

CENTRO UNIVERSITÁRIO SÃO CAMILO
Curso de Biomedicina

Carolina Monteiro Lobato del Villar
Vitória Faria Ramos

TERAPIA CAR-T: TUMORES HEMATOLÓGICOS X TUMORES SÓLIDOS

São Paulo
2023

**Carolina Monteiro Lobato del Villar
Vitória Faria Ramos**

TERAPIA CAR-T: TUMORES HEMATOLÓGICOS X TUMORES SÓLIDOS

Trabalho de Conclusão de Curso para a obtenção de título de graduação do curso de Biomedicina do Centro Universitário São Camilo sob a orientação do Professor Doutor Mauro Fantini Nogueira Martins.

**São Paulo
2023**

Carolina Monteiro Lobato del Villar

Vitória Faria Ramos

TERAPIA CAR-T: TUMORES HEMATOLÓGICOS X TUMORES SÓLIDOS

São Paulo, 10 de setembro de 2023.

Professor Orientador – Mauro Fantini Nogueira Martins

Professor Examinador –

Professor Examinador –

São Paulo

2023

Ficha catalográfica elaborada pelas Bibliotecas São Camilo

Villar, Carolina Monteiro Lobato Del

Terapia CAR-T: Tumores hematológicos X tumores sólidos / Carolina Monteiro Lobato Del Villar. -- São Paulo: Centro Universitário São Camilo, 2023.

49 p.

Orientação de Mauro Fantini Nogueira Martins.

Trabalho de Conclusão de Curso de Biomedicina (Graduação), Centro Universitário São Camilo, 2023.

1. Antígenos de neoplasias 2. Imunoterapia 3. Imunoterapia adotiva 4. Neoplasias 5. Neoplasias hematológicas I. Martins, Mauro Fantini Nogueira II. Centro Universitário São Camilo III. Título

CDD: 616.994

AGRADECIMENTOS

Neste momento especial da nossa jornada acadêmica, gostaríamos de expressar nossa profunda gratidão a todos aqueles que tornaram possível a realização deste trabalho e a conclusão bem-sucedida de nossa graduação em Biomedicina.

Em primeiro lugar, queremos agradecer a nossa família pelo apoio incondicional ao longo desta jornada. Vocês foram a nossa fonte de força, inspiração e amor, e sem o apoio constante de todos vocês, não conseguiríamos chegar até aqui.

Gostaríamos de estender a nossa gratidão ao nosso orientador, Mauro Fantini Nogueira Martins, pelo seu comprometimento, orientação e expertise durante todo o processo de pesquisa. Suas orientações e insights foram fundamentais para o desenvolvimento deste trabalho, agradecemos pela sua paciência e dedicação em nos ajudar a alcançar nossos objetivos acadêmicos.

Além disso, queremos agradecer todos os professores e coordenadores que contribuíram para a nossa formação. Cada um de vocês desempenhou um papel importante em nossa jornada, somos gratas por todas as experiências compartilhadas e por todo o conhecimento adquirido.

Por fim, agradecemos a todas as pessoas que de alguma forma contribuíram para este projeto, seja através de apoio moral, compartilhamento de recursos ou feedback construtivo.

Este trabalho representa não apenas a nossa dedicação, mas também o apoio e encorajamento de muitos. A todos vocês, a nossa sincera gratidão.

Muito obrigada!

RESUMO

O câncer é uma doença complexa com origens e comportamentos variados causado por mutações genéticas. É caracterizado como um dos principais problemas de saúde globalmente. O câncer é a principal causa de morte entre as doenças não transmissíveis em todo o mundo, com um crescimento significativo na incidência e mortalidade associadas a essa doença. Sua incidência e mortalidade aumentam devido ao envelhecimento da população e às mudanças comportamentais e ambientais. Existe uma diferença entre cânceres sólidos e hematológicos, que diz respeito à origem tecidual em que houve o início da proliferação descontrolada das células. Tratamentos convencionais como quimioterapia têm eficácia limitada em casos de pacientes recidivantes ou refratários. A terapia CAR-T é uma alternativa encorajadora e menos prejudicial para esses pacientes. Ela envolve a modificação genética das próprias células imunes do paciente para expressar receptores sintéticos (CAR) que reconhecem antígenos tumorais específicos. As células T do paciente são isoladas, ativadas e geneticamente modificadas para produzir CARs específicos para o antígeno tumoral correspondente. Após expansão em cultura, estas células são infundidas de volta ao paciente. Mostrou-se eficaz em algumas neoplasias hematológicas recidivantes/refratárias. A eficácia da terapia CAR-T varia entre cânceres hematológicos e cânceres sólidos devido a vantagens no microambiente tumoral e nos possíveis alvos terapêuticos. Apesar de promissora, ainda enfrenta desafios e lacunas a serem superados para alcançar todo o seu potencial terapêutico. Esse estudo trata-se de uma revisão narrativa na qual comparamos de forma atualizada os avanços e desafios associados à terapia CAR-T, com foco em seu uso como tratamento de tumores hematológicos e cânceres sólidos a partir de artigos publicados, entre 2007 e 2023, encontrados nas bases de dados Pubmed, Scielo e Google Scholar e livros acadêmicos científicos. A compreensão detalhada da terapia é essencial para melhorar sua eficácia e acessibilidade. O tratamento do câncer é complexo e em constante evolução, com a imunoterapia desempenhando um papel crescente. Pesquisas contínuas e colaboração entre os profissionais da área da saúde são fundamentais para avançar no tratamento do câncer e melhorar as chances de cura.

Palavras-chave: CAR-T Cell. Câncer. Câncer sólido. Câncer Hematológico. Imunoterapia. Antígeno tumoral.

ABSTRACT

Cancer is a complex disease with varied origins and behaviors caused by genetic mutations. It is characterized as one of the main health problems globally. Cancer is the leading cause of death among non-communicable diseases worldwide, with significant growth in incidence and mortality associated with this disease. Its incidence and mortality increase due to the aging of the population and behavioral and environmental changes. There is a difference between solid and hematological cancers, which concerns the tissue origin in which uncontrolled cell proliferation began. Conventional treatments such as chemotherapy have limited effectiveness in relapsed or refractory patients. CAR-T therapy is an encouraging and less harmful alternative for these patients. It involves genetically modifying the patient's own immune cells to express synthetic receptors (CARs) that recognize specific tumor antigens. The patient's T cells are isolated, activated, and genetically modified to produce CARs specific for the corresponding tumor antigen. After expansion in culture, these cells are infused back into the patient. It has been shown to be effective in some relapsed/refractory hematological malignancies. The effectiveness of CAR-T therapy varies between hematological cancers and solid cancers due to advantages in the tumor microenvironment and potential therapeutic targets. Although promising, still faces challenges and gaps to be overcome to reach its full therapeutic potential. This study is a narrative review in which we compare in an updated way the advances and challenges associated with CAR-T therapy, focusing on its use as treatment of hematological tumors and solid cancers based on articles published between 2007 and 2023, found in the Pubmed, Scielo and Google Scholar databases and scientific academic books. A detailed understanding of therapy is essential to improving its effectiveness and accessibility. Cancer treatment is complex and constantly evolving, with immunotherapy playing an increasing role. Continuous research and collaboration among healthcare professionals are essential to advance cancer treatment and improve the chances of a cure.

Keywords: CAR-T Cell. Cancer. Solid cancer. Hematological Cancer. Immunotherapy. Tumor antigen.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Diferença ilustrada de tumores benignos e malignos.....	8
Figura 2 - Lâmina de tumor benigno epitelial (A) e tumor maligno do músculo esquelético (B).....	9
Figura 3 - Distribuição espacial das taxas brutas de incidência por 100 mil habitantes, estimadas para o ano de 2023, segundo Unidade da Federação (todas as neoplasias malignas).....	10
Figura 4 - Visão geral do processo geral de produção e aplicação de células CAR-T autólogas/alógenas.....	21
Figura 5 - Persistência de CTL019.....	28
Figura 6 - Duração da remissão, sobrevivência livre de eventos e sobrevivência geral.....	29
Quadro 1 - Ensaios Clínicos promissores em tumores hematológicos tratados com terapia CAR-T Cell.....	30
Quadro 2 - Ensaios Clínicos com resultados de Terapias com CAR-T Cell em Tumores Sólidos.....	31
Figura 7 - Avaliação Clínica da Terapia CAR-T em CCR.....	33
Figura 8 - Gráfico “Swwimer’s plot” descrevendo o estado da doença e a sobrevivência global dos pacientes.....	34
Quadro 3 - Ensaios Clínicos em Andamento para novas perspectivas do Tratamento de Tumores Sólidos com Terapia CAR-T Cell.....	35

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	11
2 OBJETIVO.....	17
3 METODOLOGIA.....	18
4 DESENVOLVIMENTO.....	19
4.1 Terapia com Car-T Cell.....	19
4.1.2 Principais etapas para manufatura das CAR.....	21
4.1.2.1 Seleção do tipo celular.....	21
4.1.2.2 Ativação.....	22
4.1.2.3 Entrega ou transferência gênica.....	23
4.1.2.4 Expansão.....	24
4.1.2.5 Formulação/produto final.....	24
4.2 Testes de Biomarcadores.....	25
4.3 Car-T Cell em: Tumores Hematológicos X Tumores Sólidos.....	27
4.4 Situação da Terapia Car-T no Brasil e no Mundo.....	37
4.4.1 Situação da Terapia Car-T no Mundo.....	37
4.4.2 Situação da Terapia Car-T no Brasil.....	38
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	43

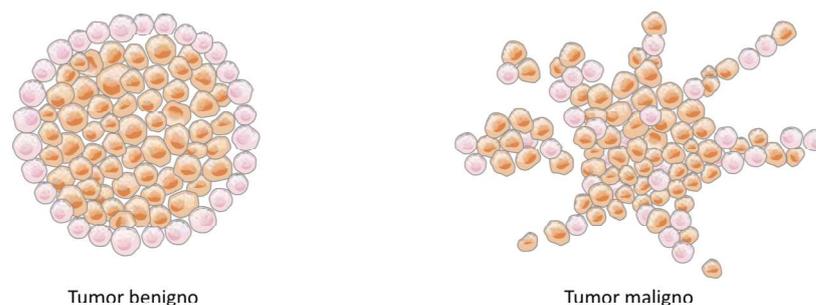
1 INTRODUÇÃO

Câncer é um termo genérico para um grande grupo de doenças complexas e multifacetadas que se desenvolvem a partir de alterações genéticas em células normais. Apesar de receberem o mesmo nome, cada um se comporta de um jeito, possuem origens distintas, acontecem por conta de um tipo de mutação e cada organismo pode reagir de forma diferenciada (NOGUEIRA-RODRIGUES et al., 2021).

Essa doença se desenvolve a partir da proliferação desordenada e descontrolada de células de modo espontâneo durante o processo de divisão celular, através de mutações ou rearranjos gênicos aleatórios, podendo ser induzidos por carcinógenos químicos, físicos ou virais. Assim, causando danos e comprometimentos funcionais (PARSLOW et al., 2018).

