

Centro Universitário São Camilo
Curso de Biomedicina

Fernanda Pedral Pontes

**TRATAMENTO DE MIELOMA MÚLTIPLO COM APLICAÇÃO DA TERAPIA
CELULAR CAR-T CELL**

São Paulo
2022

Fernanda Pedral Pontes – SPGR002937

**TRATAMENTO DE MIELOMA MÚLTIPLO COM APLICAÇÃO DA TERAPIA
CELULAR CAR-T CELL**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao curso de Biomedicina do Centro Universitário São Camilo, orientado pelo Prof. Dr. Fábio Mitsuo Lima, como requisito para obtenção do título de Bacharel em Biomedicina.

**São Paulo – SP
2022**

Ficha catalográfica elaborada pelas Bibliotecas São Camilo

Pontes, Fernanda Pedral

Tratamento de mieloma múltiplo com aplicação da terapia celular Car-T Cell / Fernanda Pedral Pontes. -- São Paulo: Centro Universitário São Camilo, 2022.

49 p.

Orientação de Fábio Mitsuo Lima.

Trabalho de Conclusão de Curso de Biomedicina (Graduação), Centro Universitário São Camilo, 2022.

1. Imunoterapia adotiva 2. Linfócitos T 3. Mieloma múltiplo 4. Sistema imunitário 5. Terapia baseada em transplante de células e tecidos I. Lima, Fábio Mitsuo II. Centro Universitário São Camilo III. Título

CDD: 616.079

Fernanda Pedral Pontes

**TRATAMENTO DE MIELOMA MÚLTIPLO COM APLICAÇÃO DA TERAPIA
CELULAR CAR-T CELL**

São Paulo, 10 de maio de 2022

Professor Orientador: Prof. Dr. Fábio Mitsuo Lima

Professor Examinador: Profa. Dra. Marjorie Mendes Marini e Souza

São Paulo

2022

Agradecimentos

Primeiramente devo agradecer a Deus e todos os orixás por terem me dado forças e apoio para passar por todas as adversidades e chegar aonde cheguei, por toda a luz e por todos os caminhos abertos.

Gostaria de agradecer a minha família, minha avó, meu tio e minha mãe, que me deram toda a sustentação e suporte, que aguentaram todas as minhas crises e me acalmaram nos momentos mais tempestuosos. Sem vocês, eu nada seria. Obrigada.

Também quero deixar um agradecimento especial ao meu namorado, Matheus, que nunca desacreditou que eu seria capaz. Eu te amo.

Um agradecimento mais que especial aos meus amigos, Larissa Maruggi e Leonardo Zion que também me apoiaram durante toda a graduação e estágio, não só nesses últimos tempos. Ao Felipe Toniato, toda a minha gratidão e amor, por me dar os melhores conselhos, por me acalmar e por me ajudar em todas as etapas. Obrigada pela parceria de todos esses anos.

Por último e não menos importante, quero agradecer imensamente ao meu orientador, Prof. Dr. Fábio Mitsuo Lima, por ter aceitado me guiar de forma ilustre nesse trabalho tão importante e por ter tido a paciência e nunca ter desistido.

RESUMO

O sistema imune tem um papel importantíssimo na luta contra os agentes internos e externos que podem chegar a invadir o nosso corpo. Sabe-se que sua atuação não é restrita somente a estímulos externos, mas a estímulos internos também, dentre eles as formações de células neoplásicas. Todas as células trabalham em conjunto, para que haja a eliminação dessas células que são tão nocivas ao corpo humano. O bom entendimento das bases da imunologia, como as células que estão presentes, suas composições e suas funções, a separação da imunidade em inata e adaptativa, sendo esta última com uma outra importante separação entre imunidade celular e humoral, que podemos encontrar a ação mais direta dos linfócitos B e T. O sistema imune, é capaz de atuar em neoplasias como por exemplo o mieloma múltiplo, uma doença de caráter hematológico, que se desenvolve pela linfoproliferação de clones de plasmócitos na medula óssea. O diagnóstico da doença se dá pela junção de diversos fatores avaliados no paciente, onde os resultados de exames, análises de histórico médico e os sintomas citados resultam na posituação da suspeita. Um dos tratamentos que podem ser utilizados a essa doença é a técnica de CAR-T Cell, uma técnica de engenharia genética, onde as células T são modificadas para que consigam atingir um antígeno específico e então gerar um prognóstico melhor de vida para os pacientes.

ABSTRACT

The immune system plays a very important role in the fight against internal and external agents that can invade our body. It is known that its performance is not restricted only to external stimuli, but also to internal stimuli, including the formation of neoplastic cells. All cells work together to eliminate those cells that are so harmful to the human body. A good understanding of the basis of immunology, such as the cells that are present, their compositions and their functions, the separation of innate and adaptive immunity, being another important separation between cellular and humoral immunity, which we can find the most effective action of B and T lymphocytes. The immune system is capable of acting on neoplasms such as multiple myeloma, a hematological disease that develops through the lymphoproliferation of plasma cell clones in the bone marrow. The diagnosis of the disease is made by the combination of several factors evaluated in the patient, where the results of exams, analyzes of medical history and the mentioned symptoms result in the positive result of the suspicion. One of the treatments that can be used for this disease is the CAR-T Cell technique, a genetic engineering technique, where T cells are modified so that they can reach a specific antigen and then generate a better prognosis for patients.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	9
2. OBJETIVO	10
3. METODOLOGIA	11
4. DESENVOLVIMENTO	12
4.1 O Sistema Imune	12
4.1.1 Imunidade Humoral	15
4.1.2 Desenvolvimento de célula B	16
4.1.3 Imunidade Celular	17
4.1.4 Desenvolvimento da célula T	17
4.1.5 Resposta imune aos tumores.....	19
4.2 Mieloma Múltiplo	20
4.2.1 Definição	20
4.2.2 Epidemiologia.....	22
4.2.3 Fisiopatologia	23
4.2.4 Sinais e Sintomas.....	26
4.2.5 Diagnóstico	26
4.2.6 Tratamento	33
4.3 CAR-T Cell.....	34
4.3.1 Definição	34
4.3.2 Evolução	35
4.3.3 Produção e Funcionamento	38
4.3.4 Aplicações.....	40
4.3.5 Riscos e benefícios	41
4.3.6 Experimentos realizados	42
5. CONCLUSÃO	44
6. REFERÊNCIAS.....	45

1. INTRODUÇÃO

O mieloma múltiplo (MM) é um tumor progressivo e incurável da medula óssea, e caracteriza-se pela linfoproliferação, ou seja, as células plasmocitárias de um clone único, tem uma proliferação desregulada dos plasmócitos de células B. Esses clones são produtores da proteína M, que também pode ser denominada de paraproteína ou pico-M e podem desencadear uma disfunção nos órgãos. (FARIA, 2007).

O diagnóstico tardio da doença acaba por se tornar um problema de suma importância na questão da sobrevida apresentada pelos pacientes, visto que esta sobrevida é pequena. (AHLERT, 2013).

São muitos os critérios que devem ser levados em consideração para o diagnóstico de MM como por exemplo a presença de múltiplas lesões osteolíticas, biópsia para identificação de uma população atípica de linfócitos, presença de amilóide e produção anormal de imunoglobulinas. Os testes laboratoriais para confirmação deste diagnóstico devem incluir hemograma, mielograma, imunofenotipagem, eletroforese, dosagem sérica e exame de urina. (SILVEIRA, 2005).

A escolha do tratamento para os pacientes depende de sua elegibilidade para o transplante autólogo de células-tronco hematopoiéticas, levando em consideração diversos fatores. O tratamento da doença tem tido uma expansão, pois temos a ampliação das classes terapêuticas de fármacos que são eficazes. O principal desafio encontrado nos dias atuais para tratamento é o aumento do tempo de remissão da neoplasia, visto que o objetivo é atingir um período maior ou igual a pelo menos 4 anos. (TORREZINI, 2008).

Uma das imunoterapias que podem ser utilizadas, devido ao avanço da engenharia genética, é denominada de células CAR-T, onde são retirados os linfócitos TCD8+ do próprio paciente e realizado uma modificação genética para que a célula então seja capaz de reconhecer os antígenos de superfície tumoral. (ROCHA, 2018).

2. OBJETIVO

Apresentar a doença Mieloma Múltiplo (MM) e a técnica de CAR-T cell como um todo, dando ênfase ao tratamento da doença em questão, com a síntese das informações e averiguação da possibilidade de um tratamento que seja mais efetivo para o futuro.

3. METODOLOGIA

Foi realizado levantamento bibliográfico em bases de dados científicos virtuais como Google acadêmico, Scielo, PubMed em revistas, artigos e livros específicos sobre os assuntos, para gerar maior conhecimento sobre a doença e a técnica, tendo como base sempre o tratamento da neoplasia em específico e o desenvolvimento da técnica de células CAR-T até o momento e perspectivas futuras. A busca foi feita por meio de termos como CAR-T cells, mieloma múltiplo e terapia imunocelular, nas línguas português e inglês, no período de 1999 a 2022.

4. DESENVOLVIMENTO

4.1 O Sistema Imune

O sistema imunológico é um conjunto não só de células, mas também tecidos e moléculas que fazem a mediação da resistência às infecções. A reação coordenada das moléculas presentes nesse sistema, é denominada de resposta imunológica. (ABBAS; LICHTMAN, 2009).

Esse sistema demonstra sua grande importância, quando realizamos a observação de indivíduos que por algum motivo apresentam essa resposta defeituosa. É possível mensurar que estes são mais frequentemente susceptíveis a infecções sérias. (ABBAS; LICHTMAN, 2009).

Ele consegue realizar a inativação ou destruição de micro-organismos invasores bem como agir contra a transformação de células malignas. A população presente nesse sistema, em sua maioria, é formada por proteínas, que chegam a representar até 25% das células plasmáticas e até 15% das proteínas celulares corporais. (MARTÍNEZ; ALVAREZ-MON, 1999).

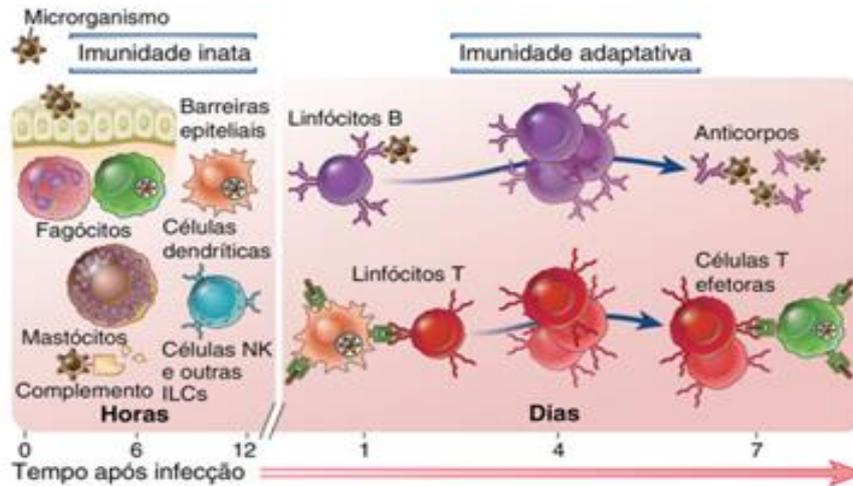
São dois os tipos de imunidade da qual podemos classificar: imunidade inata, que é responsável pela proteção inicial das infecções e a imunidade adaptativa, que é responsável pela defesa mais tardia e também tem um desenvolvimento mais lento. (ABBAS; LICHTMAN, 2009).

As proteínas do sistema complemento, citocinas, monócitos, linfócitos NK, macrófagos são alguns dos exemplos de células que compõem a imunidade inata, todas elas permanecem inalteradas mesmo quando são ativadas para realizar a eliminação de algum patógeno, independente da quantidade de vezes em que atuarem. (AYRES, 2017).

