em direção à cura do câncer – Hemocentro RP [Internet]. [citado em 11 mar. 2023]. Disponível em: <https://www.hemocentro.fmrp.usp.br/a-historia-da-terapia-car-t-60-anos-de-evolucao-e-pioneirismo-em-direcao-a-cura-do-cancer/#:~:text=1987%3A%20Criado%20o%20primeiro%20receptor>
3. Zhao Z, Chen Y, Francisco NM, Zhang Y, Wu M. The application of CAR-T cell therapy in hematological malignancies: advantages and challenges. *Acta Pharm Sin B*. 2018 Jul;8(4):539-551.
4. Ti D, Niu Y, Wu Z, Fu X, Han W. Genetic engineering of T cells with chimeric antigen receptors for hematological malignancy immunotherapy. *Sci China Life Sci*. 2018;61(11):1320–32.
5. Pule M, Finney HLA. Artificial T-cell receptors. *Cytotherapy*. 2003;5(3):211-226.
6. Abbas AK; Lichtman AH; Pillai SHIV. *Imunologia celular e molecular*. 7. Ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2012. 90-93p
7. 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
8. Sun ZJ, Kim KS, Wagner G, Reinher EL. Mechanism contributing to T cell receptor signaling and assembly revealed by the solution structure of an ectodomain of the CD3 heterodimer. *Cell*. 2001;105:913-23.
9. Haynes NM, Trapani JA, Teng MW, Jackson JT, Cerruti L, Jane SM, Kershaw MH, Smyth MJ, and Darcy PK. Single-chain antigen recognition receptors that costimulate potent rejection of established experimental tumors. *Blood*. 2002;100(9):3155-3163.
10. Guedan S, Chen X, Madar A, Carpenito C, mcgettigan SE, Frigault MJ, et al. ICOS- based chimeric antigen receptors program bipolar TH17/TH1 cells. *Blood*. 2014 Aug 14;124(7):1070-80.

11. Hombach AA, Heiders J, Foppe M, Chmielewski M, Abken H. OX40 costimulation by a chimeric antigen receptor abrogates CD28 and IL-2 induced IL-10 secretion by redirected CD4(+) T cells. *Oncoimmunology*. 2012 Jul 1;1(4):458-466.
12. Mata M, Gerken C, Nguyen P, Krenciute G, Spencer DM, Gottschalk S. Inducible Activation of myd88 and CD40 in CAR T Cells Results in Controllable and Potent Antitumor Activity in Preclinical Solid Tumor Models. *Cancer Discov*. 2017 Nov;7(11):1306-1319.
13. Song DG, Powell DJ. Pro-survival signaling via CD27 costimulation drives effective CAR T-cell therapy onco immunology; 2012
14. 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 1 mar. 2023]. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.htct.2021.09.005>
15. Rohit Reddy S, Llukmani A, Hashim A, Haddad DR, Patel DS, Ahmad F, Abu Sneineh M, Gordon DK. The Role of Chimeric Antigen Receptor-T Cell Therapy in the Treatment of Hematological Malignancies: Advantages, Trials, and Tribulations, and the Road Ahead. *Cureus*. 2021 Feb 25;13(2):e13552
16. Li Y, Ming Y, Fu R, Li C, Wu Y, Jiang T, Li Z, Ni R, Li L, Su H, Liu Y. The pathogenesis, diagnosis, prevention, and treatment of CAR-T cell therapy-related adverse reactions. *Front Pharmacol*. 2022 Oct 14; 13:950923.
17. 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.
18. Silva EV de S, Nascente E de P, Miguel MP, Alves CEF, Moura VMDB de. Elucidating tumor immunosurveillance and immunoediting: a comprehensive review. *Ciênc anim bras [Internet]*. 2021[citado em 12 de janeiro de 2023];22 (Ciênc. Anim. Bras., 2021 22). Disponível em: <https://doi.org/10.1590/1809-6891v22e-68544>
19. Martinez M, Moon EK. CAR T Cells for Solid Tumors: New Strategies for Finding, Infiltrating, and Surviving in the Tumor Microenvironment. *Front Immunol*. 2019 [citado em 20 fev. 2023] Feb 5;10:128. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.00128>. PMID: 30804938; PMCID: PMC6370640.
20. Ma S, Li X, Wang X, Cheng L, Li Z, Zhang C, Ye Z, Qian Q. Current Progress in CAR-T Cell Therapy for Solid Tumors. *Int J Biol Sci*. 2019 Sep 7 [citado em 24 fev. 2023];15(12):2548-2560.Disponivel em <https://doi.org/10.7150/ijbs.34213>. PMID: 31754328; PMCID: PMC6854376.
21. Goldsby RA, Kindt TJ, Osborne B. A. Kuby Imunologia. Tradução Solange Cristina Davino. 4. Ed. Rio de Janeiro: Revinter; 2002. 662p
22. Chung H, Jung H, Noh JY. Emerging Approaches for Solid Tumor Treatment Using CAR-T Cell Therapy. *Int J Mol Sci*. 2021 Nov 9 [citado em: 28 fev. 2022];22(22):12126. Disponivel em <https://doi.org/10.3390/ijms222212126>. PMID: 34830003; PMCID: PMC8621681.