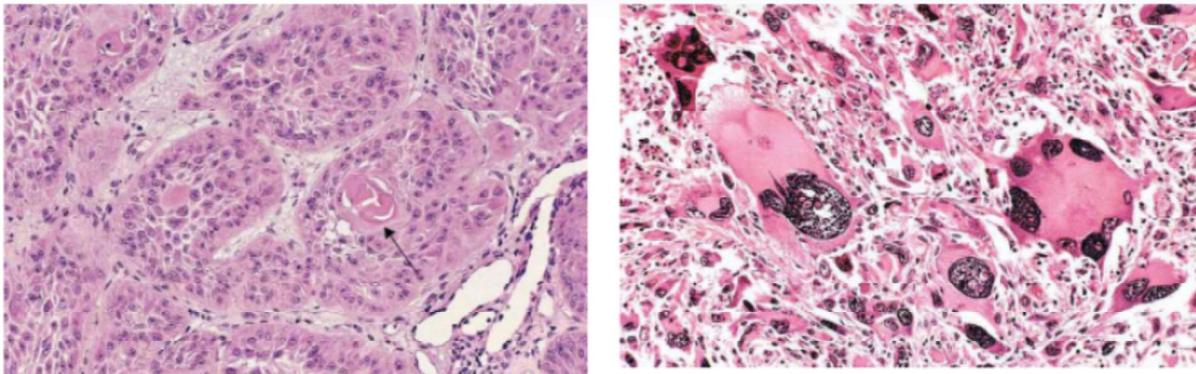
Quando esse crescimento ocorre de forma controlada, seu aumento é localizado e/ou autolimitado, sendo causado por estímulos fisiológicos ou patológicos, esse efeito é reversível quando esses estímulos cessam. Porém, quando essa proliferação celular ocorre de forma descontrolada, tem-se uma massa anormal no tecido cujo crescimento se torna quase autônomo, que persiste mesmo sem os estímulos iniciais. Esse descontrole é denominado de neoplasias e normalmente está associado a alterações no material genético das células, que a partir das divisões celulares vão passando essas alterações para células filhas gerando várias células anormais que formarão o tumor (CRUZ, 2021). Ou seja, todo câncer é uma neoplasia, mas nem toda neoplasia é um câncer. (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2012).

Figura 1 - Diferença ilustrada de tumores benignos e malignos



Nota: À esquerda da imagem, uma representação ilustrativa de um tumor benigno. E à direita, uma representação ilustrativa de um tumor maligno.

Figura 2 - Lâmina de tumor benigno epitelial (A) e tumor maligno do músculo esquelético (B)



Fonte: adaptados de Robbins – Patologia Básica/ 6ª edição, 2013

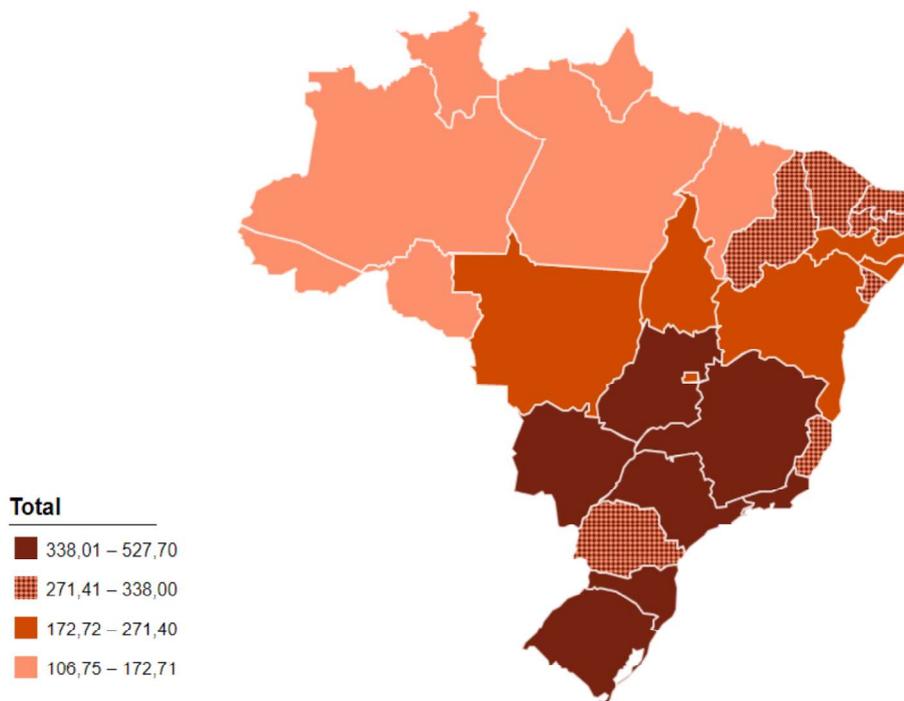
Nota: Figura 2A - carcinoma de células escamosas bem diferenciadas da pele. As células tumorais são surpreendentemente semelhantes às células epiteliais escamosas, com pontes intracelulares e ninhos de queratina (seta). Figura 2B - tumor anaplásico do músculo esquelético (rabdomyossarcoma). Note o acentuado pleomorfismo celular e nuclear, núcleos hiper cromáticos e células gigantes tumorais.

Essas alterações genômicas podem ser de diferentes tipos, como por exemplo, variantes de nucleotídeo único (SNVs); pequenas deleções, duplicações, inserções ou uma combinação de deleção(ões) e inserção(ões), variantes do número de cópias (CNVs) e rearranjos estruturais, resultando em novos genes de fusão. Muitas dessas alterações associadas ao câncer podem servir como biomarcadores e utilizados para auxiliar no diagnóstico e prognóstico do câncer, estratificar o risco do paciente, prever sensibilidade/ resistência a uma terapia específica e monitorar a resposta ao tratamento ou doenças residuais (NOGUEIRA-RODRIGUES et al., 2021).

Estimado como sendo um dos principais problemas de saúde em todo o mundo, e um das causas mais importantes de morbidade e mortalidade em crianças e adultos, o câncer tem sua incidência e mortalidade aumentada devido ao envelhecimento da população, além das mudanças comportamentais e ambientais, as quais envolvem, por exemplo, atividades do cotidiano, dieta e exposição a poluentes ambientais, entre outros agentes carcinogênicos. (INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER - IARC, 2020). No Brasil, estima-se que no período de 2023 até 2025, haverá aproximadamente 2.1 milhões de novos casos de câncer, sendo as regiões Sul e Sudeste a concentração de 70% da incidência.

(INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER - INCA, 2022).

Figura 3 - Distribuição espacial das taxas brutas de incidência por 100 mil habitantes, estimadas para o ano de 2023, segundo Unidade da Federação (todas as neoplasias malignas)



Fonte: INCA, 2022

Como visto, são diversos os tipos e origens dos cânceres. Dentre eles, os tipos mais comuns são: o de mama, pulmão, cólon, próstata e de pele. Outro tipo bastante incidente na população, sendo o décimo câncer mais prevalente nos homens e o décimo primeiro mais comum nas mulheres, entre os anos 2020 e 2022, é a leucemia (INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER - INCA, 2022). Esta, afeta as células do sangue e da medula óssea, e é caracterizada pelo acúmulo de células atípicas que prejudicam a produção de glóbulos brancos funcionais, responsáveis pela defesa do organismo contra o hospedeiro. Além de prejudicar a capacidade da medula óssea de produzir um número suficiente de glóbulos vermelhos e plaquetas. (NEMKOV et al., 2018).

A principal diferença entre os cânceres sólidos e hematológicos está na origem tecidual em que ocorre o início da proliferação exacerbada de células. Um que se restringe ao seu órgão de origem, podendo em alguns casos metastáticos

migrar para outros órgãos, e o outro que tem origem no tecido hematológico ou no sistema linfático, consecutivamente (NOGUEIRA-RODRIGUES et al., 2021).

Apesar de os cânceres sólidos apresentarem as maiores incidências na população, os hematológicos ainda apresentam diversas incógnitas referente a sua origem e tratamento. Muitos tratamentos convencionais, incluindo quimioterapia e radioterapia em casos de pacientes recidivantes ou refratários com prognóstico bem sombrio, não são suficientes para eliminar a doença. Embora a primeira seja considerada a principal linha de tratamento para algumas leucemias, podendo atingir um percentual de 90% de cura em crianças, este valor reduz significativamente quando comparado em adultos. Ademais, quando há refratariedade ou recidiva de doença, o percentual de cura resultante de terapias convencionais recai para aproximadamente 5% (ALMEIDA et al., 2021).

Dessa forma, podemos observar a relevância da necessidade de intensificação da busca de novas opções terapêuticas para esses casos, como as imunoterapias. Um exemplo promissor que está ganhando um espaço significativo nessa área, é a terapia com CAR-T Cell.

A terapia com CAR T, consiste no princípio de realizar uma modificação genética de linfócitos T, para esses passarem a expressar receptores de antígenos quiméricos (CARs) (DAVILA; SADELAIAN, 2016).

Em 2010, Kochenderfer e colaboradores, realizaram um experimento em murinos clinicamente relevantes tratados com células T com receptor quimérico para reconhecer CD19 (anti-CD19-CAR) e seus resultados demonstraram atividades anti linfomas impressionantes e com intensa destruição de células B normais (KOCHENDERFER et al., 2010).

Posteriormente, devido aos resultados positivos decorrentes desse estudo, Kochenderfer e outros colaboradores, utilizaram células autólogas com esse mesmo tipo de receptor: anti-CD19-CAR, a fim de erradicar as células de linhagem B na medula óssea do paciente visando a regressão de seu linfoma folicular. O estudo em questão mostrou uma depleção prolongada de células B após a infusão das células T transduzidas com anti-CD19-CAR (KOCHENDERFER et al., 2010).

Apesar do trabalho ter sido realizado com apenas 1 paciente, estes dois

estudos indicam que há atividade específica de antígeno in vivo dessas células CAR-T, mostrando eficácia na regressão tumoral e que sua atividade antitumoral tem ação prolongada. Os trabalhos em questão e outros realizados anteriormente, tinham como propósito avaliar a eficácia e especificidade do receptor quimérico, com o objetivo de contribuir com a comunidade científica, para continuarem desenvolvendo estudos acerca desta terapia, com ênfase no uso deste receptor para o tratamento de doenças hematológicas, por hora (KOCHENDERFER et al., 2010).

A terapia com células T do receptor de antígeno quimérico (CAR) ganhou atenção como um tratamento eficaz para tumores relacionados devido à eficácia insatisfatória da quimioimunoterapia convencional e da radioterapia para a maioria das neoplasias hematológicas recidivantes/refratárias (MEEUSEN; LIM; MATHIVANAN, 2017). Ou seja, o tratamento de cânceres, principalmente hematológicos, tinha como resultado um significativo número de casos de morbidade e mortalidade.

Ademais, podemos dizer que a imunoterapia tem o potencial de ser o tratamento mais tumor-específico que é possível idealizar. Já que com ela as respostas imunes aos tumores podem ser altamente específicas para células tumorais e, assim, não lesar a maioria das células normais (ABBAS; PILLAI; LICHTMAN, 2015).

Isso é possível porque os tumores apresentam perfis genéticos, fazendo com que o seu tratamento seja individualizado e escolhido mediante a correta identificação dos marcadores imunológicos, também conhecidos como biomarcadores (TORREZINI; ATHANAZIO, 2007). A partir dessa identificação, drogas alvo-moleculares, anticorpos monoclonais ou imunoterápicos podem ser indicados para o correto e efetivo tratamento que, por ser direcionado especificamente às células tumorais, apresenta potencial muito menor de toxicidade e melhor tolerância geral do organismo (NOGUEIRA-RODRIGUES et al., 2021).