Além das proteínas anteriormente citadas, as barreiras internas e externas como a pele, mucosas, pelos e reflexos de tosses e espirros, também fazem parte dessa imunidade, auxiliando e sendo efetivas quanto aos agentes infecciosos. (BARARDI *et al.*, 2010).

Somente quando a imunidade inata não é eficaz, é que é acionado outro tipo de imunidade, visando gerar uma maior efetividade e especificidade na resposta ao invasor. (AYRES, 2017).

Figura 1 - Imunidade Inata e Imunidade Adaptativa

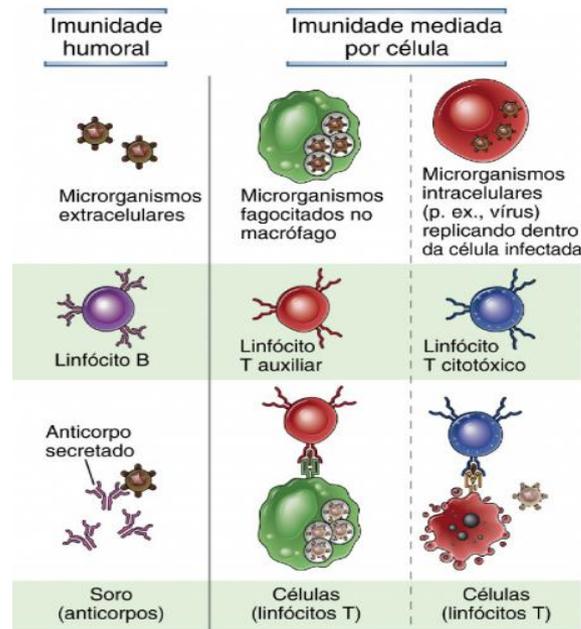


Fonte: ABBAS; LICHTMAN, 2009.

A imunidade adaptativa é estimulada pelos micro-organismos que invadem os tecidos, estes se adaptam à presença desses invasores e é formada pelos linfócitos e seus produtos. Esses linfócitos expressam receptores que reconhecem, com especificidade, diversas estruturas chamadas de antígenos. Essa imunidade só vai agir se o micro-organismo ultrapassar a barreira epitelial e for de encontro aos órgãos linfóides. (ABBAS, LICHTMAN, 2009).

Essa imunidade também pode ser separada em dois tipos: imunidade humoral e imunidade celular. Ambas são mediadas por células e moléculas diferenciadas, lançadas ao sistema para proteger contra micro-organismos extracelulares e intracelulares, respectivamente. (ABBAS, LICHTMAN, 2009).

Figura 2 - Tipos de imunidade adaptativa



Fonte: ABBAS, LICHTMAN, 2009.

Os anticorpos são os produtos gerados pela resposta imunológica, eles são altamente específicos e preparados para detectar uma vasta quantidade de moléculas em todo o corpo, seja na circulação ou nos tecidos. (ABBAS; LICHTMAN, 2009).

Os anticorpos advêm de proteínas solúveis separadas das globulinas presentes no sangue. Essas globulinas são divididas em frações, sendo a gamaglobulina em maior quantidade. (BARARDI *et al.*, 2010).

Quadro 1 – Diferenciação das Imunoglobulinas

IgA	IgD	IgM	IgG	IgE
Presente em secreções. Importante na imunidade presente nas mucosas pois protege contra a invasão de micro-organismos tanto no gastrointestinal	Encontrada na superfície das células B. Promovem a ativação desse linfócito, sinalizando que existe a necessidade de resposta para que haja diferenciação e produção de	Diretamente relacionada a infecções ou reações recentes quanto a substâncias potencialmente nocivas. Se mantém no corpo apenas durante os primeiros dias da infecção.	Ligada a reações antigas ou células de memória. Presente no sangue circulante, após o segundo contato com o antígeno. É a única com a capacidade de	Diretamente ligada as reações alérgicas. Responsável pela neutralização de vermes e parasitas que posteriormente serão destruídos pelos eosinófilos.

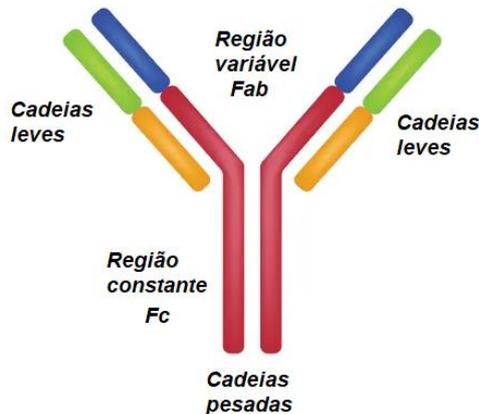
quanto no respiratório.	IgM através dos plasmócitos.		atravessar a placenta.	
-------------------------	------------------------------	--	------------------------	--

Fonte: Criado pelo autor.

A clivagem da molécula de imunoglobulina é feita através da enzima papaína, que a divide em 3 fragmentos. Foi observado que 2 desses fragmentos expressavam alta especificidade por se ligar aos antígenos. Denominados de Fab (fragmentos ligantes de antígenos) e Fc (fragmentos cristalizáveis) que são responsáveis pelas funções biológicas do anticorpo. (BARARDI *et al.*, 2010).

Todas as imunoglobulinas têm uma estrutura básica, com cadeias leves e pesadas, sendo duas de cada. Essas também apresentam outras duas regiões denominadas de regiões variáveis e constantes. (MAYER, s.d).

Figura 3 – Estrutura das imunoglobulinas



Fonte: Criado pelo autor.

4.1.1 Imunidade Humoral

Trata-se da resposta imunológica que é exercida pelas moléculas presentes no sangue, denominados de anticorpos, que são produzidos pelas células B. (AYRES, 2017). Recebeu esse nome pois em latim *humore* significa líquido, fluido que é o local onde estes anticorpos atuam, como por exemplo linfa e sangue.

Esses anticorpos têm a principal função de impedir que os micro-organismos localizados ao lado de fora das células colonizem os tecidos, evitando que a infecção se estabeleça no hospedeiro, porém não tem a capacidade de eliminar os micro-organismos que já se apresentam dentro das células. (ABBAS, LICHTMAN, 2009).

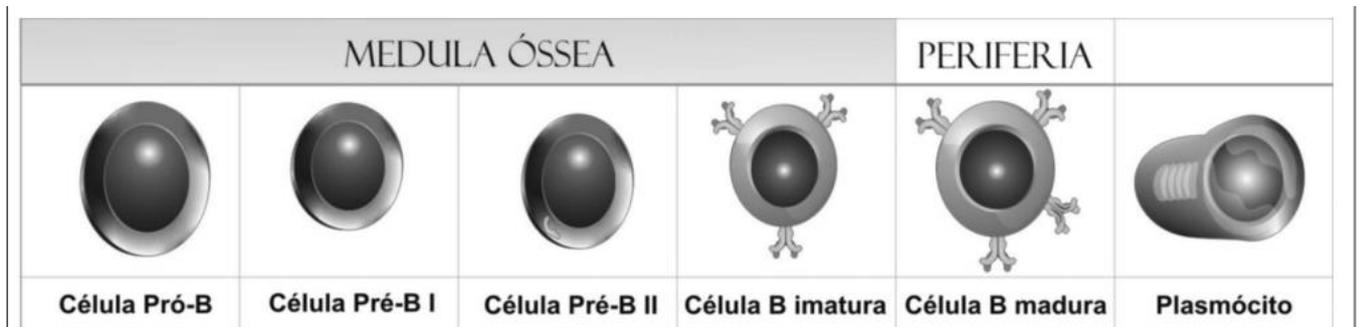
4.1.2 Desenvolvimento de célula B

As células que irão se diferenciar em linfócitos B, tem sua maturação na própria medula óssea e só a deixam quando estão no final de sua maturação, migrando para os órgãos linfóides secundários. (JÚNIOR, *et al.* 2010).

As células pró-B são as que dão origem a maturação da célula B. São três os genes necessários para a realização da maturação da célula, onde os mesmos se reorganizam para poder produzir as imunoglobulinas. (JÚNIOR, *et al.* 2010).

Os linfócitos B quando ativados se diferenciam em plasmócitos, que darão origem às diferentes classes de anticorpos que também têm diferentes funções. (ABBAS, LICHTMAN, 2009). Essas células plasmáticas também podem ser chamadas de plasmócitos e necessitam de ajuda da célula T efetora ou TCD4+, que expõe a formação do BCR, um receptor de antígeno, que fica ligado à membrana da célula B. (TEVA, *et. al.*).

Figura 4 - Desenvolvimento da célula B

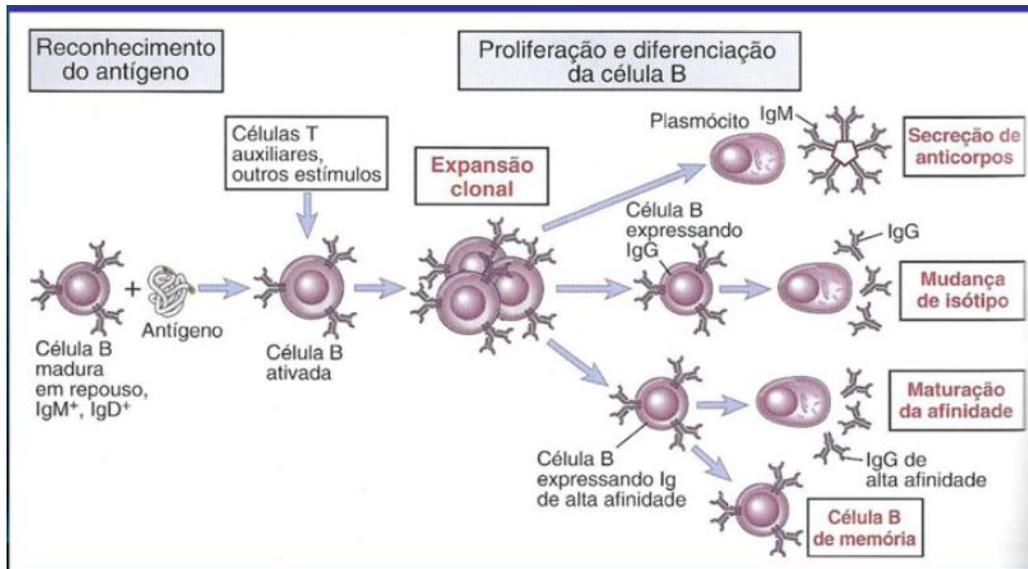


Fonte: MESQUITA JÚNIOR, *et al.*, 2010.

O complexo BCR que é ativado pelo epítipo dos antígenos que entrou em contato com o plasmócito, desencadeia uma série de eventos intracelulares que geram o reconhecimento do antígeno, mas também é necessário um segundo sinal ativador. (MESQUITA JÚNIOR, *et. al.*, 2010).

Além do BCR e da imunoglobulina, nesse processo de ativação, uma fosforilação é feita para ativar enzimas e intermediários bioquímicos que ativam fatores de transcrição para ativar a célula B. De modo que, após esses eventos a imunidade humoral será ativada pela produção de citocinas pelos linfócitos T auxiliares. (MESQUITA JÚNIOR, *et. al.*, 2010).

Figura 5 - Ativação da célula B



Fonte: ABBAS, LICHTMAN, 2009.

4.1.3 Imunidade Celular

É o tipo de defesa que age contra os micro-organismos intracelulares, mediada pelas células T. Esses reconhecem os antígenos que são produzidos somente via intracelular. Diferentemente do vasto reconhecimento das células B, na imunidade celular, a célula T somente reconhece antígenos proteicos. (ABBAS, LICHTMAN, 2009).

4.1.4 Desenvolvimento da célula T

As células que darão origem a célula T tem sua seleção e maturação no timo, e, posteriormente, migram para a medula óssea para que seja distribuída para a circulação. Esse processo envolve dois receptores denominados de TCR e dois co-estimuladores: CD4⁺ e CD8⁺. (MESQUITA JÚNIOR, *et. al.*, 2010).

Os TCR's não são secretados, dessa forma, para que haja ação da célula T, ele deve migrar até o local da lesão e ter o contato direto com a célula alvo. (TEVA, *et. al.*).

O processo de seleção no timo ocorre em etapas e também pode ser denominado de educação celular, ou seleção positiva e negativa. (BARARDI *et al.*, 2010). Todo esse processo de maturação no timo, se dá pelo fato de tentar selecionar o máximo de linfócitos possíveis que sejam tolerantes aos receptores próprios e que

tenham a capacidade de reconhecer antígenos estranhos que possam ser apresentados pelo MHC próprio. (MESQUITA JÚNIOR, *et. al*, 2010).

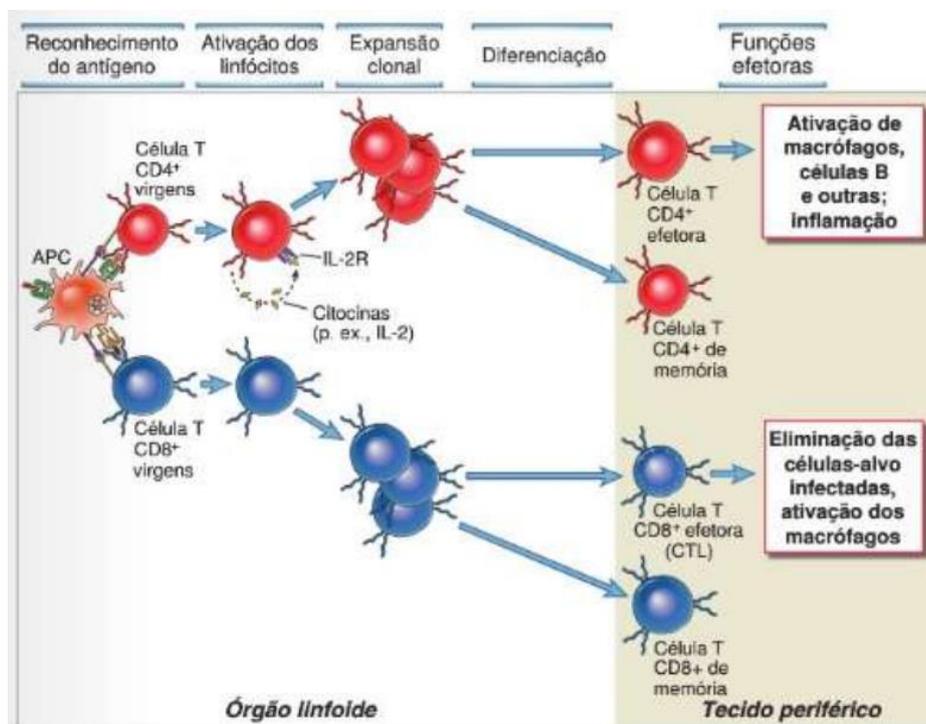
Os linfócitos imaturos, ainda dentro do timo, têm uma mudança na cadeia do TCR, expressando baixos níveis de CD4 e CD8, sendo neste momento apresentados a antígenos próprios das células epiteliais. (MESQUITA JÚNIOR, *et. al*, 2010).

Denominada de seleção positiva, é necessário que esses linfócitos reconheçam as moléculas presentes no MHC que estão presentes no epitélio tímico. A interação do linfócito com uma molécula de MHC tipo I, o torna um linfócito T CD8+, já a interação com a molécula de MHC tipo II, o torna um linfócito T CD4+.

(BARARDI *et al.*, 2010).

Dando continuidade ao processo, apenas os linfócitos que expressam somente CD4 ou CD8, são testados e apresentados a células dendríticas e macrófagos, e então as que são capazes de reconhecer, mas sem muita afinidade, seguem o processo. Todos os linfócitos nessa seleção que interagirem com afinidade exacerbada sofrem o processo de apoptose, na fase denominada de seleção negativa. (MESQUITA JÚNIOR, *et. al*, 2010).

Figura 6 - Ativação da célula T



Fonte: ABBAS, LICHTMAN, 2009.

4.1.5 Resposta imune aos tumores

Citados todos os papéis do sistema imune, a última relação que temos que considerar é como ela atua contra tumores. Embora tenhamos algumas evidências que afirmam que o sistema imune consegue atuar contra essas células, os estudos se baseiam em experimentos com animais. (GHAFFAR; NAGARKATTI, s.d)

Praticamente todas as células do sistema imune tem um papel na defesa contra as células neoplásicas que podem porventura se formar no corpo. No entanto, focaremos nos papéis das células B e T. (Universidade Federal da Bahia, s.d).

As células T são o principal mecanismo de defesa conhecido. Elas têm atuação direta, com a apresentação do antígeno pelo MHC de classe I, fazendo com que as TCD8+ tenham sua ativação através das citocinas, no processo direto. Já no processo indireto, as células TCD4+ ativam outros componentes do sistema imune. (TORREZINI; ATHANAZIO, 2008).

Já a imunidade inata tem como principal fator as células NK, mas todas as células que participam dessa imunidade atuam de maneira importante. Os linfócitos granulares também atuam na morte das células neoplásicas matando-as *in vitro* sem ter que receber estímulos ou sensibilização. (TORREZINI; ATHANAZIO, 2008).

As células B tem sua atuação através da secreção dos anticorpos, com a produção principal da IgG, que ativam fazendo a fixação do sistema complemento ou promovendo a citotoxicidade mediada por anticorpo. (Universidade Federal da Bahia, s.d).

4.2 Mieloma Múltiplo

4.2.1 Definição

O mieloma múltiplo (MM), ou também conhecido como Doença de Kahler, é um tumor progressivo e incurável da medula óssea, de caráter hematológico, que caracteriza-se pela linfoproliferação, ou seja, as células plasmocitárias de um clone único ou imunoglobulina monoclonal, proliferam desreguladamente e acabam por produzir uma proteína denominada de proteína M, pela ação secretória das imunoglobulinas (Ig) monoclonais ou fragmentadas por essas células. (SILVA *et al.*, 2009; DAMICO, VILLAÇA, 2007; KLAUS *et al.*, 2009; SILVA, 2015).

O MM é geralmente precedido de Gamopatia Monoclonal de Significado Indeterminado e tem origem hematopoiética. Esses clones produtores da proteína M, que também pode ser denominada de paraproteína ou pico-M, podem desencadear uma disfunção nos órgãos, gerando reabsorção óssea e aumento na susceptibilidade a infecções. Essa proteína pode ser identificada em exames de sangue ou de urina. (BRASIL, 2015; MARQUES, 2013).

Os plasmócitos neoplásicos encontrados nessa neoplasia, sintetizam cadeias leves e pesadas das imunoglobulinas em excesso, ao contrário dos plasmócitos normais, que têm a produção dessas mesmas cadeias equilibradas.

O prognóstico do paciente, deve ser visto imediatamente após diagnóstico positivo. São conhecidos dois principais esquemas de estadiamento da doença, uma vez que esta se apresenta de forma bem heterogênea, com um curso variável. O primeiro sistema de estadiamento clínico, foi proposto por Durie & Salmon em 1975, que tem por base a combinação dos parâmetros laboratoriais com o tamanho da massa tumoral encontrada, permitindo que haja sua quantificação. (SILVA, 2015; PAULA E SILVA *et. al*, 2009). O segundo sistema, e mais atual, denominado Sistema Internacional de Estadiamento (ISS), classifica os grupos de acordo com dois parâmetros em 3 grupos diferentes. (SILVA, 2015; PAULA E SILVA *et. al*, 2009).

Tabela 1 - Sistema de Estadiamento de Durie & Salmon

Estádio	Crítérios
I	Baixa massa tumoral ($< 0,6$ células $\times 10^{12}/m^2$) Todos os seguintes: Hb > 10 g/dl; cálcio normal IgG < 5 g/dl, IgA < 3 g/dl. Proteína urinária monoclonal < 4 g/24h Ausência ou lesão óssea única
II	Intermediário (entre os estádios II e III)
III	Alta massa tumoral ($1,2$ células $\times 10^{12}/m^2$) Qualquer um dos seguintes: Hb $< 8,5$ g/dl; cálcio > 12 mg/dl; IgG > 7 g/dl, IgA > 5 g/dl; proteína urinária monoclonal > 12 g/24h Múltiplas lesões osteolíticas, fraturas
Subclasse	A - se creatinina < 2 mg/dl B - se creatinina ≥ 2 mg/dl

Fonte: MARTINEZ, 2007.

Nesse sistema de estadiamento, é determinado a associação da massa tumoral com a creatinina sérica, sendo um indicador de sobrevida, o estágio I demonstra uma massa celular baixa, no estágio II a massa celular passa a ser intermediária e no estágio III essa massa encontra-se elevada. As subclasses foram classificadas em A e B, onde A existe uma função renal relativamente normal e B essa função já está alterada para a anormalidade. (PINHO, 2016; MARTINEZ, 2007).

A correlação feita por esse sistema, determina a chance de sobrevida do paciente e também a chance que ele tem de resposta à quimioterapia. (BRASIL, 2015).

Tabela 2 - Sistema de Estadiamento Internacional para o Mieloma Múltiplo

Estadio	Concentração dos Componentes no Soro
I	β 2-microglobulina \leq 3,5 mg/L e albumina \geq 3,5 g/dL
II	β 2-microglobulina $<$ 3,5 mg/L e albumina $<$ 3,5 g/dL, ou β 2-microglobulina 3,5–5,5 mg/L
III	β 2-microglobulina $>$ 5,5 mg/L

Fonte: MARQUES, 2013

O segundo sistema, e mais atual, denominado Sistema Internacional de Estadiamento (ISS), classifica os grupos de acordo com dois parâmetros em 3 grupos diferentes. (SILVA, 2015; PAULA E SILVA *et. al*, 2009). Essa classificação mostra o prognóstico mais acurado do que o anterior e a presença da hipercalcemia é um fator independente do prognóstico. (BRASIL, 2015).

4.2.2 Epidemiologia

A incidência da doença aumenta com a idade, e a idade média de diagnóstico é por volta dos 70 anos. (SILVA, 2015). A doença mostrou-se duas vezes maior em negros do que na população caucasiana e também mais incidente em homens do que em mulheres, sendo prevalente em países mais desenvolvidos. Dados dos EUA mostram a comparação de 1975 para 2011, onde essa incidência aumentou de 4,9 para 7,4 casos por 100 mil habitantes por ano. (BRASIL, 2015; SILVA, 2015).

A idade, gênero, raça, dieta com baixo consumo de frutas, obesidade, infecções virais, HIV, herpes vírus e a hepatite C, são outros fatores de risco que são colocados à prova para a predisposição à doença. A exposição a radiações ionizantes também

pode estar relacionada à origem do MM. (LEITE, 2017).

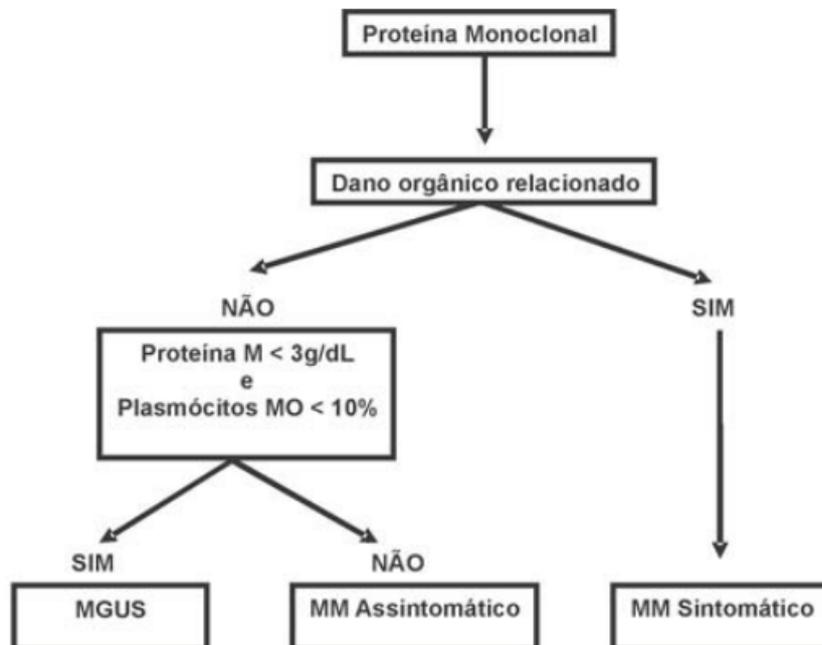
Dados epidemiológicos do Brasil ainda são escassos, somente temos conhecimento da incidência de dados de 1991 a 1995 pelo IBGE da cidade de Campinas que demonstraram taxa bruta para ambos os sexos de 1,7 para 100 mil habitantes. (BRASIL, 2015). Em 2018 foi estabelecida uma taxa de mortalidade de 2,7 por 100 mil habitantes. A causa de mortalidade e morbidade variam de acordo com a idade e as complicações que mais se apresentam nos pacientes, como por exemplo a perda de massa óssea que geram eventos esqueléticos. (MALTA, 2020).