Esses biomarcadores são decorrentes da expressão de genes mutantes ou da desregulação de genes de proteínas próprias de células normais. A resposta imune adaptativa se inicia quando esses antígenos são secretados no ambiente tumoral e apresentados ao sistema imunológico, resultando na geração de células efetoras específicas (TORREZINI; ATHANAZIO, 2007). A maioria das evidências

indica que as respostas imunes clinicamente relevantes na atividade antitumoral envolvem as células T, especialmente os linfócitos T citotóxicos CD8* (CTLs, do inglês, cytotoxic T lymphocytes) (MESQUITA JÚNIOR, et al., 2010).

Porém, as respostas imunes frequentemente falham em prevenir o crescimento de tumores e pode haver diversos motivos para a imunidade antitumoral ser incapaz de erradicar os cânceres. As respostas adaptativas inefetivas aos cânceres podem ser superadas por estratégias terapêuticas que estimulam respostas deste tipo, de modo que as células T antitumorais podem ser ativadas para matar efetivamente as células tumorais (DAVILA; SADELAIAN, 2016).

Nessa revisão, atualizaremos o leitor sobre os desenvolvimentos mais recentes em imunoterapia e sua aplicação revolucionária em tratamentos oncológicos. Em particular, exploraremos uma diferença notável entre o tratamento com células CAR-T em tumores hematológicos e tumores sólidos, ressaltando a evolução dos estudos e pesquisas que forneceram resultados promissores, tornando a imunoterapia uma alternativa encorajadora e menos prejudicial para pacientes que enfrentam a batalha contra o câncer. Por ser uma terapia muito recente, ainda existem diversas lacunas que precisam ser resolvidas para que esta atinja seu potencial terapêutico e possa ser amplamente aproveitada. Este trabalho tem como objetivo principal fornecer uma visão abrangente e atualizada sobre esse potencial transformador da terapia com células CAR-T nos tratamentos oncológicos.

2 OBJETIVO

O estudo em questão visa trazer uma comparação atualizada sobre os avanços e desafios associados à terapia CAR-T, com foco em seu uso como tratamento de tumores hematológicos e cânceres sólidos.

3 METODOLOGIA

Foi realizada uma revisão bibliográfica narrativa a partir de artigos publicados, entre 2007 e 2023, encontrados nas bases de dados Pubmed, Scielo e Google Scholar e livros acadêmicos científicos, utilizando as seguintes palavras-chave: tratamento do câncer, tumores hematológicos, tumores sólidos, imunoterapia e Car-T Cell. A seleção dos artigos para este estudo foi realizada de forma criteriosa, para garantir a qualidade e relevância das fontes utilizadas na pesquisa. Os critérios adotados para a escolha dos artigos foram orientados pela necessidade de estabelecer uma base sólida para a análise e interpretação dos resultados. Dentre os critérios de seleção, uma prioridade significativa foi dada à inclusão de estudos clínicos que apresentassem resultados concretos e embasados.

4 DESENVOLVIMENTO

4.1 Terapia com Car-T Cell

Um dos principais avanços no tratamento do câncer é a terapia celular CAR-T (receptor quimérico de antígeno) – um tipo de imunoterapia que utiliza células do sistema imune do próprio paciente para combater e eliminar as células doentes (ELLIS; SHEPPARD; RILEY, 2021).

Essas células denominadas de linfócitos T, chamaram muita atenção dos pesquisadores no campo da imunoterapia por algumas de suas características, são elas: estão prontamente acessíveis através de uma coleta venosa simples; foram desenvolvidos sistemas de cultivo e administração que seguem as boas práticas de fabricação (GMP) para ampliá-las *in vitro* e reintroduzi-las com segurança nos pacientes, conseguiram desenvolver vetores altamente eficazes para realizar a modificação dessas células. Além disso, elas são plenamente maduras, resistentes à transformação oncogênica, e ao serem modificadas têm a capacidade de persistir por um longo período, chegando a uma década em alguns casos (ELLIS; SHEPPARD; RILEY, 2021).

Apesar da comprovada eficácia de tratamentos tradicionais já consolidados no meio médico para o câncer, a recidiva da doença e refratariedade, em alguns casos, fazem com que a terapia por CAR-T seja uma ótima alternativa (BRENTJENS et al., 2011). Além disso, essa terapia, apesar de ainda não ser utilizada como uma primeira opção, é a esperança de um tratamento menos nocivo aos pacientes oncológicos (ORZETTI et al., 2022).

Essa terapia consiste na premissa de modificar as próprias células imunes do paciente, reprogramá-las geneticamente para que elas passem a expressar um receptor sintético (CAR) que será direcionado a se ligar e reconhecer um antígeno tumoral específico. Assim, enfrentando um dos maiores obstáculos da imunoterapia contra o câncer, que se baseia na quebra da tolerância aos antígenos “próprios” (DAVILA; SADELAIN, 2016).

Por se tratar de uma terapia celular adotiva, ela explora a capacidade das células que participam ativamente da resposta imune antitumoral, neste caso os linfócitos T, de reconhecer e eliminar as células tumorais. Nessa estratégia, através

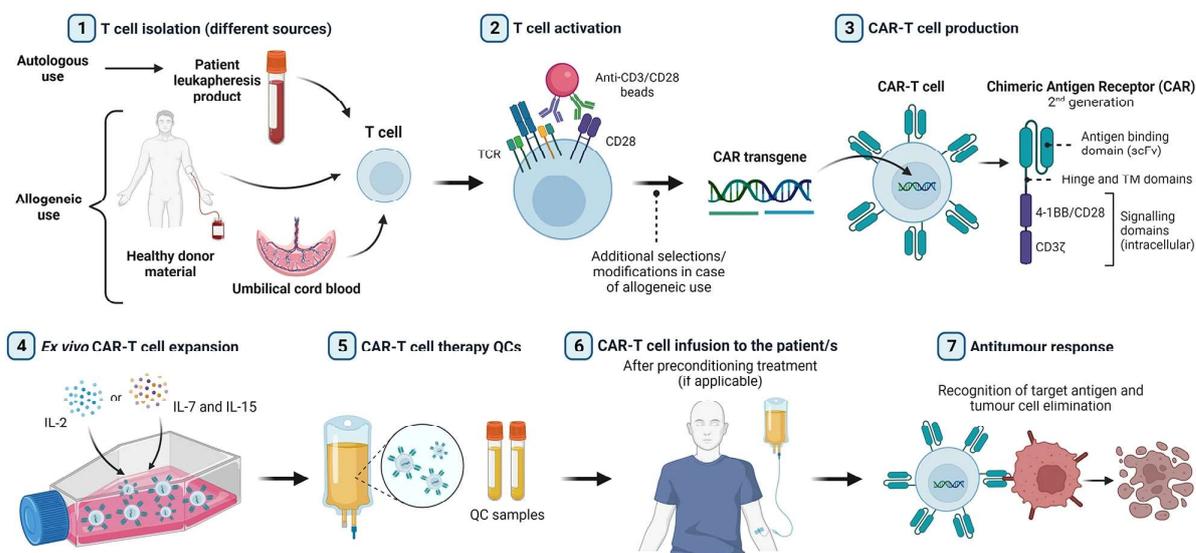
da leucaférese (remoção dos leucócitos), as células T do próprio paciente são isoladas e sofrem ativação de anticorpos específicos para CD3 e/ou CD28 induzindo a sua ativação e proliferação, tornando-as mais suscetíveis à transdução viral. Através dessa etapa será possível a adição do gene para o receptor específico do antígeno quimérico CAR (DAVILA; SADELAIN, 2016). Como cada tipo de câncer possui um antígeno distinto, cada CAR é produzido para se ligar ao antígeno correspondente (AMERICAN CANCER SOCIETY, 2021).

Posteriormente, essas células pré-selecionadas são cultivadas e expandidas, processo que pode demandar semanas para ser completado (AMERICAN CANCER SOCIETY, 2021).

Uma vez que tenha uma quantidade suficiente dessas células produzidas, e após terem passado por testes pré definidos de controle de qualidade que garantam sua esterilidade e sua função efetiva (DAVILA; SADELAIN, 2016), elas serão infundidas de volta ao paciente. O processo geral que demonstra a manufatura e aplicação clínica da terapia CAR-T é ilustrado na Figura 4.

Em alguns casos, para diminuir a quantidade de outras células imunes reativas e aumentar as chances de as CAR-T serem ativadas de modo eficaz e controlado, o paciente pode receber quimioterapia alguns dias antes da infusão de células CAR-T (AMERICAN CANCER SOCIETY, 2021).

Figura 4 - Visão geral do processo geral de produção e aplicação de células CAR-T autólogas/alógenicas.



Fonte: Aparício et al., 2023

Nota: Figura com representação meramente ilustrativa do processo de produção e aplicação de células CAR-T autólogas/ alogênicas. TRadução: (1) Isolamento de células T de diferentes fontes (dependendo do uso autólogo ou alogênico); (2) ativação de células T para cultura ex vivo (geralmente através de estimulação de CD3 e CD28); (3) modificação genética para induzir a expressão de CAR (geralmente CARs de 2ª geração) : (4) expansão para obter o número desejado de células (geralmente suplementações de IL-2 ou IL-7 e IL-15); (5) controles de qualidade da terapia com células CAR-T (controles em processo e do produto final); (6) administração ao(s) paciente(s); e (7) eliminação de células tumorais desencadeada pelo reconhecimento do antígeno CAR. CQ: controle de qualidade. MT: transmembrana.

4.1.1 Visão geral do processo de produção e aplicação de células T

De modo geral, a produção de células CAR-T autólogas implica em diversas etapas essenciais para a manipulação de linfócitos T. Estas etapas incluem a seleção do tipo celular, ativação, introdução do gene CAR, expansão celular e a formulação do produto final. Após a conclusão do processo de fabricação, é imprescindível realizar um rigoroso teste de controle de qualidade antes de administrar as células CAR-T aos pacientes. A seguir, apresentaremos uma síntese das principais fases envolvidas na produção de células CAR (sejam elas T ou de outros tipos) (SEBER et al., 2021).

4.1.2 Principais etapas para manufatura das CAR

4.1.2.1 Seleção do tipo celular

O primeiro passo na produção de células CAR-T envolve a obtenção de linfócitos T a partir do doador/paciente, que podem ser derivados das células mononucleares do sangue periférico (PBMCs) ou obtidos através de leucaférese. A separação das células T pode ser feita de diversas maneiras, como por gradientes de densidade (retirando glóbulos vermelhos e contaminantes de plaquetas), por tamanho e densidade, retirando os monócitos e isolando os linfócitos T (SUBKLEWE; BERGWELT-BAILDON; HUMPE, 2019). Em seguida, é possível isolar as células T CD3 positivas ou outros subtipos específicos dessas células.