Apesar das diferenças na prevalência e incidência, características da doença e o que desencadeou, o tratamento e prognóstico são semelhantes em todo o mundo. (SILVA, 2015).

4.2.3 Fisiopatologia

Pelo fato de a doença ser precedida da gamopatia, ela também pode apresentar-se em um estado intermediário, onde o MM é assintomático. Especula-se que o desenvolvimento desses clones tumorais sejam consequência de alterações genéticas cumulativas e múltiplas. (MARQUES, 2013).

Figura 7 - Fluxograma de diferenciação do mieloma múltiplo e outras gamopatias monoclonais

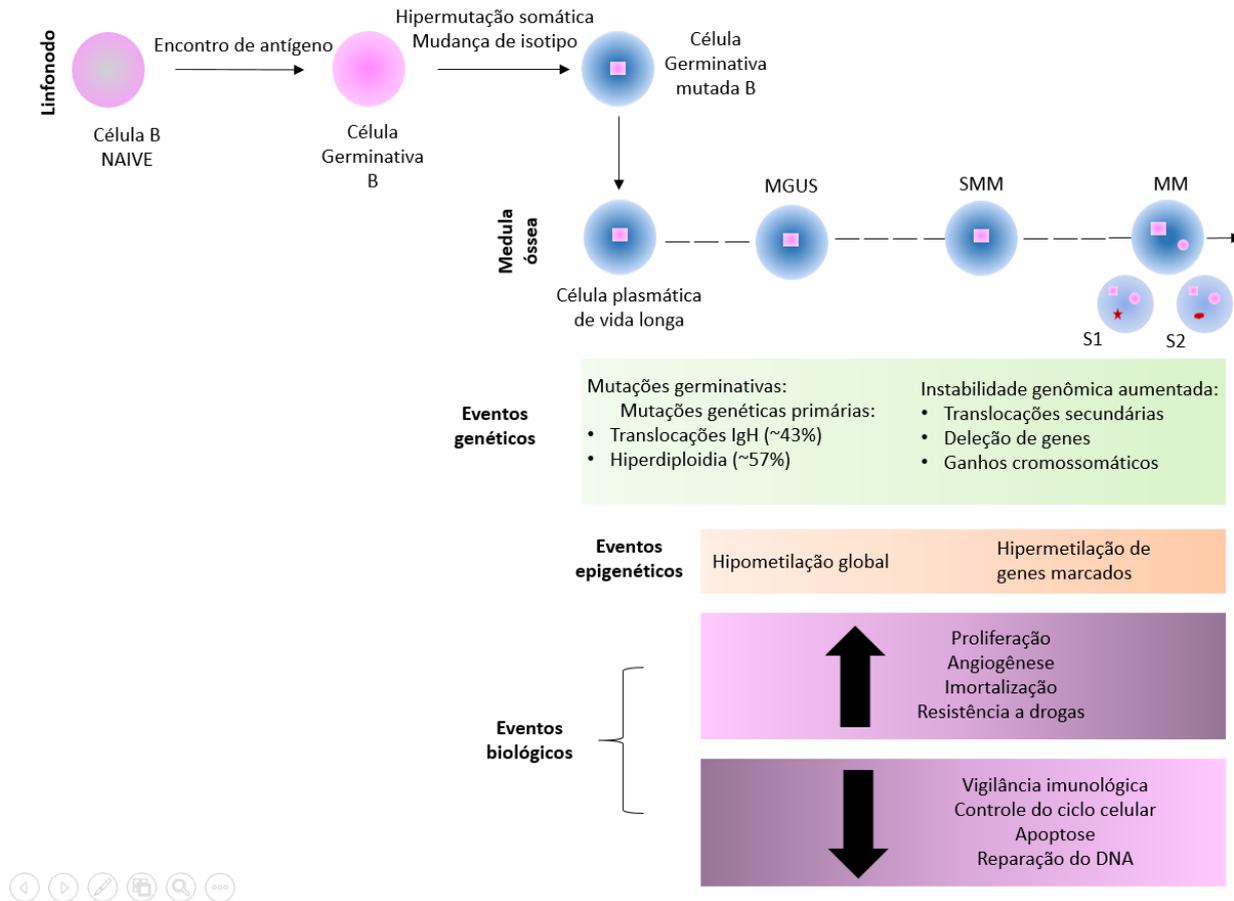


Fonte: FARIA *et al.*, 2007.

Sua patogenia, caracteriza-se através da ligação de células de adesão de superfície, conhecidas como células do estroma da medula óssea e à matriz extracelular, levando a algumas alterações no ambiente da medula que resultam na indução de uma angiogênese, uma supressão da imunidade mediada por células e o desenvolvimento de vias de sinalização que desencadeiam o uso de citocinas, como por exemplo a IL-6. (SILVA, 15).

Essa transformação ocorre nas células de vida longa do plasma e um subconjunto da produção de anticorpos para essas células que moram e sobrevivem na medula óssea por anos, contribuindo para a memória imunológica.(BIANCHI; ANDERSON, 2014).

Figura 8 - Proliferação anormal das células B no MM



Fonte: Adaptado de BIANCHI; ANDERSON, 2014.

Legenda: MGUS: Gamopatia monoclonal de significância indeterminada. SMM: Mieloma Múltiplo Assintomático. MM: Mieloma múltiplo.

Essas células malignas que são desenvolvidas no MM, acabam por ocupar o espaço das células hematopoiéticas que estão na medula e liberam substâncias que inibem a proliferação dos eritroblastos, podendo gerar uma anemia ou em casos graves uma pancitopenia. (SANTOS, s.d) Todas essas alterações geradas, tem responsabilidade sob a persistência do tumor e por sua resistência aos fármacos. (SILVA, 15). A doença tem como premissa afetar principalmente a medula óssea, mas em seus estágios tardios pode afetar também outros órgãos como baço e fígado. (LEITE, 2017).

4.2.4 Sinais e Sintomas

Sendo considerado a principal gamopatia monoclonal, o MM se manifesta como massas tumorais espalhadas pelo sistema esquelético, porém a doença também pode se espalhar para os linfonodos e sítios extranodais, como por exemplo a pele, mas este somente em fases mais tardias. (ABBAS *et al.*, 2010).

Sendo assim, a principal manifestação óssea relatada pelos pacientes é a dor nas costas e a fadiga, dois sintomas que impactam seriamente na qualidade de vida dos doentes. (LEITE, 2017). As lesões são iniciadas na cavidade medular e corroem o osso esponjoso, levando a sua destruição, afetando comumente os ossos da coluna vertebral, costelas, crânio, pelve, fêmur, clavícula e escápula. (ABBAS *et al.*, 2010).

Além desses sintomas, a presença da anemia, que mantém o paciente fraco e letárgico, a mais comum é a normocítica e normocrômica. A desregulação dos fatores de coagulação, deficiência da função plaquetária e hemólise, advindas desse tipo de anemia, geram uma tendência para sangramentos anormais. (LEITE, 2017).

Sintomas como vômitos, constipação, anorexia e distúrbios mentais são referentes a insuficiência renal e a hipercalcemia. Outra manifestação recorrente presente entre os sintomas dos pacientes são as infecções, pela consequência da falta de produção das Igs competentes que os deixam imunodeprimidos. (LEITE, 2017).

4.2.5 Diagnóstico

A base do diagnóstico se dá pela análise conjunta entre a avaliação física, história clínica, sinais e sintomas apresentados e os resultados dos testes bioquímicos, hematológicos e imunológicos. (LEITE, 2017).

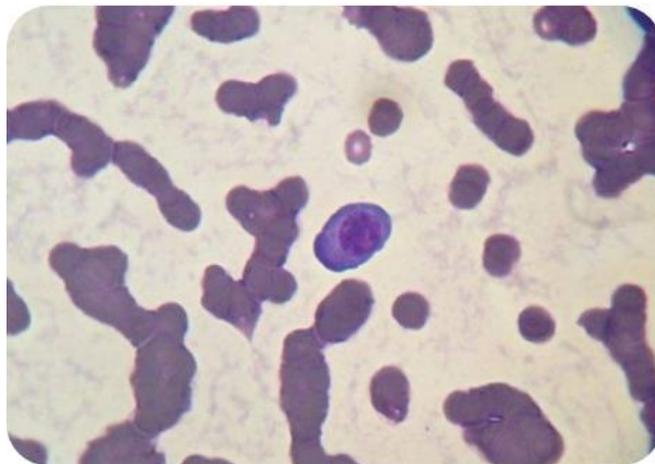
São muitos os critérios que devem ser levados em consideração para o diagnóstico de MM como por exemplo a presença de múltiplas lesões osteolíticas, biópsia para identificação de uma população atípica de linfócitos, presença de amilóide e produção anormal de imunoglobulinas. Os testes laboratoriais para confirmação deste diagnóstico devem incluir hemograma, mielograma, imunofenotipagem, eletroforese, dosagem sérica e exame de urina. (SILVEIRA, 2005).

O hemograma é o primeiro exame que deve ser realizado, apresenta-se

normalmente com uma anemia normocítica e normocrômica, com a presença de alguns eritroblastos circulantes. O leucograma, pode apresentar-se de forma variada, podendo estar normal, aumentado ou diminuído e neutrófilos jovens e mieloblastos podem também estar presentes. (ARRUDA, s/d).

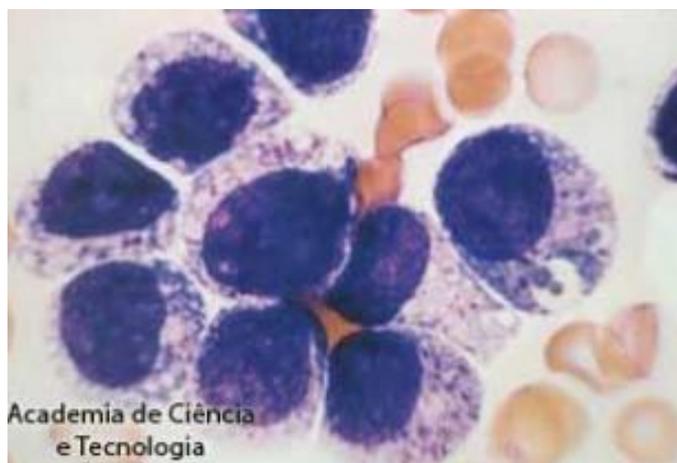
O principal achado da extensão em lâmina de pacientes é a quantidade acentuada de formação de *rouleaux*, um empilhamento de hemácias, podendo dificultar a contagem de células. Em casos onde a medula está muito infiltrada também é possível observar uma reação leucoeritroblástica com normoblastos dispersos, formas mielóides imaturas e plaquetas anormais e grandes. (ARRUDA, s.d).

Figura 9 - Formação de *rouleaux*



Fonte: MATIAS; NAOUM, 2019

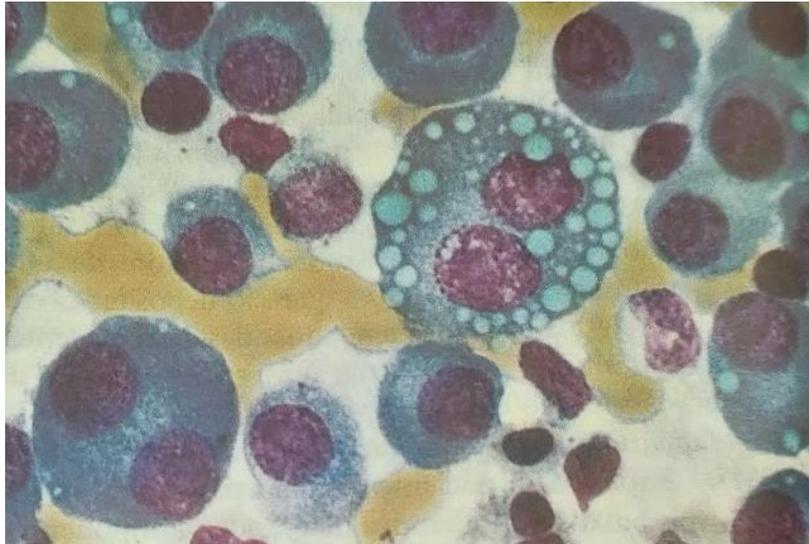
Figura 10 - Plasmócitos em sangue periférico



Fonte: Academia de Ciência e Tecnologia

Para o mielograma, faz-se um aspirado de medula óssea demonstrando presença de plasmócitos atípicos, mostrando que as células normais são substituídas por plasmócitos com várias formas de núcleos, cromatina anormal, nucléolos evidentes e citoplasma azul mais claro. (ARRUDA, s.d; ABBAS *et al.*, 2010).

Figura 11 - Aspirado da medula óssea



Fonte: ABBAS *et al.*, 2010.

Segundo Marques (2013), a análise de 89 doentes, indicou uma percentagem de 70% que apresentou o sintoma de dor óssea.

Imagens radiográficas de vários ossos do corpo são importantes auxiliadoras na conclusão diagnóstica de MM, pois por elas é possível analisar a seriedade da doença pelo grau de envolvimento destes ossos. A radiografia convencional é utilizada comumente, porém para uma melhor visualização das lesões pode-se também submeter o paciente aos exames de ressonância magnética e tomografia computadorizada. (SILVEIRA, 2005).

Figura 12 - Radiografia de crânio com lesões líticas na calota craniana



Fonte: MUSTAFA *et al.*, 2020.

No estudo de Marques (2013) 89% dos pacientes apresentaram essas alterações radiográficas e 76% possuíam duas ou mais lesões osteolíticas. Essas lesões ósseas do crânio e a desmineralização do osso aparecem nas radiografias.

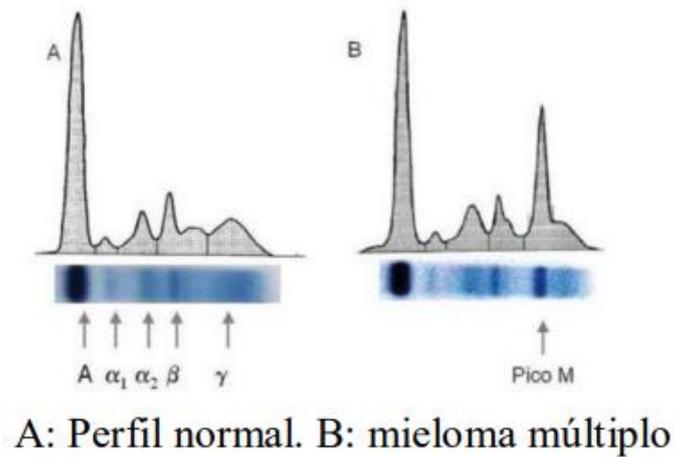
O diagnóstico de MM conta com a presença de lâminas difusas uniformes ou agregados nodulares de plasmócitos na MO, a presença do componente M apresenta-se significativo na urina acima de 150mg/dl. (SANTOS, s.d).

A eletroforese de proteínas é um exame que detecta proteínas monoclonais específicas. Ela é um método sensível, capaz de detectar a proteína M que é encontrada como principal fator na doença. (ARRUDA, s.d).

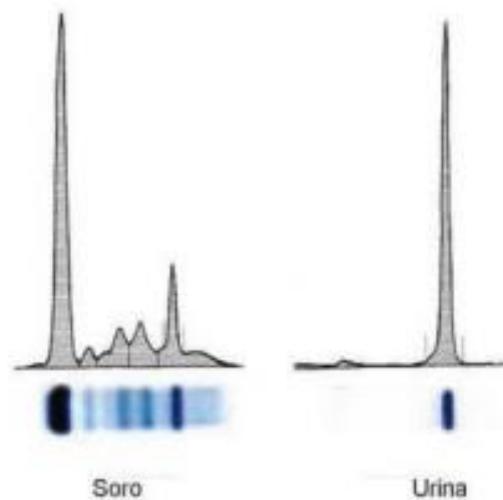
É realizada em gel de agarose ou capilar e consegue detectar a proteína tanto em sangue quanto em urina, separados por suas cargas elétricas. No resultado para o MM, aparece um aumento significativo na região gama, indicando um pico

monoclonal, que é originário dos clones de apenas um plasmócito que secreta também apenas uma imunoglobulina. (BATISTA, 2020).

Figura 13 - Eletroforese de proteínas



Fonte: BOTTINI, 2007.

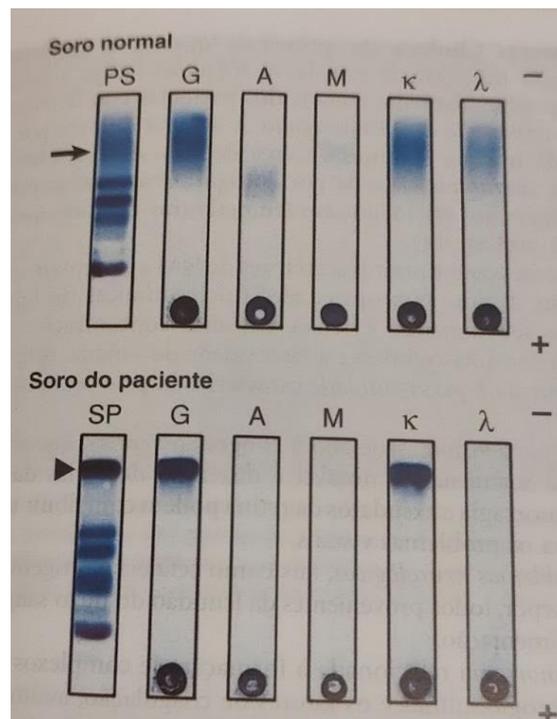


Fonte: BOTTINI, 2007.

Na figura abaixo podemos notar a imunoglobulina mais comum, IgG policlonal, como uma larga banda, diferente do que podemos observar no caso do paciente, que aparece somente uma banda proteica. A imunoglobulina suspeita, pode ser confirmada por um outro exame chamado de imunofixação, que é responsável por

caracterizar essa imunoglobulina, de acordo com suas cadeias leves e pesadas. (ABBAS *et al.*, 2010; ARRUDA, s.d).

Figura 14 - Eletroforese de proteínas



Fonte: ABBAS *et al.*, 2010.

A proliferação de plasmócitos clonais pré-neoplásicos é a primeira etapa de desenvolvimento do MM. Como a predisposição genética, proveniente da incidência de parentes de primeiro grau, essas anormalidades cromossômicas como translocações, trissomias e monossomias têm um papel importante no desenvolvimento da doença. (SANTOS, s.d).

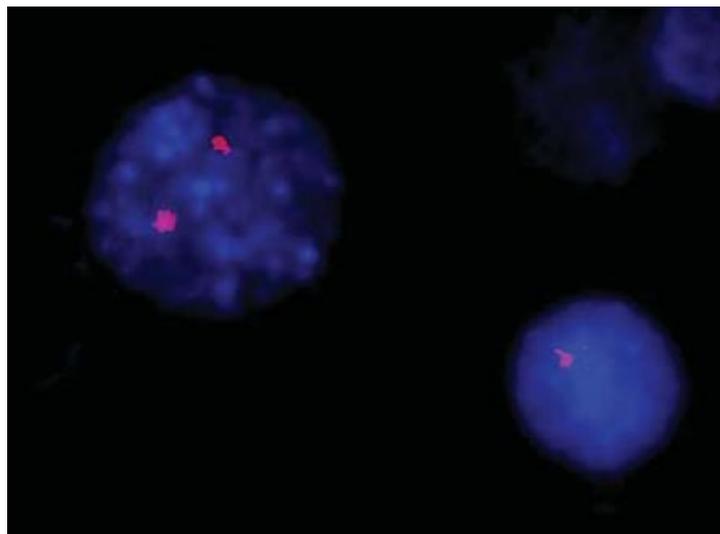
A identificação de alterações como: t(4;14), t(14;16), t(14;20) e a deleção do 17p, são interações designadas como alto risco para doença que podem ser identificadas por FISH ou a deleção do cromossomo 13 ou hipodiploidia por citogenética convencional. (SILVA, 2015).

Essas mudanças citogenéticas tem influência sobre a sobrevida geral e a livre progressão de sobrevida. No estudo dirigido por Avet-Loiseau *et al.* (2012) verificou-se a presença de del(13), t(4;14), del(17) e t(4:14), nos pacientes com MM.

O paciente que apresenta del(13) tem o prognostico piorado em comparação aos pacientes que não apresentam essa deleção. A combinação de del(13), del(17) e t(4;14), reduzem os dois parâmetros de sobrevida citados acima. Já, somente a t(11;14), tem o prognóstico neutro. A maioria dessas alterações citogenéticas mantém o parâmetro de prognóstico em aproximadamente 4 anos. (AVET-LOISEAU *et al.*, 2012)

Quando a informação das alterações citogenéticas está disponível, propõe-se classificar o paciente no estadiamento ISS, onde o grupo de baixo risco, se encontra diferenciado por idade de 55 anos, nas categorias I e II, mostrando a ausência de pelo menos 3 dos marcadores citogenéticos citados e a sobrevida é estimada de até 10 anos. Já no risco intermediário, a sobrevida é de 7 anos e são definidos como risco padrão. O grupo de alto risco, classifica-se com sobrevida de até 2 anos, nas categorias I e II do estadiamento ISS e a presença dos fatores citogenéticos citados. (BRASIL, 2015).

Figura 15 - Técnica de FISH



Fonte: FUNARI *et al.*, 2005. - célula normal com 2 sinais e a célula com deleção do 13q com apenas um sinal.

4.2.6 Tratamento

O tratamento da doença tem tido avanço, pois temos a ampliação das classes de fármacos terapêuticos que são eficazes. O principal desafio encontrado nos dias atuais para tratamento é o aumento do tempo de remissão da neoplasia, visto que o objetivo é atingir um período maior ou igual a pelo menos 4 anos. (MALTA, 2020). Associações com quimioterapia, transplante de medula óssea, modificador de resposta biológica e interferon-alfa, são exemplos que tem sido utilizado nas terapias recentes como tratamento de manutenção. (SILVEIRA, 2005).

A escolha do tratamento para os pacientes depende de sua elegibilidade para o transplante autólogo de células-tronco hematopoiéticas, levando em consideração diversos fatores. Caso o paciente não se enquadre para esta opção de tratamento, ele pode ser feito por meio de medicamentos, sejam eles combinados ou não. (MALTA, 2020).

O tratamento para a doença somente é aplicado quando existe a manifestação dos sintomas. Em casos assintomáticos onde a quimioterapia não foi eficiente, a observação clínica é o único aspecto a ser realizado. (SANTOS, s.d).