Uma abordagem frequentemente utilizada para enriquecer as células T alvo é por separação imunomagnética (IMS), utilizando microesferas magnéticas revestidas com anticorpos monoclonais anti-CD3 ou anti-CD28, direcionados a marcadores de células alvo (positivos) ou não alvo (negativos). Isso possibilita a segregação de uma população específica (LEVINE et al., 2017). Normalmente, as células T são

positivamente selecionadas usando o marcador CD3+; no entanto, a seleção com base em CD4+ e CD8+ também pode ser aplicada para isolar fenótipos auxiliares ou citotóxicos (RAMOS et al., 2021).

4.1.2.2 Ativação

Os vetores mais utilizados nesta terapia para a entrega do gene CAR às células são à base de vetores virais (retrovírus ou lentivirus), e especificamente os vetores retrovirais derivados do vírus da leucemia de Moloney (NLV) necessitam que as células-alvo estejam ativamente em ciclo celular para viabilizar a transferência gênica, enquanto vetores lentivirais derivados do HIV se beneficiam da proliferação das células T para atingir uma alta eficiência de transdução nesses tipos celulares (VARGAS et al., 2016). Por essa razão, a ativação completa das células T é fundamental e só é possível através da interação entre os sinais CD3 e CD28. Para que isso ocorra in vitro, são utilizados anticorpos monoclonais anti-CD3 e anti-CD28, imuno magnéticos (beads) anti-CD3/anti-CD28 ou pelas APCs como células dendríticas ou APCs artificiais (APARÍCIO; ACEBAL; GONZÁLEZ-VALLINAS, 2023).

As beads vieram posteriormente constituindo a base para a maioria dos protocolos de transdução de células T in vitro, são frequentemente suplementadas com citocinas, sendo a IL-2 a mais comumente aplicada, por ser bastante eficiente na expansão de células T (RAMOS et al., 2021). No entanto, caso essas células sejam estimuladas e cultivadas por um período prolongado, elas podem sofrer diferenciações indesejáveis. Logo, a fim de superar essa limitação e promover uma otimização dos fenótipos terapêuticos, existem abordagens que visam reduzir o tempo de cultura ou incluir citocinas como o IL-7, IL-15 (ARCANGELI et al., 2020) e IL-21 (SINGH et al., 2011) para manter um fenótipo progenitor e de memória.

A sinalização via citocinas pode ser estabelecida pela adição de moléculas solúveis à cultura ou por meio de linhagens celulares geneticamente modificadas que apresentam esses sinais na membrana (RAMOS et al., 2021).

Ativadas, essas células passarão por um processo de modificação genética para induzir a expressão do CAR (geralmente são produzidas CARs de 2ª geração) (APARÍCIO; ACEBAL; GONZÁLEZ-VALLINAS, 2023).

4.1.2.3 Entrega ou transferência gênica

O sucesso dessa terapia depende da seleção de um vetor adequado para transportar o gene CAR até as células. Apesar dos vetores mais usados serem à base de vetores virais, existem também os vetores não virais constituídos por transposon, basicamente. Esses últimos têm a facilidade de serem produzidos em larga escala, possuem maior reprodutibilidade e capacidade transgênica, porém a padronização de suas técnicas é mais complicada comparada aos vetores virais, e possuem altas taxas de toxicidade induzida por lipofetaina (RAMOS et al., 2021). Dois dos produtos de CAR-T disponíveis hoje no mercado são baseados em vetores retrovirais, sendo o mais usado o vetor gamma-retrovírus. Apesar do êxito observado em algumas terapias em que foi aplicado, houve o aparecimento de leucemia causada pelo local de integração do vetor em alguns casos. Isso deve-se provavelmente pela sua propriedade oncogênica de se integrar próximo às regiões promotoras/reguladoras dos genes (HACEIN-BEY-ABINA, 2008), (CAVAZZANA-CALVO et al., 2010). Já os vetores lentivirais, se mostraram mais seguros e com propriedades de integração mais benéficas, como por exemplo, eles não precisam que as células estejam em divisão para inserir o seu material genético, diferentemente do que acontece nos retrovirais (RAMOS et al., 2021).

O sistema lentiviral já está sendo desenvolvido nos produtos CAR-T, sendo que 3 desses produtos já utilizam esse sistema, são eles o Kymiriah, Breyanzi e Abecma.

Apesar dos sistemas envolvendo vetores virais mostrarem-se altamente eficientes no processo de transdução, eles ainda possuem riscos de mutagênese insercional (CAVAZZANA-CALVO et al., 2010), podem ser imunogênicos e sua produção é muito cara e complexa.

Uma alternativa para a entrega do CAR que não através de vetores virais é o sistema de transposon (RAMOS et al., 2021). O transposon é uma sequência de DNA capaz de se mover e se inserir em outro local do genoma através da transposase. Isso pode impactar o genoma de algumas maneiras, como interromper sequências promotoras, íntrons e regiões regulatórias, ou até adicionar sequência que pode afetar genes próximos. Caso essa inserção ocorra numa sequência

codificadora de um gene pode até levar a perda total da função deste gene (LOPES, 2021).

Alguns sistemas à base de transposons já foram relatados para a produção de células CAR-T. Porém, sua lenta taxa de integração para uso em larga escala caracteriza-se como um obstáculo importante a ser considerado (SEBER et al., 2021).

Os riscos decorrentes desses sistemas citados, com ênfase no risco de mutagênese insercional, têm chamado bastante atenção aos pesquisadores que vêm desenvolvendo outros métodos inovadores para a entrega do gene CAR da maneira mais eficiente e segura possível (SEBER et al., 2021).

4.1.2.4 Expansão

Existe uma combinação de etapas que garante uma melhor qualidade do produto final, que são muito utilizadas nos protocolos convencionais. São elas: estratégia de ativação, método de entrega de gene e expansão. É importante observar que os perfis fenotípicos e funcionais das células CAR-T podem apresentar variações, dependendo do esquema específico de expansão utilizado, bem como das características intrínsecas dos pacientes envolvidos no tratamento (RAMOS et al., 2021). No método de expansão comumente é utilizado citocinas como IL-2 ou IL-7 e IL-15 que estimulam a proliferação das células T, a fim de obter o número desejado de células (COPPOLA, et al., 2020).

4.1.2.5 Formulação/produto final

Por fim, são feitas críticas etapas de validação acerca do produto final, antecedendo a sua criopreservação, a fim de verificar a segurança, pureza e potência das células. Além da viabilidade dessas células e da expressão do CAR na superfície delas. Nos protocolos padrão, são feitos testes para verificar se há alguma contaminação bacteriana, fúngica ou de micoplasma bem como se existe a presença de alguma endotoxina (RAMOS et al., 2021). Aprovado por todos esses testes e validações, o paciente receberá o preparo pré-infusional, normalmente realizado com quimioterápicos que promovem a depleção de linfócitos para garantir uma melhor resposta e reduzir efeitos colaterais. Finalmente, essas células CAR T serão

infundidas no paciente e passarão a reconhecer as células alvo e haverá resposta antitumoral efetiva. (APARÍCIO; ACEBAL; GONZÁLEZ-VALLINAS, 2023)

4.2 Testes de Biomarcadores

Sendo assim, é de grande relevância que seja realizado o teste de biomarcadores para o paciente. Essa é uma forma de procurar genes, proteínas e outras substâncias (chamadas biomarcadores ou marcadores tumorais) que podem fornecer informações sobre o câncer. O câncer de cada pessoa possui um padrão único de biomarcadores. Estes biomarcadores podem ser utilizados para diagnosticar e monitorar o câncer durante e após o tratamento (HENRY; HAYES, 2012).

Esses testes são realizados a partir da coleta de uma amostra de células cancerígenas. No caso de um tumor sólido, uma amostra poderá ser coletada durante a cirurgia ou biópsia do tumor. No caso de pacientes leucêmicos será necessária a realização da coleta de sangue. Existe também a opção de realizar um teste de biópsia líquida se não puder fazer uma biópsia de tumor com segurança, por exemplo, porque seu tumor é difícil de alcançar com uma agulha. As amostras são enviadas para um laboratório especial onde são testadas para determinados biomarcadores. O laboratório cria um relatório que lista os biomarcadores nas células cancerosas e identifica o melhor tratamento para aquele caso específico (NATIONAL CANCER INSTITUTE, 2021).

Para alguns testes de biomarcadores que analisam genes, também será necessário fornecer uma amostra de células saudáveis. Isso geralmente é feito coletando sangue, saliva ou um pequeno pedaço de pele. Esses testes comparam as células cancerígenas com as células saudáveis para encontrar alterações genéticas (chamadas mutações somáticas) que surgiram durante a sua vida. Mutações somáticas causam a maioria dos cânceres e não podem ser transmitidas aos familiares (SARHADI; ARMENGOL, 2022).

A identificação precisa das características moleculares dos tumores desempenha um papel fundamental na oncologia contemporânea. Isso possibilita a seleção de abordagens terapêuticas direcionadas, como drogas-alvo moleculares, anticorpos monoclonais e imunoterapias, para um tratamento mais eficaz e com

menor potencial de toxicidade, uma abordagem conhecida como "oncologia personalizada" ou "oncologia de precisão". Isso ocorre porque diferentes tumores têm perfis genéticos variados, e, portanto, cada paciente deve receber um tratamento adaptado às características específicas do seu câncer (WU; QU, 2015).

É importante notar que mesmo tumores aparentemente semelhantes em termos de morfologia podem ser impulsionados por vias de sinalização molecular distintas. Isso cria desafios significativos para os pesquisadores em oncologia molecular, que precisam identificar as vias moleculares específicas envolvidas em cada caso, uma vez que a classificação baseada apenas na aparência do tumor não é suficiente para orientar o tratamento em muitos cenários (NATIONAL CANCER INSTITUTE, 2021).

Além disso, a diversidade genética entre os indivíduos contribui para respostas variadas ao mesmo tratamento. Portanto, o diagnóstico e a abordagem terapêutica do câncer devem se basear não apenas em características anatômicas, mas também em informações moleculares (HENRY; HAYES, 2012).