Diferentes técnicas foram aplicadas para o tratamento da doença ao longo dos anos, nas décadas de 50 e 60 eram utilizados corticoesteróides e Melfalan. A década de 80 foi marcada pelo papel principal do transplante autólogo de células hematopoiéticas, e nos anos 90 e início dos anos 2000 foram utilizados os imunomoduladores, como por exemplo, a Talidomida e a Lenalidomida, inibidores de proteassoma como o Bortezomib. (SILVA, 2015).

Novos medicamentos estão sendo utilizados e aprovados mais recentemente para casos de recidiva ou MM refratário ao tratamento prévio. Um novo inibidor de proteossoma como o Carfilzomib e um imunomodulador conhecido como Pomalidomida. (SILVA, 2015).

O transplante de células tronco hematopoéticas autólogo (TCTH) é o tratamento de referência para o MM, sendo este a principal recomendação para o início do tratamento. (SANTOS, s.d).

Existe uma maior chance de ter sucesso se esse transplante for realizado logo no começo do diagnóstico pois o paciente está com melhores condições físicas e

psicológicas e com isso há um aumento da tolerância para tratamentos mais agressivos. (BRASIL, 2015).

4.3 CAR-T Cell

4.3.1 Definição

Recentemente foi aprovado pelo FDA, *Food and Drug Administration*, um tratamento para doenças que envolviam células B, citando especificamente os linfomas e as leucemias, visto que já existem receptores montados com exclusividade para reconhecimento das moléculas de CD19 nesses linfócitos. Esse tratamento é realizado sob as células T autólogas, que expressam um antígeno quimérico, denominado de CAR. (JUNE, 2018).

Denominada de CAR, essa técnica é constituída de fragmentos variáveis de cadeia única, geralmente derivados de anticorpos, que são combinados com domínios de antígenos. (JUNE, 2018).

Essa transferência adotiva de células T esta sendo proposta e desenvolvida em três formas: TIL, TCR e CAR-T cell, todas com o objetivo de tratar o câncer. (JUNE, 2018).

O CAR-T cell compreende o campo de terapia celular adotiva, que se resume a receptores de antígenos quiméricos modificados, que geram uma empolgante previsão de cura do câncer, advinda da modificação das células T para que tenham especificidade e funcionalidades modificadas para que afetem uma célula em específico. (PEREIRA *et al.*, 2019).

Figura 16 - Imagem representativa de um receptor quimérico (CAR)



Fonte: CRUZ, 2017.

4.3.2 Evolução

O CAR-T tem sua evolução dividida em gerações, sendo o conceito base a clonagem da cadeia de CD3 no TCR, que era utilizada para ativar a independência das células T. (PEREIRA *et al.*, 2019).

A primeira geração advém da inclusão de apenas um fragmento variável de cadeia única, originado de inúmeras sequências de cadeias leves e pesadas de um anticorpo monoclonal específico para a molécula de superfície tumoral e sinalização de cadeia CD3 no domínio citoplasmático. (PEREIRA *et al.*, 2019).

Não existia uma produção suficiente de interleucina-2 (IL-2) e para matar o tumor e por isso, nesses casos era necessário administrar a IL-2 de maneira exógena. Em estudos clínicos realizados, notou-se que essas células foram mais efetivas na ativação dessas células T para matar o tumor, mas tiveram uma expressão pequena *in vitro*. (ZHANG, *et al.*, 2017).

No entanto, os primeiros estudos identificaram uma baixa sobrevivência *in vivo* e foi observado a necessidade de se ter sinais co-estimuladores, o que conseqüentemente levava a limitação da capacidade de proliferação dessas células, além do fato de que estas poderiam ser facilmente detidas na fase G-G1 do ciclo celular. (PEREIRA *et al.*, 2019).

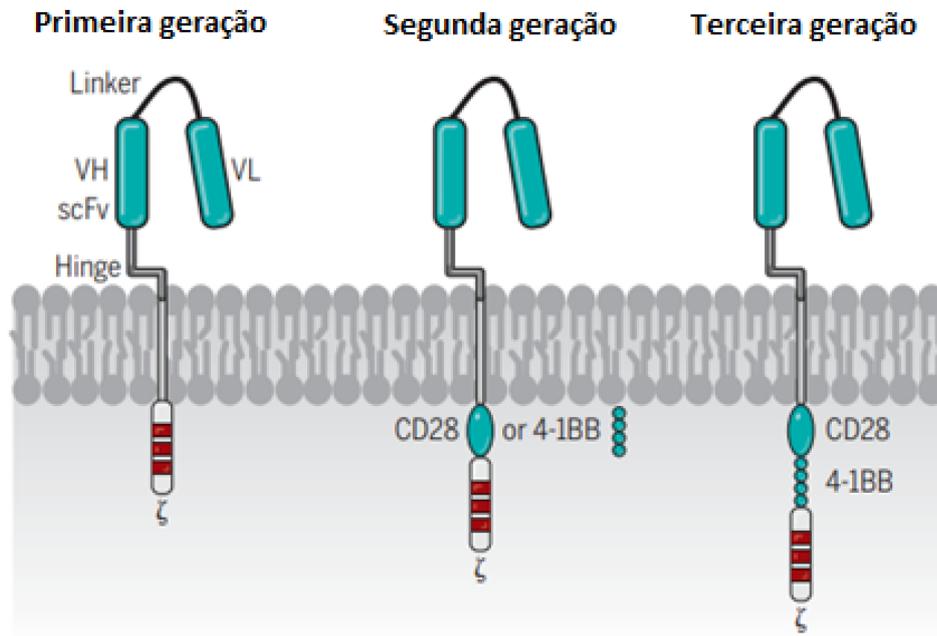
Foi a partir da segunda geração da técnica que houve a possibilidade de marcação da molécula de CD19 e a codificação dos domínios co-estimulantes, mostrando-se que com o uso da engenharia da célula T era possível liderar o paradigma da terapia do câncer. (JUNE, 2018).

Dois sinais são os responsáveis por realizar a ativação da célula T. O primeiro sinal baseado no receptor TCR que identifica o complexo apresentado pelo MHC. O segundo sinal é estimulatório que depende de uma conexão de CD28/B7, promovendo a síntese da IL-2 que completa o caminho para a ativação da célula T. (ZHANG, *et al*, 2017).

Na segunda geração, as células possuem uma modificação genética, baseada em anticorpos que se ligam as células-alvo, através de um receptor extracelular e possuem uma molécula co-estimulatória, adicionada a sua cauda citoplasmática. (PEREIRA *et al.*, 2019). Essa adição permitiu que nessa geração, as células CAR tivessem uma melhor proliferação e regulação, bem como aumentou-se a vida ativa das células *in vivo*. (ZHANG, *et al*, 2017).

Já na terceira geração, é possível observar a presença de mais de uma molécula co-estimulatória, que gera para essa célula uma persistência maior do que as outras células T, porém estudos ainda são necessários para dar a resposta se clinicamente a adição desse estímulo gera uma maior eficácia no tratamento. (PEREIRA *et al.*, 2019).

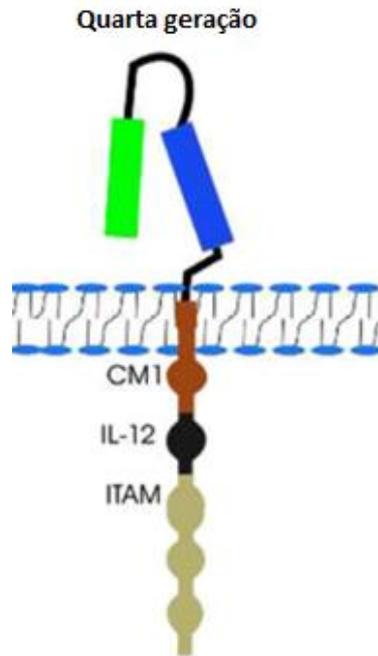
Figura 17 - Gerações do CAR-T



Fonte: Adaptado de JUNE, 2018.

Existe ainda a quarta geração das células CAR. Células essas que foram adicionadas IL-2 na base das células de segunda geração. Essas células ficaram conhecidas como *TRUCKs*, células T redirecionadas universalmente por morte mediada por citocinas. Essas *TRUCKs* aumentam a ativação das células T, além de atrair células imaturas do sistema imune que são capazes de eliminar as células alvo cancerosas. (ZHANG, *et al*, 2017).

Figura 18 - Quarta geração CAR-T



Fonte: Adaptado de ZHANG, *et al*, 2017.

A técnica de CAR-T foi a responsável por superar as limitações antes apresentadas pela engenharia genética do TCR. A imunoevasão do tumor se dá por conta do papel principal do MHC, que gera a perda de associação ao antígeno, deixando de ter a necessidade de expressão, identificação e coestimulação. Com o CAR é possível ter uma vantagem fundamental pois visa manter a independência de reconhecimento por essa molécula. A grande limitação encontrada, portanto, seria manter uma estratégia de marcação extracelular da molécula tumoral. (JUNE, 2018).

4.3.3 Produção e Funcionamento

As células CAR-T podem reconhecer estruturas que não se restringem aos MHC apresentado nas superfícies das células alvo, por manterem a especificidade semelhante aos anticorpos. Construídas pela fusão de um anticorpo contra um antígeno, uma vez modificadas, têm de ser expandidas e inseridas novamente no paciente, na tentativa de eliminar o tumor. (PEREIRA *et al.*, 2019).

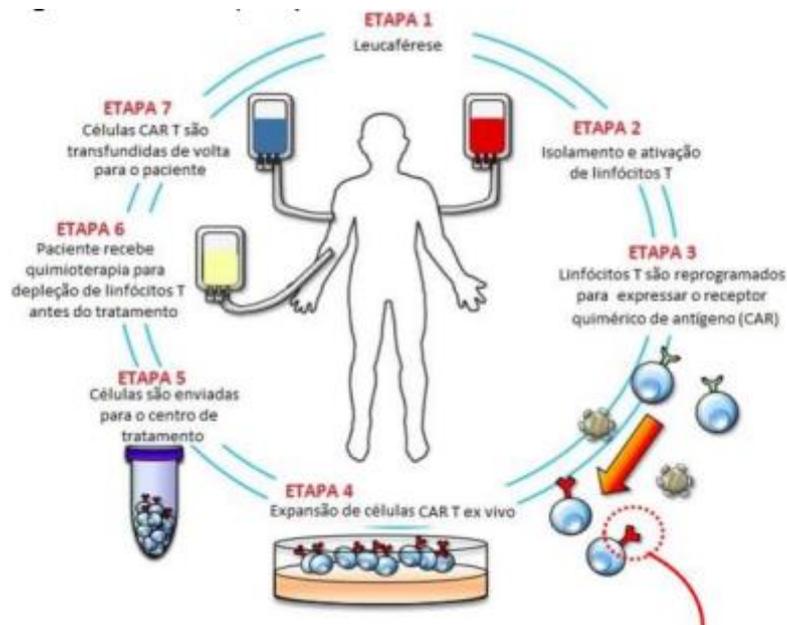
A obtenção das células para a produção das células CAR, variam de acordo com o tipo de transferência celular a ser realizado. Em caso de ser transferência alogênica, as células são retiradas de um doador que esteja saudável, caso seja transferência autóloga, são retiradas do próprio paciente. (ABREU, 2018).

O processo de coleta dessas células é chamado de leucaférese, que se trata da coleta das células periféricas pela filtração. Nesse processo várias células T são retiradas, bem como os outros tipos de células que se apresentam na circulação. A falta de assertividade na separação somente de células T, gera um desconforto para a seleção das células de interesse. (ABREU, 2018).

Por esse motivo, é necessário realizar a diluição das outras células, com o intuito de manter somente as células T. Esse processo é feito com a adição do anticorpo monoclonal anti-CD3 (que estimula a diferenciação das células) e IL-2 (fator de crescimento das células T), que garantem que naquele meio de cultura restem apenas as células T. (ABREU, 2018).

Depois desse processo de seleção das células T, é realizado a transdução através de um vetor viral. Os vetores mais indicados para o processo das CAR, são os vetores retrovirais e os lentivírus. Eles têm essa característica por apresentarem uma grande capacidade de integração genética, tendo como consequência a expressão prolongada dele na célula. (ABREU, 2018).

Figura 19 - Produção das CAR-T cells

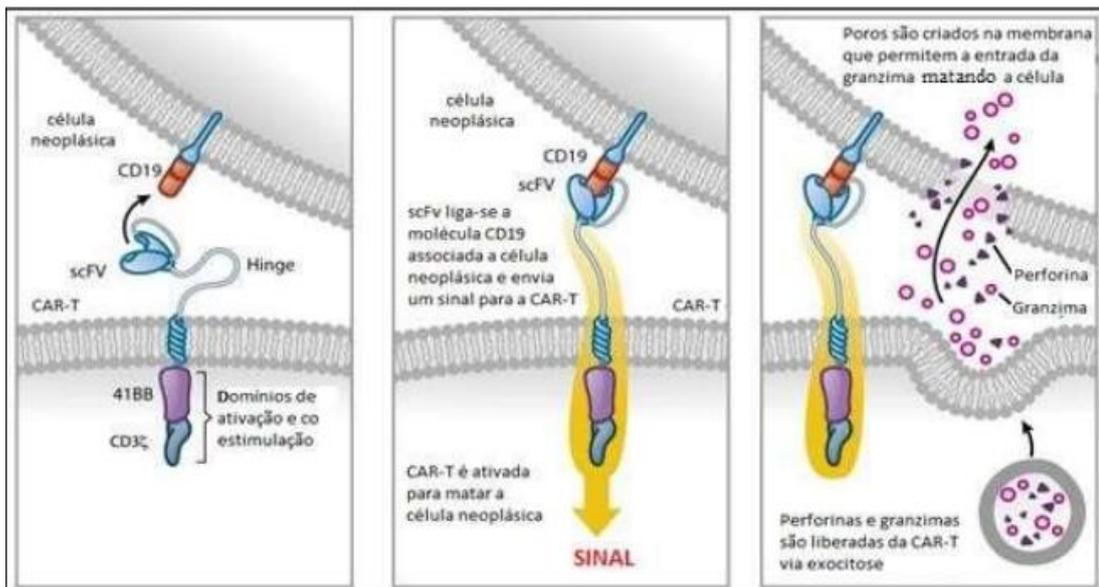


Fonte: SOARES, 2018.

Antes de serem injetadas no paciente, é necessário que eles recebam uma infusão de ciclofosfamida e/ou fludarabina, ambos fazem a depleção dos linfócitos neoplásicos e da carga tumoral. Essa depleção é chamada de linfodepleção, que comprovadamente aumenta a eficácia da terapia. (CRUZ, 2017).

As células T realizam a depleção dos tumores de maneira seletiva através de um mecanismo de citotoxicidade através de granzimas e perforinas. (SOARES, 208).

Figura 20 - Mecanismo de ação



Fonte: SOARES, 2018.

4.3.4 Aplicações

Na leucemia, a expressão de CD19 e CD22 acaba sendo restritas às células B, mais precisamente na pré-B. São esses os padrões de moléculas de expressão que os fazem ser alvos atrativos para a imunoterapia. (JACOBY, 2019).

O marcador principal, CD19, é o ideal para esta terapia visto que ele é encontrado com frequência e em altas quantidades de expressão nas malignidades de células B e nos humanos a expressão dessa molécula não é encontrada, exceto na linhagem alvo. (JUNE, 2018).

Além da marcação com o CD19, o CAR-T apresenta outras aplicações. Com estudos em andamento, podemos observar a manutenção de células B que podem ser marcadas com o BCMA ou com CD269, para pacientes que já apresentam o mieloma em estado avançado. Apesar de células do plasma não cancerígenas apresentarem o antígeno de BCMA, ele tem sido visto com bons olhos para a terapia, pois é possível observar uma grande similaridade anti-tumoral no MM. A dificuldade

encontrada nessa situação, se dá pelo fato de que em tratamento, as células do plasma são erradicadas junto com as células malignas. (JUNE, 2018).

4.3.5 Riscos e benefícios

Entretanto, alguns desafios ainda são encontrados na engenharia dessa terapia, principalmente no que diz respeito a senescência e exaustão das células. Primeiramente, a exposição das células T ao microambiente, pode gerar um fenótipo tanto de senescência quanto de exaustão a uma progressão, o que por fim geraria uma terminação diferente para a célula. (KASAKOVSKI, 2018).

O tratamento com o CAR-T precisa que haja uma supressão forçada do sistema imune, que pode gerar uma inflamação após o transplante com a célula T e uma das doenças mais notadas foi a presença da Síndrome de Liberação da Citocina Grave. E mesmo sendo uma toxicidade esperada da aplicação da técnica, as complicações neurológicas variam entre suavidade e severidade existindo um risco à vida. Porém somente com o tratamento que utiliza a marcação de BCMA, essa toxicidade é esperada. (JUNE, 2018).

Para se ter o balanço terapêutico de eficácia *versus* toxicidade, o alvo ideal seria o de moléculas que sejam minimamente expressas ou ausentes nos tecidos normais. Os pacientes que sobrevivem por muito tempo com a doença, mais especificamente as aplasias celulares das células B, tem alvos com um grande repertório de antígenos no desenvolvimento normal dessa célula. (JACOBY, 2019).

Apesar da aprovação do FDA, é preciso considerar o risco de toxicidades que podem aparecer como a CRD e os problemas neurológicos, havendo a possibilidade de ter uma contingência importante para o risco da evolução desses problemas. Por isso é exigido que os médicos tenham um treinamento completo na gestão desses eventos que possam aparecer durante o tratamento. (JUNE, 2018).

No momento as dificuldades encontradas são para o sucesso da aplicação, quanto a abordagem ampla em tumores sólidos, mas para as malignidades hematológicas a gestão da técnica está sendo mudada consideravelmente. (JUNE, 2018).

Para o futuro, os avanços da técnica dão uma perspectiva de ampliação da terapia utilizada e busca não somente as células T, mas outros alvos como por exemplo a indução pluripotente de células tronco, tronco hematopoéticas, células NK,

mantendo também a introdução da edição de genes para garantir a aplicação não só na oncologia, mas também em outras doenças como as infecciosas, transplantes de órgãos e autoimunidade. (JUNE, 2018).

4.3.6 Experimentos realizados

Um estudo de caso realizado em 2014, mostrou a hipótese dos pesquisadores em tratar o paciente com a terapia celular CAR-T, com a aplicação do marcador CD-19 com células CTL019 que foi separado previamente através da leucaférese. O estudo realizado com essas células, também contou com a participação da manutenção do tratamento com dois medicamentos. Neste estudo, 12 meses após o transplante foi possível observar que não existia mais a presença das imunoglobulinas nos exames clínicos e o paciente também não apresentava mais os sintomas do mieloma múltiplo. No entanto não foi possível saber, com certeza, se a remissão do câncer se deu pelo uso da CD19-CAR-T ou se foi pelas altas doses dos medicamentos concomitantes utilizados. (GARFALL *et al*, 2015).

Em outro estudo foi observado o uso de células CAR-T-BCMA, demonstrando que essas células têm grandes cargas de resistência ao tratamento. A combinação dessas células com ciclofosfamida, demonstrou em um dos pacientes uma melhora e 90% na medula óssea após 3 meses de tratamento. Apesar de a terapia ter somente a eficácia juntamente com os medicamentos, há uma toxicidade esperada principalmente nas células normal do plasma, pois estas também expressam BCMA. (ALI *et al*, 2016).

Outros estudos também foram realizados em uso das CAR-T-BCMA. A Bluebird Bio utilizou a mesma célula, porém após o resultado do primeiro estudo clínico, realizaram uma modificação onde observou-se que as células duraram mais tempo em 6 dos 7 pacientes. Um grupo da China, resolveu também fazer uma mudança nessa célula, onde conseguiu-se criar um epítipo que gerou uma maior afinidade do BCMA fazendo com que nesse estudo 68% dos pacientes tivessem remissão completa do câncer. (JACOBY, 2019).

Estudos em camundongos também estão sendo desenvolvidos, como por exemplo a utilização da CD38, que mostrou depleção do mieloma. O uso desse marcador, não afetou o crescimento dos progenitores mieloides. Estes resultados ainda não estão maduros o suficiente para serem levados adiante no momento. Em um estudo piloto de Pequim, foi-se utilizado o CD138, apesar de ter apresentado expansão celular, as

melhores resposta obtidas até agora foi a estabilização em 4 pacientes. (JACOBY, 2019).

No Brasil, podemos observar a evolução dessa forma de tratamento em centros especializados como o A.C Camargo que realiza conferências *online* sobre o CAR-T para mieloma múltiplo e foi liberado pela ANVISA o tratamento também para outras formas de câncer como por exemplo a leucemia linfóide aguda (LLA).

5. CONCLUSÃO

Foi possível concluir que apesar do mau prognóstico da doença quando diagnosticada e algumas limitações ainda encontradas na técnica, a presença dessa possibilidade de tratamento pode nos dar uma boa perspectiva de um tratamento eficaz e específico. Através da pesquisa foi possível verificar que no Brasil, são necessários mais estudos quanto aos dados epidemiológicos, pois o mieloma múltiplo é uma doença onde deve-se ter uma cautela tanto na percepção dos sintomas, quanto no diagnóstico, pois pode ser confundida com outras gamopatias, o que pode prejudicar muito o prognóstico do paciente.

A técnica de CAR-T pode tornar-se um avanço importantíssimo no tratamento do mieloma e quando desenvolvida apropriadamente pode ser direcionada para o tratamento de muitas outras doenças e ajudar no avanço da medicina como um todo.

6. REFERÊNCIAS

- ABBAS, Abul K.; LICHTMAN, Andrew H.. **Imunologia básica: funções e distúrbios do sistema imunológico**. 5. ed. Rio de Janeiro: Elsevier Editora Ltda, 2009. 314 p.
- ABBAS, Abul K. *et al.* Doenças de Leucócitos, Linfonodos, Baço e Timo. In: KUMAR, Vinay *et al.* **Robbins e Cotran Patologia - Bases Patológicas das Doenças**. 8. ed. Rio de Janeiro: Saunders Elsevier, 2010. Cap. 11. p. 597-646.
- ABREU, Teresa Raquel Tremeço Dias de. **As Células CAR-T como uma terapia anticancerígena – desafios atuais e oportunidades futuras**. 2018. 80 f. Monografia (Especialização) - Curso de Ciências Farmacêuticas, Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, Coimbra, 2018. Disponível em: <http://hdl.handle.net/10316/84667>. Acesso em: 25 abr. 2022.
- Academia de ciência e tecnologia. **Atlas Hematológico – Mieloma Múltiplo**. Disponível em: <https://www.ciencianews.com.br/index.php/ciencia/atlas-hematologico/atlas-hematologico-mieloma-multiplo/> Acesso em: 21 Abr.. 2022.
- AHLERT, Patrícia. **Conhecendo o Mieloma Múltiplo - Revisão de Literatura**. 2013. 28 f. TCC (Graduação) - Curso de Pós-Graduação em Hematologia Laboratorial, Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul - Ijuí - Unijuí, Ijuí, Rs, 2013. Disponível em: <https://bibliodigital.unijui.edu.br:8443/xmlui/bitstream/handle/123456789/1652/Pronto%20TCC%20Patr%C3%ADcia%20Ahlert.pdf?sequence=1>. Acesso em: 18 jun. 2021.
- ALI, Syed Abbas et al, T cells expressing an anti–B-cell maturation antigen chimeric antigen receptor cause remissions of multiple myeloma. **Blood**, [S.L.], v. 128, n. 13, p. 1688-1700, 29 set. 2016. American Society of Hematology. <http://dx.doi.org/10.1182/blood-2016-04-711903>.
- ARRUDA, Andressa Vieira de. **Exames laboratoriais para o diagnóstico de Mieloma Múltiplo**. 11 f. Tese (Doutorado) - Curso de Análises Clínicas e Moleculares, Academia de Ciência e Tecnologia, São José do Rio Preto - SP.
- AVET-LOISEAU, H *et al.* Combining fluorescent in situ hybridization data with ISS staging improves risk assessment in myeloma: an international myeloma working group collaborative project. **Leukemia**, [S.L.], v. 27, n. 3, p. 711-717, 3 out. 2012. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/leu.2012.282>.
- AYRES, A.R.G. **Noções de imunologia: sistema imunológico, imunidade e imunização**. In: SILVA, M.N., FLAUZINO, R.F., GONDIM, G.M.M., eds. Rede de frio:

fundamentos para a compreensão do trabalho [online]. Rio de Janeiro: Editora FIOCRUZ, 2017, pp. 239-256. ISBN: 978-65-5708-091-7.