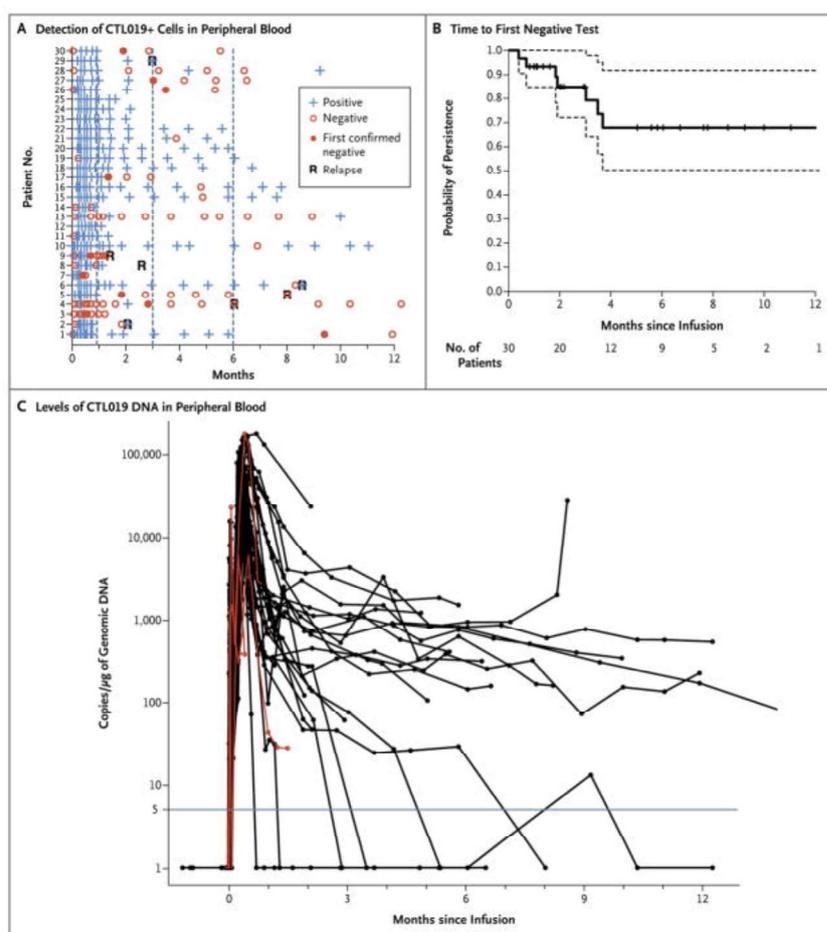
As células em um tumor são geneticamente diversas, apesar de originárias de uma única célula. Essa heterogeneidade é resultado do processo de progressão tumoral, no qual alterações genéticas e epigenéticas ocorrem de maneira desigual entre as células tumorais, criando uma população de células heterogêneas dentro do tumor. No momento do diagnóstico, essa população é geralmente grande e apresenta diversidade intratumoral. Portanto, o comportamento de um tumor reflete a diversidade de habilidades entre diferentes populações de células dentro do tumor. (NOGUEIRA-RODRIGUES, 2021).

Os tumores exibem uma hierarquia funcional entre suas células, com diferentes populações celulares apresentando diferenças genéticas e fenotípicas. Portanto, ao desenvolver estratégias de tratamento, é fundamental considerar essas diferenças e buscar alvos terapêuticos específicos para cada população de células dentro do tumor. Em resumo, a abordagem do câncer requer uma compreensão profunda das características moleculares e genéticas do tumor para direcionar tratamentos de forma eficaz e personalizada (NOGUEIRA-RODRIGUES, 2021).

4.3 Car-T Cell em: Tumores Hematológicos X Tumores Sólidos

Nos últimos anos, a terapia CAR-T demonstrou resultados promissores contra a leucemia e o linfoma de células B, comprovando seu potencial terapêutico anti cancerígeno (HALIM; MAHER, 2020). No estudo de Maude et al. por exemplo, o tratamento apresentou taxas de resposta de remissão completa em 90% dos pacientes no estudo com leucemia linfoblástica aguda de células B recidivante/refratária (LLA-B) publicado em 2014. O CTL019 (células T autólogas transduzidas com um vetor lentiviral de receptor de antígeno quimérico dirigido por CD19) foi associado a uma alta taxa de remissão, mesmo entre pacientes nos quais o transplante de células-tronco falhou, e foram observadas remissões duradouras de até 24 meses (MAUDE et al., 2014).

Figura 5 - Persistência de CTL019



Fonte: Maude et al., 2014

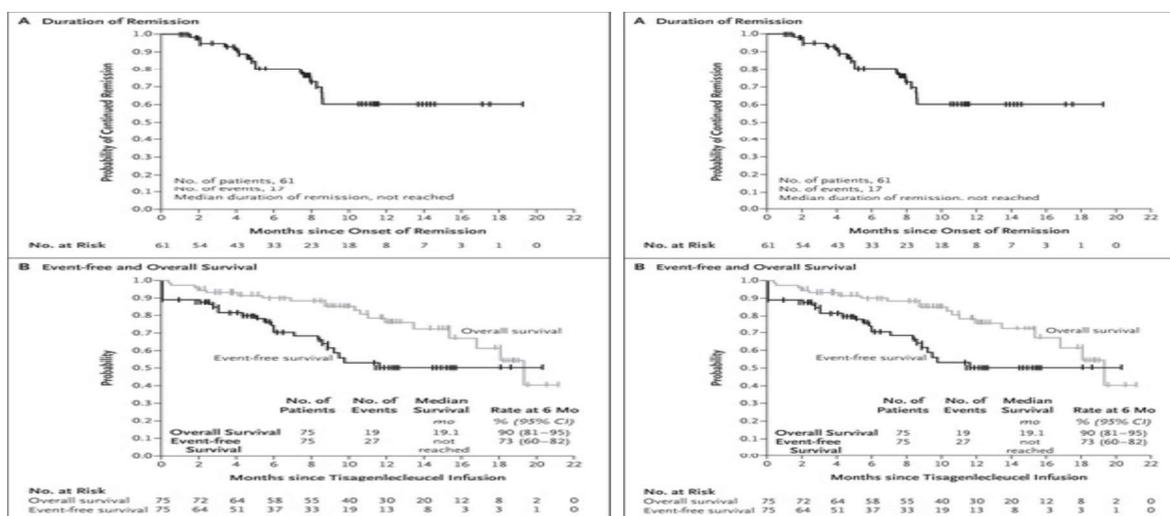
Nota: Avaliação Clínica da persistência de CTL019 e remissões duradouras. O painel A mostra os resultados da detecção de células T positivas para CTL019 detectadas por meio de citometria de fluxo em amostras de sangue periférico. O painel B mostra a curva de Kaplan-Meier do tempo até a primeira medição negativa confirmada no sangue periférico e na medula óssea. Os

dados foram censurados no momento do último acompanhamento. As linhas tracejadas representam intervalos de confiança de 95%. O painel C mostra medições de células T modificadas pelo gene CTL019 no sangue periférico, conforme avaliado por meio de ensaio quantitativo de reação em cadeia da polimerase (PCR) em tempo real. O DNA genômico foi isolado de amostras de sangue total obtidas em momentos seriais antes e depois da infusão de CTL019. A linha horizontal de 5 cópias por micrograma de DNA representa o limite inferior de quantificação deste ensaio. Os dados dos pacientes que não obtiveram resposta são mostrados em vermelho.

Apesar dos resultados positivos de remissão desse estudo, considerando que a LLA está associada a um prognóstico extremamente ruim em adultos e continua sendo uma das principais causas de morte por câncer infantil, neste momento ainda existem efeitos colaterais consideráveis para essa terapêutica, como síndrome de liberação de citocina, encefalopatia e aplasia de células B.

Porém, não só esse, mas outros casos clínicos, como por exemplo o Davila et al. e o Maude et al., também trouxeram resultados clínicos promissores de remissão completa em pacientes com LLA recidivante ou refratária em anos posteriores (DAVILA et al., 2014) (MAUDE et al., 2018)

Figura 6 - Duração da remissão, sobrevivência livre de eventos e sobrevivência geral



Fonte: MAUDE et al., 2018

Nota: O painel A mostra a duração da remissão, definida como o tempo até a recaída após o início da remissão, nos 61 pacientes que tiveram uma melhor resposta global de remissão completa ou remissão completa com recuperação hematológica incompleta. O painel B mostra a sobrevivência livre de eventos entre os 75 pacientes que receberam uma infusão. Entre os 61 pacientes com remissão completa com ou sem recuperação hematológica completa, a duração mediana da resposta não foi alcançada (Figura 6A). A taxa de sobrevivência livre de recidiva entre os pacientes com resposta ao tratamento foi de 80% (IC 95%, 65 a 89) aos 6 meses e 59% (IC 95%, 41 a 73) aos 12 meses. A taxa de sobrevivência livre de eventos foi de 73% (IC 95%, 60 a 82) aos 6 meses e 50% (IC 95%, 35 a 64) aos 12 meses (Figura 6B); a sobrevivência mediana livre de eventos não foi alcançada. A taxa de sobrevivência global entre os 75 pacientes que receberam tisagenlecleucel foi de 90% (IC 95%, 81 a 95) 6 meses após a infusão e 76% (IC 95%, 63 a 86) 12 meses após a infusão (Figura 6B).

O tratamento de pacientes com LLA de células B recidivante ou refratária após falha de dois regimes é desafiador. A taxa de remissão global negativa para doença residual mínima de 81% e a taxa de sobrevida global em 6 meses de 90% encontrada neste estudo de tisagenlecleucel comparam-se favoravelmente com as taxas alcançadas com agentes aprovados pela Food and Drug Administration para LLA recidivante de células B. As remissões sustentadas nesses estudos, e nos demais demonstrados no Quadro 1, são encorajadoras para que essa terapia continue avançando e alcançando resultados promissores em outras malignidades oncológicas.

Quadro 1 - Ensaios Clínicos promissores em tumores hematológicos tratados com terapia CAR-T Cell

TH	Antígeno Alvo	População que recebeu a infusão (N)	RC e/ou DRM negativa N° pacientes (%)	Síndrome da Liberação de citocinas N° pacientes (%)	Neurotoxicidade N° pacientes (%)	Tempo de estudo
LLA r/r	CD19	N = 30 crianças e adultos	RC: 27 (90%) 19 continuaram em RC DRM: 22 (73%)	Total de eventos: 30 (100%) Grau 3 ou superior: 8 (27%)	Total de eventos: 13 (43%) Grau 3 ou superior:	2 a 24 meses (acompanhamento médio de 7 meses)
LLA-B com LCNC	CD19	N = 48 crianças e adultos	RC: 41 (85,4%) DRM: 35 (73%)	Total de eventos: 43 (89,6%) Grau 3 ou superior: 9 (18,8%)	Total de eventos: 18 (37,5%) Grau 3 ou superior: 11 (22,9%)	12 meses
LDGCB (r/r)	CD19	N = 256 adultos	RC: 136 (53%) DRM: não avaliado	Total de eventos: 113 (42%) Grau 3 ou superior: 6 (2%)	Total de eventos: 80 (30%) Grau 3 ou superior: 27 (10%)	18,8 meses
LLA-B r/r	CD19 autólogo KTE-X19	N = 55	RC: 31 (56%) DRM: 39 (70,9%)	Total de eventos: 50 (90,9%) Grau 3 ou superior: 13 (24%)	Total de eventos: 50 (90,9%) Grau 3 ou superior: 14 (25%)	16,4 meses
LCM r/r (tipo raro de LNH de células B)	CD19 autólogo KTE-X19	N = 68	RC: 40 (67% dos 60 pacientes avaliados) DRM: 24 (83% dos avaliados) (obs: apenas 29 pacientes foram avaliados)	Total de eventos: 62 (91%) Grau 3 ou superior: 10 (15%)	Total de eventos: 43 (63%) Grau 3 ou superior: 21 (31%)	12,3 meses

TH	Antígeno Alvo	População que recebeu a infusão (N)	RC e/ou DRM negativa Nº pacientes (%)	Síndrome da Liberação de citocinas Nº pacientes (%)	Neurotoxicidade Nº pacientes (%)	Tempo de estudo
LDGCB (r/r)	CD19	N = 111 Apenas 93 foram incluídos na avaliação da eficácia	RC: 37 (40%) DRM: não avaliado	Total de eventos: 64 (58%) Grau 3 ou superior: 24 (21,6%)	Total de eventos: 23 (21%) Grau 3 ou superior: 13 (12%)	14 meses
Mieloma múltiplo r/r	BCMA bb2121	N = 33 adultos	RC: 15 (45%) DRM: 16 (100% dos pacientes avaliados)	Total de eventos: 25 (76%) Grau 3 ou superior: 2 (6%)	Total de eventos: 14 (42%) Grau 3 ou superior: 1 (3%)	27 meses
Linfoma de Hodgkin (r/r)	CD30	N = 41 (37 avaliados)	RC: 19 (59%) DRM: não foi avaliado	Total de eventos: 10 (24%) Grau 3 ou superior: 0	Total de eventos: 0 Grau 3 ou superior: 0	Aproximadamente 18 meses (533 dias)
Mieloma múltiplo r/r	BCMA com alvo direcionado a GPRC5D (MCAHR109)	N= 17	RC: 6 (35%) DRM: 8 (47%)	Total de eventos: 15 (88%) Grau 3 ou superior: 1 (6%)	Total de eventos: 1 (6%) Grau 3 ou superior: 1 (6%)	10,1 meses
LDGCB ou LF (r/r)	CD19	N = 28 adultos	RC: 6 (43% dos pacientes com LDGCB) 10 (71% dos pacientes com LF)	Total de eventos: 16 (57%) Grau 3 ou superior: 5 (18%)	Total de eventos: 11 (39%) Grau 3 ou superior: 3 (11%)	28,6 meses
LLA de células B r/r de longo prazo	CD19-28z	N = 53 adultos	RC: 44 (83%) DRM: 32 (60%)	Total de eventos: 45 (85%) Grau 3 ou superior: 14 (26%)	Total de eventos: 23 (44%) Grau 3 ou superior: 22 (42%)	29 meses

Nota: DRM = Doença Residual Mínima/ RC = Remissão Completa

Referências: 1- SCHUSTER et al., 2018; 2- RAJE et al., 2021; 3- RAMOS, et al., 2020; 4- MAILANKODY, 2023; 5- SCHUSTER et al., 2017; 6- PARK et al., 2018; 7- MAUDE et al., 2014; 8- QI et al., 2022; 9- ABRAMSON et al., 2020, OGASAWARA et al., 2021; 10- SHAH et al., 2021; 11- WANG et al., 2020.

Devido a esses avanços alcançados no tratamento de tumores hematológicos, o progresso da terapia com células CAR-T em relação aos tumores sólidos tem se revelado menos promissor, deparando-se com diversos desafios. Estes desafios incluem a complexidade molecular e clonal significativa dos tumores

sólidos, bem como suas características histopatológicas peculiares e variadas localizações anatômicas (NARDO et al., 2021). Podemos observar essa desvantagem nos resultados, em comparação com os dos tumores hematológicos, nos ensaios clínicos demonstrados na Quadro 2.

Quadro 2 - Ensaios Clínicos com resultados de Terapias com CAR-T Cell em Tumores Sólidos

TS	Alvo do Receptor CAR	Qnt. Pacientes	Resultados	Última atualização	Nº do Estudo	Referência
HCC, PC e OC com expressão de GPC3 ou MSLN	GPC3 ou MSLN	6	ORR = 66,66%	28/02/2023	NCT03198546	PANG, N. et al. IL-7 and CCL19-secreting CAR-T cell therapy for tumors with positive glypican-3 or mesothelin. <i>Journal of Hematology & Oncology</i> , v. 14, n. 1, p. 118-29 dez. 2021.
Câncer do SD positivo para CLDN18.2	Claudin18.2 (CLDN18.2)	37	ORR = 48,6%	14/03/2022	NCT03874897	QI, C. et al. Claudin18.2-specific CAR T cells in gastrointestinal cancers: phase 1 trial interim results. <i>Nature Medicine</i> , v. 28, n. 6, p. 1189-1198, 9 jun. 2022.
Câncer pleural positivo para mesotelina	Mesotelina	27	ORR = 37,03%	05/07/2023	NCT02414269	ADUSUMILLI, P. S. et al. A Phase I Trial of Regional Mesothelin-Targeted CAR T-cell Therapy in Patients with Malignant Pleural Disease, in Combination with the Anti-PD-1 Agent Pembrolizumab. <i>Cancer Discovery</i> , v. 11, n. 11, p. 2748-2763, 1 nov. 2021.
Tumor sólido positivos para mesotelina	Mesotelina	15	ORR = 13,33%	10/08/2020	NCT03545815	WANG, Z. et al. Phase I study of CAR-T cells with PD-1 and TCR disruption in mesothelin-positive solid tumors. <i>Cellular & Molecular Immunology</i> , v. 18, n. 9, p. 2188-2198, 11 set. 2021.
Tumor sólido com expressão de MAGE-A4	MAGE-A4	38	ORR = 23,68%	10/08/2022	NCT03132922	HONG, D. S. et al. Autologous T cell therapy for MAGE-A4+ solid cancers in HLA-A*02+ patients: a phase 1 trial. <i>Nature Medicine</i> , v. 29, n. 1, p. 104-114, 9 jan. 2023.

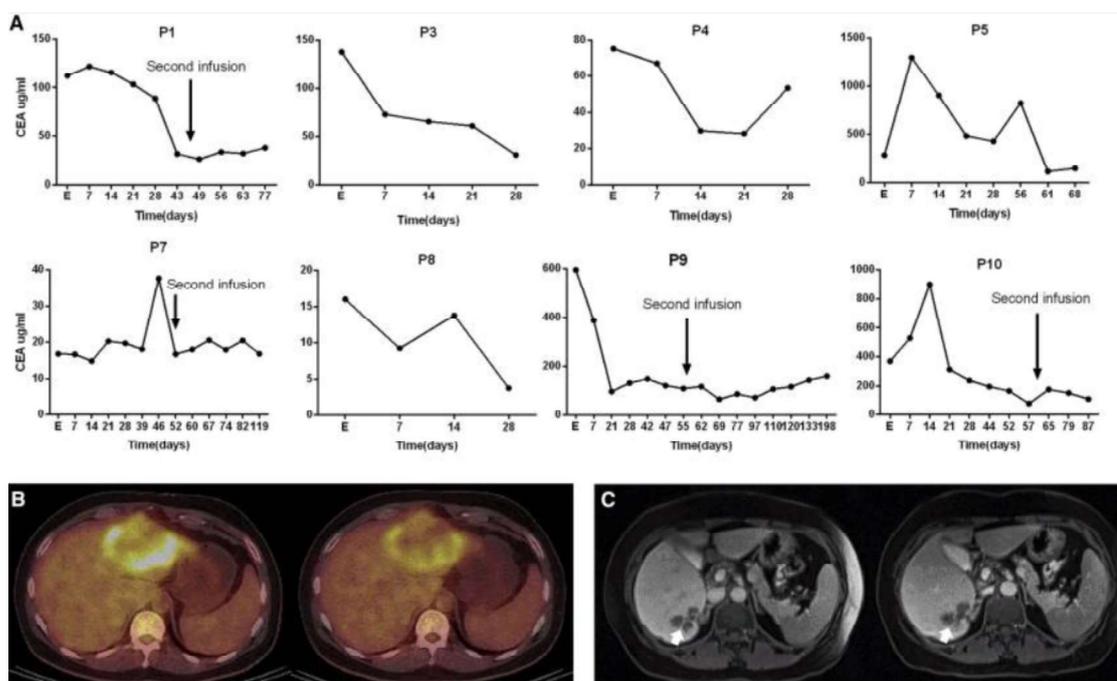
Nota: HCC= Carcinoma Hepatocelular/ PC= Câncer de Prostata/ GPC3= Glypican-3/ MSLN= Fmesotelina/ SD= Sistema Digestivo/ MAGE-A4= antígeno 4 associado ao melanoma

Os resultados observados nesse Quadro 2 tratam-se da taxa de resposta global (ORR), que significa o número de pacientes com uma redução do tamanho do tumor de uma quantidade pré- definida para um período de tempo mínimo (PAZDUR, 2008), ou seja este engloba qualquer tipo de alteração positiva identificada durante o tratamento do tumor, seja ela mínima ou de extrema significância. Já no caso do Quadro 1, a qual apresenta dados obtidos em tratamentos de tumores hematológicos, os resultados apresentados são referentes à remissão completa ou parcial do tumor, além de medir a doença residual mínima (DRM). Sendo assim, tratam-se de resultados mais específicos, o que demonstra melhor a segurança e eficácia do tratamento.

Entretanto, Zhang et al. e Liu et al., foram alguns dos estudos envolvendo tumores sólidos na terapia CAR-T que tiveram resultados clínicos significativos apesar das várias limitações.

Este primeiro, traz resultados sobre a segurança e eficácia da terapia CAR-T direcionada a pacientes com câncer colorretal (CRC) positivo para antígeno carcino-embrionário (CEA). Os autores constataram que a terapia com CEA CAR-T foi bem tolerada e sem eventos adversos graves relacionados à terapia. Além disso, relataram que dos 10 pacientes em análise, 7 que apresentaram doença progressiva (DP) em tratamentos anteriores apresentaram doença estável após a terapia CAR-T, o que nos sugere um bom índice de eficácia desse tratamento. Dois permaneceram com doença estável por mais de 30 semanas, e outros dois apresentaram redução do tumor por tomografia por emissão de pósitrons (PET)/tomografia computadorizada (TC) (Figura 7B) e análise de ressonância magnética (Figura 7C), respectivamente. O declínio do nível sérico de CEA (Figura 7A) foi aparente na maioria dos pacientes, mesmo em observação de longo prazo. Além disso, pode-se observar a persistência de células CAR-T no sangue periférico de pacientes que receberam altas doses de terapia CAR-T (ZHANG et al., 2017).

Figura 7 - Avaliação Clínica da Terapia CAR-T em CCR

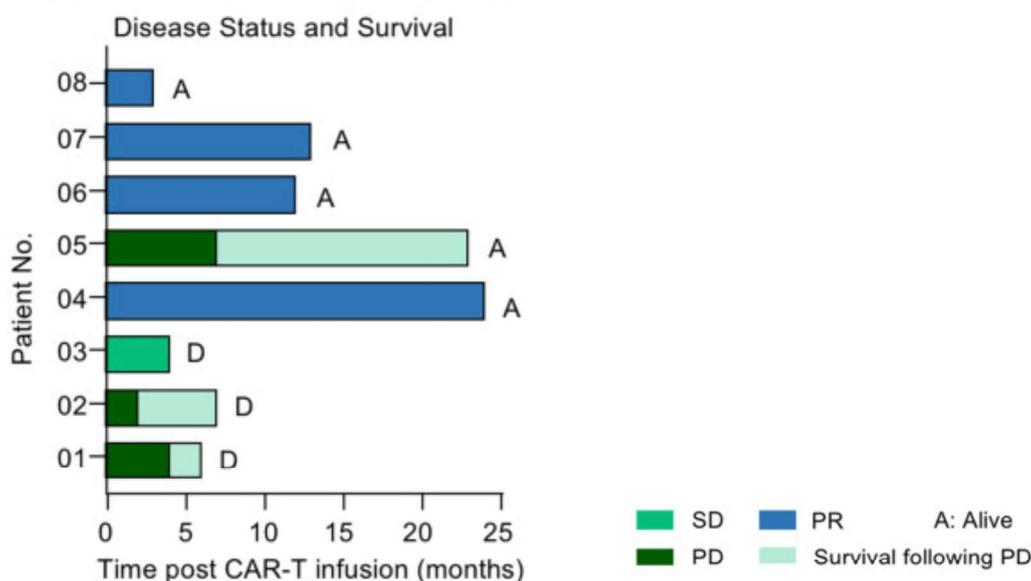


Fonte: Zhang et al., 2017

Nota: Avaliação Clínica da Terapia CAR-T - (A) A maioria dos pacientes apresentou níveis diminuídos de CEA em resposta à terapia CAR-T. (B) Avaliação PET/CT do paciente 9 no segundo tempo de infusão (P9-2) recebendo o nível de dose 5 (DL5) antes (esquerda) e 4 semanas após (direita) infusão de CAR-T. (C) Avaliação de ressonância magnética do paciente 10 (P10) recebendo nível de dose 4 (DL4) antes (esquerda) e 4 semanas após (direita) infusão de CAR-T.