BARARDI, Célia Regina Monte *et al.* **Imunologia**. Florianópolis: Universidade Federal de Santa Catarina, 2010. 179 p. Disponível em: <https://uab.ufsc.br/biologia/files/2020/08/Imunologia.pdf>. Acesso em: 27 abr. 2022.

BATISTA, Fernanda de Paula Menezes. **Mieloma Múltiplo: características e metodologias laboratoriais de diagnóstico**. 2020. 13 f. Monografia (Especialização) - Curso de Pós-Graduação em Hematologia e Banco de Sangue, Ac&T- Academia de Ciências e Tecnologia, São José do Rio Preto, 2020.

BIANCHI, Giada; ANDERSON, Kenneth C.. **Understanding biology to tackle the disease: multiple myeloma from bench to bedside, and back**. Ca: A Cancer Journal for Clinicians, [S.L.], v. 64, n. 6, p. 422-444, 29 set. 2014. Wiley. <http://dx.doi.org/10.3322/caac.21252>.

BÓ, Suzane Dal. **Detecção da doença residual mínima por citometria de fluxo em pacientes com mieloma múltiplo submetidos a transplante autólogo de células tronco hematopoéticas**. 2009. 75 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Programa de Pós Graduação em Ciências Médicas, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Rs, 2009. Disponível em: <https://www.lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/18756/000730484.pdf?sequence=1>. Acesso em: 23 jun. 2021.

BRASIL, Ministério da Saúde. Portaria nº 708 de 6 de Agosto de 2015: Aprova as Diretrizes Diagnósticas e Terapêuticas do Mieloma Múltiplo.

CRUZ, Ana Lima. **Células T CAR, um Novo Pilar das Terapias Antitumorais**. 2017. 66 f. Monografia (Especialização) - Curso de Ciências Farmacêuticas., À Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, Coimbra, 2017.

D'AMICO, Elbio A.; VILLAÇA, Paula R.. Mieloma Múltiplo e distúrbios da hemostasia. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, [S.L.], v. 29, n. 1, mar. 2007. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1590/s1516-84842007000100017>.

FARIA, Rosa Malena D. *et al.* Gamopatias monoclonais – critérios diagnósticos e diagnósticos diferenciais. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, Belo Horizonte, 29(1); p. 17-22, 2007.

FUNARI, Mariana F. A. *et al.* Mieloma Múltiplo: 50 casos diagnosticados por citometria de fluxo. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, [S.L.], v. 27, n. 1, p. 31-36, mar. 2005. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1590/s1516-84842005000100009>.

- GARFALL, Alfred L. et al. **Chimeric Antigen Receptor T Cells against CD19 for Multiple Myeloma. *New England Journal Of Medicine***, [S.L.], v. 373, n. 11, p. 1040-1047, 10 set. 2015. Massachusetts Medical Society. <http://dx.doi.org/10.1056/nejmoa1504542>
- GHAFFAR, Abdul; NAGARKATTI, Mitzi. **IMUNOLOGIA DE TUMORES. *Imunologia***, [S.L.], v. 14, n. 0, p. 1-9, [s.d].
- KATZEL, J. A.; HARI, P.; VESOLE, D. H.. Multiple Myeloma: charging toward a bright future. **Ca: A Cancer Journal for Clinicians**, [S.L.], v. 57, n. 5, p. 301-318, 1 set. 2007. Wiley. <http://dx.doi.org/10.3322/ca.57.5.301>.
- KLAUS, Daniele Gehlen *et al.* Caso clássico de mieloma múltiplo: uma revisão. **Arquivos Catarinenses de Medicina**, Passo Fundo, Rs, v. 28, n. 4, p. 110- 113, 2009. Disponível em: <http://www.acm.org.br/revista/pdf/artigos/778.pdf>. Acesso em: 18 jun. 2021.
- LEITE, Daniela Miriam de Jesus. **Mieloma Múltiplo: Fisiopatologia e abordagem terapêutica**. 2017. 40 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Faculdade de Farmácia, Universidade de Lisboa, Lisboa, 2017.
- MALTA, Jéssica Soares. **Qualidade de Vida Relacionada à Saúde de Pacientes com Mieloma Múltiplo: Validade e Confiabilidade do Módulo EORTC QLQ-MY20 Para o Brasil e a Influência dos Esquemas Terapêuticas**. 2020. 100 f. Dissertação (Pós-Graduação) - Curso de Faculdade de Farmácia, Programa de Pós-Graduação em Medicamentos e Assistência Farmacêutica, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG, 2020.
- MARQUES, Daniel Filipe da Costa *et al.* **Mieloma Múltiplo: Uma perspectiva multidisciplinar**. 2013. 21 f. Tese (Doutorado) - Curso de Medicina, Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra, Coimbra, 2013.
- MARTA, M. João *et al.* **Mieloma Múltiplo: a propósito de um caso raro de gamapatia biclonal IgD/lambda – Abordagem diagnóstica e atitudes terapêuticas..** 21 f.- Curso de Medicina, Hospital de Santa Maria, Lisboa.
- MATIAS, Valber de Freitas; NAOUM, Flavio. **Mieloma múltiplo**. Janeiro/2019. Disponível em: <http://hemoclass.com.br/mostrar-blog/mieloma-multiplo/117#:~:text=Ao%20diagn%C3%B3stico%2C%20o%20hemograma,no%20esfrega%C3%A7%C3%A3o%20de%20sangue%20perif%C3%A9rico..> Acesso em: 20 abr. 2022.

MARTINEZ, Gracia A.. Fatores prognósticos no Mieloma Múltiplo. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, [S.l.], v. 29, n. 1, p. 27-30, mar. 2007. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1590/s1516-84842007000100007>.

MARTÍNEZ, Alfredo Córdova; ALVAREZ-MON, Melchor. O sistema imunológico (I): Conceitos gerais, adaptação ao exercício físico e implicações clínicas. **Rev Bras Med Esporte**, Soria, v. 5, n. 3, p. 47-54, jun. 1999.

MAYER, Gene. **IMUNOLOGIA – CAPÍTULO QUATRO IMUNOGLOBULINAS – ESTRUTURA E FUNÇÃO**. [S.L.]: Escola de Medicina da Universidade da Carolina do Sul, s.d. 13 p.

MESQUITA JÚNIOR, Danilo *et al.* Sistema Imunitário – Parte II Fundamentos da resposta imunológica mediada por linfócitos T e B. **Revista Brasileira de Reumatologia**, São Paulo, v. 5, n. 50, p. 552-580, ago. 2010.

MILIOTOU, Androulla N.; PAPADOPOULOU, Lefkothea C.. CAR T-cell Therapy: a new era in cancer immunotherapy. **Current Pharmaceutical Biotechnology**, [S.L.], v. 19, n. 1, p. 5-18, 31 maio 2018. Bentham Science Publishers Ltd.. <http://dx.doi.org/10.2174/1389201019666180418095526>.

MUSTAFA, Amina Muhamad Mota *et al.* **Mieloma Múltiplo: Caso Ilustrativo - Caso #204**. Brasília, Df: Crb Educa, 2020. 9 p.

PAVAN, Edson. **Estudo citogenético e molecular em mieloma múltiplo**. 2012. 12 f. Monografia (Especialização) - Curso de Biologia Molecular Aplicada Ao Diagnóstico Laboratorial, Academia de Ciências e Tecnologia em São José do Rio Preto, São José do Rio Preto, 2012.

PEREIRA, Viviane da Costa *et al.* Definição das terapias celulares com receptores de antígenos quiméricos (CAR), receptores de células t (TCR) e linfócitos infiltrantes de tumor (TIL). Perspectivas futuras para o câncer. **Brazilian Journal Of Health Review**, Curitiba, v. 2, n. 2, p. 6, 1105-1124, mar/abr. 2019.

ROCHA, Maria Clara de Sousa. **Terapia com células CAR-T: um avanço na imunologia**. 2018. 13 f. TCC (Graduação) - Curso de Biomedicina, Faculdade de Ciências da Saúde e da Educação - Faces, Centro Universitário de Brasília - Uniceub, Brasília, Df, 2018. Disponível em: <https://repositorio.uniceub.br/jspui/bitstream/prefix/13081/1/21554786.pdf>. Acesso em: 19 jun. 2021.

SANDY JUNIOR, Paulo Afonso *et al.* Mieloma múltiplo aos 30 anos: o avesso da epidemiologia. **Rev Soc Bras Clin Med**, Alfenas, Mg, v. 3, n. 13, p. 2010-2012, set. 2015.

SANTOS, Erivelton Pereira dos; NAOUM, Paulo Cesar. **Aspectos Clínicos Patológicos e Diagnóstico do Mieloma Múltiplo**. 6 f. Monografia (Especialização) - Curso de Pós Graduação em Hematologia e Clínica Laboratorial, Academia de Ciências e Tecnologia em São José do Rio Preto, São José do Rio Preto.

SILVA, Roberta O. Paula e *et al.* Mieloma múltiplo: características clínicas e laboratoriais ao diagnóstico e estudo prognóstico. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, [S.L.], v. 31, n. 2, p. 63-68, abr. 2009. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1590/s1516-84842009005000013>.

SILVA, Sara Maria Mosca Ferreira da. **A Evolução da Abordagem Terapêutica do Mieloma Múltiplo nos últimos 20 anos**. 2015. 37 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Medicina, Universidade do Porto, Porto, 2015.

SILVEIRA, Éricka Janine Dantas da *et al.* Mieloma Múltiplo: uma análise clínica e epidemiológica. **Revista de Odontologia da Unesp**, Natal, Rn, v. 34, n. 2, p. 61-65, 2005. Disponível em:

<https://revodontolunesp.com.br/article/588017ad7f8c9d0a098b484e/pdf/rou-34-2-61.pdf>. Acesso em: 18 jun. 2021.

SOARES, William Felipe da Silva. **TRATAMENTO CONVENCIONAL E A IMUNOTERAPIA DE CÉLULAS CAR-T NA REMISSÃO DE NEOPLASIAS LINFOIDE E MIELOIDE**. 2018. 20 f. TCC (Graduação) - Curso de Biomedicina, Centro Universitário de Brasília Faculdade Ciências da Educação e Saúde, Brasília, 2018.

TEVA, Antônio *et al.* Imunologia. In: SI, **Conceitos e Métodos para a Formação de Profissionais em Laboratórios de Saúde**. 4. ed. Cap. 1. p. 19-124.

TORREZINI, Thaissa; ATHANAZIO, Daniel Abensur. Imunovigilância e Imunoedição de Neoplasias: Implicações Clínicas e Potencial Terapêutico. **Revista Brasileira de Cancerologia**, Salvador, v. 1, n. 54, p. 63-77, maio 2008.

Universidade Federal da Bahia. **IMUNOLOGIA DOS TUMORES**. Faculdade de Medicina Departamento de Anatomia Patológica e Medicina Legal, . 6 p.

ZHANG, Cheng *et al.* Engineering CAR-T cells. **Biomarker Research**, [S.L.], v. 5, n. 1, 24 jun. 2017. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1186/s40364-017-0102-y>.