O segundo estudo trouxe como objetivo a validação da segurança, da eficácia e da especificidade anti-glioblastoma (GBM) da terapia ao realizar a infusão de células CAR-T de quarta geração específicas para GD2, em pacientes com glioblastoma. Ao todo, 8 pacientes com GBM positivo foram avaliados e infundidos com células 4SCAR-T autólogas específicas para GD2. Como resultado, quatro pacientes tiveram resposta parcial durante 3 a 24 meses, três deles apresentaram doença progressiva durante o período de 6 a 23 meses e um apresentou doença estável por 4 meses após a infusão. Em suma, cinco pacientes tiveram um benefício clínico definido por uma resposta parcial e doença estável, a Figura 8 mostra esses resultados através de um gráfico. A sobrevida global mediana foi de 10 meses, apesar de parecer um valor baixo, é extremamente relevante, visto que essa doença trata-se do tumor cerebral humano mais agressivo e letal. A segurança desse método mostrou-se positiva, pois não foram observados efeitos adversos graves nos 8 pacientes avaliados (LIU et al., 2023).

Figura 8 - Gráfico “Swwimer’s plot” descrevendo o estado da doença e a sobrevivência global dos pacientes



Fonte: adaptado de Liu et al., 2023

Nota: PD= doença progressiva. SD= doença estável. PR= resposta parcial. A, Vivo. D, Morto.

Devido ao número limitado de pacientes nesses estudos, admitimos que estes não foram ensaios clínicos abrangentes. No entanto, com base na segurança e eficácia das terapias com células CAR-T demonstradas por estes ensaios clínicos, podemos observar na Quadro 3, que estudos para tumores sólidos continuam sendo conduzidos de forma esperançosa quanto ao futuro da pesquisa nessa área, e concluímos que novos estudos e avanços continuarão a moldar o caminho para terapias cada vez mais eficazes e promissoras no combate a essas condições médicas desafiadoras.

Quadro 3 - Ensaios Clínicos em Andamento para novas perspectivas do Tratamento de Tumores Sólidos com Terapia CAR-T Cell

Nº de identificação do antígeno	Antígeno alvo	Doença(s)	Status/ Estágio do estudo	Objetivos principais do estudo
NCT06010862	CEA	Câncer do cólon, gástrico, pulmonar, dos seios, pancreático, esofágico e colangiocarcinoma	Fase 1 - Recrutamento	Avaliação da segurança e da tolerabilidade da infusão de células CAR-T autólogas projetadas para atingir tumores sólidos avançados/metastáticos
NCT06010875	CD70	Carcinoma de células renais, Câncer do ovário, do útero. E cânceres metastáticos/avançados em geral	Fase 1 - Recrutamento	Avaliação da segurança e da eficácia da infusão de células CAR-T autólogas direcionadas ao alvo CD70 em tumores sólidos avançados/metastáticos
NCT04503980	MSLN	Câncer colorretal e Câncer do ovário	Fase 1 - Recrutamento	Avaliação da segurança (toxicidade limitante da dose) e da tolerabilidade da infusão de células CAR-T direcionadas à MSLN com a secreção de nanoanticorpos PD-1 em pacientes com tumores sólidos/metastáticos
NCT04249947	PSMA	Doença prostática, Carcinoma adenóide, Cístico, Carcinoma do ducto salivar, Carcinoma Mucoepidermóide mCRPC, SGC	Fase 1 – Ativo, não recrutando	Avaliação da segurança, da dose máxima tolerada e da eficácia da infusão de células CAR-T direcionadas ao antígeno PSMA em indivíduos com próstata metastática resistente à castração (mCRPC) ou com câncer avançado de glândula salivar (SGC). A fim de estabelecer uma dose recomendada para iniciar a fase 2.

Nº de identificação do antígeno	Antígeno alvo	Doença(s)	Status/ Estágio do estudo	Objetivos principais do estudo
NCT03696030	HER2	Metástases cerebrais e/ou Leptomeníngias de cânceres HER2 positivos e Câncer de mama	Fase 1 - Recrutamento	Determinação da segurança e da dosagem recomendada da infusão de células CAR-T autólogas direcionadas a HER2 no tratamento de participantes com metástases cerebrais ou leptomeninges r/r
NCT05515185	B7-H3	Doenças Gastrointestinais avançadas e Tumores Sólidos avançados	Fase Inicial 1 – Ainda não recrutando	Avaliação da segurança e da eficácia da infusão de células CAR-T autólogas no tratamento de pacientes com tumores sólidos avançados
NCT05748938	ROR1	Tumores sólidos avançados	Fase 1/2 - Recrutamento	Avaliação da segurança e tolerabilidade da infusão de células CAR-T autólogas no tratamento de pacientes com tumores sólidos avançados ROR1+

Portanto, é relevante observar que a eficácia da terapia CAR-T pode variar entre cânceres hematológicos e cânceres sólidos. (HOU et al., 2019). Ela demonstra, em geral, uma maior eficácia em cânceres hematológicos por diversas razões fundamentais.

Primeiramente, a acessibilidade das células-alvo constitui um fator crucial. Nos cânceres hematológicos, as células cancerígenas encontram-se mais acessíveis ao sistema imunológico, uma vez que circulam na corrente sanguínea ou estão presentes na medula óssea. Essa disposição facilita a interação entre as células T modificadas e as células cancerígenas (LIU et al., 2022).

Adicionalmente, é importante mencionar a presença de alvos bem definidos em muitos cânceres hematológicos, como antígenos de superfície celular. Essa característica singular permite que as células T modificadas se liguem especificamente às células cancerígenas, conferindo à terapia um caráter altamente direcionado e eficaz (HASLAUER et al., 2021).

Por conta da potencial sobreposição na expressão de antígenos nos tecidos epiteliais, a toxicidade resultante da expressão relativa do alvo em tecidos saudáveis representa uma restrição adicional a ser vencida por abordagens inovadoras. Além disso, um dos principais obstáculos na aplicação em tumores sólidos consiste na identificação de antígenos tumorais de superfície que sejam distintivos e susceptíveis de reconhecimento pelo CAR (NARDO et al., 2021).

Essa restrição assume um papel de relevância crítica quando se trata de implementar a terapia celular adotiva em tumores sólidos, pois a maioria dos antígenos tumorais considerados de “alta prioridade” e a maior parte dos neoantígenos, consistem em proteínas intracelulares. Consequentemente, esses componentes estão submetidos exclusivamente à vigilância do sistema imunológico na forma de peptídeos de superfície celular transportados por moléculas do complexo principal de histocompatibilidade (MHC) (ZHANG et al., 2016).

A rápida expansão das células T também desempenha um papel determinante. As células T podem ser coletadas do paciente, passar por modificações genéticas em laboratório para expressar os receptores CAR específicos e, em seguida, ser multiplicadas em grande quantidade antes de serem reintroduzidas no paciente. Esse procedimento demonstra maior eficácia quando as células T podem ser expandidas de forma ágil, o que se mostra mais viável em cânceres hematológicos (SLANEY; KERSHAW; DARCY, 2014).

Outra consideração relevante é o microambiente imunológico. Tumores sólidos frequentemente apresentam características que suprimem a resposta imunológica eficaz, tornando mais desafiante a infiltração e o ataque das células T modificadas às células cancerígenas. Em contrapartida, os cânceres hematológicos tendem a oferecer um microambiente mais favorável à ação das células T modificadas (CHENG et al., 2019) (LIU et al, 2021).

A diversidade considerável nos tumores sólidos cria um desafio significativo, tornando improvável a presença de um alvo comum em uma grande porção dos pacientes com o mesmo tipo de tumor (CAMPBELL et al., 2010). Isso contrasta fortemente com os resultados observados na terapia CAR T em tumores hematológicos. A discrepância essencial reside na complexidade de encontrar um antígeno-alvo adequado. Ao contrário dos tumores hematológicos, os tumores

sólidos raramente apresentam um antígeno específico exclusivo do tumor. Na maioria dos casos de tumores sólidos, é mais provável encontrar um antígeno associado ao tumor (AAT), que é caracterizado por sua alta expressão nos tumores, mas também é encontrado em baixos níveis nos tecidos saudáveis (MARTINEZ; MOON, 2019).

Por fim, deve-se destacar a disseminação sistêmica que é comum em muitos cânceres hematológicos. Essa natureza sistêmica implica que as células cancerígenas podem se espalhar mais facilmente por todo o corpo. As células T modificadas também têm um acesso mais efetivo a essas células cancerígenas disseminadas através da corrente sanguínea (LIU et al., 2022).

Em resumo, a terapia CAR-T, embora promissora em ambos os tipos de cânceres, apresenta um desempenho geralmente mais eficaz em cânceres hematológicos neste momento, devido a uma série de fatores que facilitam a abordagem terapêutica nesse contexto específico.

É importante ressaltar que a eficácia da terapia CAR-T em cânceres sólidos está sendo extensivamente pesquisada e há avanços nessa área, incluindo estratégias para superar os desafios apresentados pelo seu uso em tumores sólidos, como por exemplo as terapias CAR-NK (BASAR; DAHER; REZVANI, 2020) e CAR-M (CHEN et al., 2021).

4.4 Situação da Terapia Car-T no Brasil e no Mundo

4.4.1 Situação da Terapia Car-T no Mundo

Em 1987, foram registrados os primeiros estudos sobre CAR-T. Cientistas desenvolveram em laboratório um receptor quimérico de antígeno (CAR, de chimeric antigen receptor, em inglês). O DNA que codifica esse receptor foi implantado em células T para criar as células CAR-T. Descobriu-se então que essas células são capazes de se ligar a células tumorais, ajudando a destruir as células do câncer. E que após eliminar os tumores, as CAR-T não desaparecem do organismo. Elas permanecem na circulação sanguínea por anos, tornando-se “guardiões” prontos a chamar outras células CAR-T para destruir novas células tumorais que eventualmente apareçam. (HEMOCENTRO RP, 2023).

Desde os primeiros casos de aplicação bem-sucedida das células CAR-T, diversos outros ensaios clínicos foram realizados nos Estados Unidos, culminando em 2017 com a aprovação da terapia pela Food and Drug Administration (FDA), agência reguladora de saúde dos Estados Unidos. Atualmente, a FDA já aprovou cinco diferentes terapias CAR-T para casos terminais de leucemia e de linfoma (Instituto Butantan, 2023).

A terapia celular CAR-T é a mais avançada e promissora ferramenta do arsenal médico no combate a certos tipos de câncer de sangue, como leucemia e linfoma. Desde a realização dos primeiros ensaios clínicos da CAR-T, em 2010, nos Estados Unidos, mais de 10 mil pacientes terminais em todo o mundo já foram submetidos ao procedimento e muitos alcançaram remissão da doença (HEMOCENTRO RP, 2023).

Eram pacientes desenganados, que recorreram à CAR-T como a última alternativa para tratar o câncer. Médicos que atuam com a terapia há anos estimam que, nos primeiros anos, a taxa de sucesso para a remissão dos tumores ficava entre 30% e 40% dos pacientes; hoje, a eficácia supera os 80%. Ou seja, 8 em cada 10 pacientes com leucemia ou linfoma em estágio terminal que se submetem à terapia CAR-T não apenas sobrevivem, como apresentam remissão completa dos tumores (Instituto Butantan, 2023).

4.4.2 Situação da Terapia Car-T no Brasil

Os primeiros pacientes a receberem a CAR-T no Brasil, foi em 2019. O Centro de Terapia Celular do Hemocentro de Ribeirão Preto (CTC-USP) aplicou a terapia de forma experimental em pacientes com cânceres de sangue, especificamente linfoma e leucemia, que não tinham mais alternativas de tratamento. A maioria alcançou remissão (HEMOCENTRO RP, 2023).

E em junho de 2022 foi criado o Programa de Terapia Celular. A tecnologia CAR-T agora se difunde no Brasil com os novos centros de produção de terapia celular para câncer criados pelo Instituto Butantan, pela Universidade de São Paulo e pelo Hemocentro de Ribeirão Preto, sediados nas cidades de São Paulo e Ribeirão Preto. As unidades terão capacidade de tratar de 200 a 300 pacientes por ano e o

objetivo do projeto é ampliar o acesso à CAR-T e disponibilizá-la no Sistema Único de Saúde (SUS) (Associação Brasileira de Linfoma e Leucemia - ABRALE, 2023).

O CAR-T ainda não foi incorporado ao SUS, devido, principalmente, ao alto custo da terapia. Mas há algumas iniciativas públicas para desenvolver um tratamento que seja menos custoso e possa ser disponibilizado para esses pacientes (Associação Brasileira de Linfoma e Leucemia - ABRALE, 2023).

Em 2022, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa) aprovou a entrada da primeira terapia CAR-T Cell no Brasil. Depois dela, dois outros tratamentos dessa linha foram aprovados, mas somente a partir de novembro desse mesmo ano que a comercialização foi iniciada. Além disso, desde essa primeira aprovação, hospitais brasileiros desenvolveram e estão participando de estudos para analisar novos procedimentos e criar terapias totalmente nacionais (Associação Brasileira de Linfoma e Leucemia - ABRALE, 2023).

Em fevereiro de 2022 o Kymriah® (tisagenlecleucel), da empresa Novartis Biociência, chegou ao nosso país. Ele foi aprovado para pacientes de leucemia linfóide aguda (LLA) B refratária ou a partir da segunda recidiva com até 25 anos e pacientes adultos com linfoma difuso de grandes células B (Associação Brasileira de Linfoma e Leucemia - ABRALE, 2023).

Em abril, foi a vez do Carvykti® (ciltacabtageno autoleucel), da empresa Janssen-Cilag Farmacêutica, ser aprovado para pacientes de mieloma múltiplo (MM) que já realizaram, pelo menos, três terapias anteriores (ABRALE, 2023). (Associação Brasileira de Linfoma e Leucemia - ABRALE, 2023).

Alguns meses depois, em outubro, a terceira terapia, o Yescarta® (axicabtagene ciloleucel), da Kite, recebeu aval da Anvisa. Ele é recomendado para pacientes adultos com linfoma de grandes células B recidivado ou refratário (Associação Brasileira de Linfoma e Leucemia - ABRALE, 2023).

Porém, apesar de todos esses procedimentos já estarem aprovados, somente o Kymriah® foi precificado, ou seja, foi definido o quanto ele vai custar, e está sendo comercializado – segundo a Câmara de Regulação do Mercado de Medicamentos (CEMED), ele poderá custar até R\$ 2,1 milhões por paciente. O Yescarta® está em processo de ser precificado e alguns centros de tratamento brasileiros estão

realizando o estudo CARTITUDE-5, com o Carvykti® (Associação Brasileira de Linfoma e Leucemia - ABRALE, 2023).

Como falado anteriormente, até o momento, o Kymriah® é o único a ter seu preço definido e, por isso, é o único que está sendo realizado de forma comercial. Para poder aplicar esse tipo de terapia, os hospitais precisam ter uma série de certificações e possuir instalações apropriadas para cuidar do paciente (ABRALE, 2023). A aprovação da Anvisa é apenas uma parte do processo de disponibilização do medicamento no país. (A.C.Camargo - Cancer Center, 2023).

Atualmente, há dois principais estudos em andamento no Brasil: o CARTITUDE-5 e um estudo acadêmico, criado pelo Hospital Israelita Albert Einstein.

O CARTITUDE-5 é um estudo multicêntrico e multinacional, isto é, que acontece em diversos centros de vários países, e é realizado com o Carvykti® para pacientes de mieloma múltiplo recém-diagnosticados. O objetivo da pesquisa é analisar qual tratamento tem melhor resposta: quimioterapia de indução (bortezomibe, lenalidomida e dexametasona) e com uma única aplicação da CAR-T Cell ou quimioterapia de indução seguida de manutenção (lenalidomida e dexametasona) (Associação Brasileira de Linfoma e Leucemia - ABRALE, 2023).

Os estudos estão em fase clínica inicial (Fase 1/2). O objetivo é avaliar a segurança e a eficácia no tratamento de pacientes com leucemia linfóide aguda B e linfoma não Hodgkin B, recidivados e refratários (ou seja, em casos de reaparecimento da doença ou de resistência ao tratamento padrão) (Agência Nacional de Vigilância Sanitária - Anvisa, 2023).

Após a aprovação do início do ensaio clínico, a Anvisa criou um plano de acompanhamento. Isso envolve revisões frequentes dos dados e informações da pesquisa, com ações planejadas até dezembro de 2024, para monitorar de perto o desenvolvimento do produto. Se os resultados forem bons, o objetivo é registrar o produto rapidamente para que as pessoas tenham acesso a uma opção de tratamento segura, eficaz e de alta qualidade disponível no SUS (Agência Nacional de Vigilância Sanitária - Anvisa, 2023).

A Anvisa desempenha um papel fundamental no apoio ao desenvolvimento de produtos e medicamentos inovadores no Brasil. Isso faz parte dos esforços da

Agência para contribuir com a estratégia nacional para o desenvolvimento do complexo econômico-industrial da saúde, implementado pelo Governo Federal (Agência Nacional de Vigilância Sanitária - Anvisa, 2023).

Com as publicações das primeiras normas sanitárias específicas para os produtos de terapia avançada (PTAs), o Brasil passou a integrar o pequeno grupo de países com base regulatória para o desenvolvimento e o uso desses produtos inovadores. (Agência Nacional de Vigilância Sanitária - Anvisa, 2023).

Agora, mais de 40 ensaios clínicos com PTAs experimentais estão acontecendo no país, após a aprovação da Anvisa. Um destaque vai para outro ensaio clínico de fase 1 com produto de terapia gênica, chamado CAR-T, que está sendo desenvolvido por pesquisadores brasileiros do Hospital Israelita Albert Einstein, para tratamento de câncer do sangue (Agência Nacional de Vigilância Sanitária - Anvisa, 2023).

A ciência global está avançando rapidamente para melhorar a qualidade de vida das pessoas em todo o mundo. Os produtos de terapia avançada, que são uma nova fronteira na medicina, já estão disponíveis para muitos pacientes com doenças graves ou raras, que não têm outras opções de tratamento. Esses produtos incluem terapia gênica, terapias celulares e engenharia de tecidos (Agência Nacional de Vigilância Sanitária - Anvisa, 2023).

Nesse cenário inovador, é essencial aplicar regulamentos desde o início do desenvolvimento dos produtos, a fim de garantir a sua segurança, eficácia e qualidade. A experiência recente no Brasil e no mundo têm mostrado que quando os pesquisadores e a Anvisa trabalham juntos desde o começo, isso pode resultar em dados científicos melhores em termos de segurança, eficácia e qualidade. Isso, por sua vez, pode acelerar o acesso da população a novas tecnologias em saúde (Agência Nacional de Vigilância Sanitária - Anvisa, 2023).

Este tratamento traz benefícios para os pacientes, ao tangibilizar novas possibilidades de tratamento e até mesmo um potencial de cura para doenças até então sem opções terapêuticas; e para a sociedade, ao propiciar que pacientes, familiares e/ou cuidadores tenham ganhos na qualidade de vida, voltando a trabalhar e buscar suas aspirações pessoais (A.C.Camargo - Cancer Center, 2023).

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Olhando para o futuro, é esperado que a terapia com células CAR-T tenha o potencial de se expandir para além dos cânceres hematológicos, oferecendo novas perspectivas para pacientes com diferentes tipos de câncer e até mesmo para doenças não oncológicas. No entanto, isso exigirá pesquisas adicionais e investimentos em desenvolvimento, que garantam uma resposta segura e eficaz, minimizando ao máximo os efeitos colaterais e aumentando substancialmente as chances de cura aos pacientes.

A terapia CAR-T representa uma esperança real no tratamento do câncer, oferecendo resultados notáveis em leucemias e, cada vez mais, em alguns cânceres sólidos. No entanto, a compreensão das nuances da terapia CAR-T é fundamental para melhorar a eficácia e a acessibilidade dessa abordagem terapêutica inovadora, abrindo portas para um futuro mais esperançoso para pacientes com diferentes tipos de câncer.

A qualidade de vida dos pacientes também está no centro das considerações. A terapia com células CAR-T pode oferecer não apenas taxas de sobrevivência aprimoradas, mas também uma vida mais longa e saudável com menos efeitos colaterais, representando um marco importante na jornada do paciente.

O tratamento do câncer é um campo complexo e em constante evolução, onde diferentes abordagens são aplicadas de acordo com o tipo, estágio e características individuais do paciente. Cada tipo de tratamento possui suas próprias vantagens e desvantagens, e muitas vezes uma combinação de melhores abordagens é necessária para alcançar os resultados. Além disso, como reflexo do conhecimento aprimorado da comunidade científica acerca das respostas imunes contra cânceres e o sucesso terapêutico da imunoterapia do câncer, hoje incluímos a habilidade das células tumorais de evadir os mecanismos de defesa imune do hospedeiro como uma das características marcantes do câncer. Com pesquisa e desenvolvimento contínuos, a esperança de fornecer tratamentos mais eficazes e menos invasivos para os pacientes com câncer permanece uma prioridade constante na busca pela cura e bem-estar.

Em última análise, a terapia com células CAR-T é um exemplo notável de como a colaboração entre pesquisadores, profissionais de saúde, indústria farmacêutica e pacientes pode resultar em avanços significativos na medicina. O contínuo investimento em pesquisa e desenvolvimento, além da constante colaboração dos profissionais da área da saúde e dos pesquisadores de diferentes países em realizar a troca de informações é fundamental para garantir que essa terapia continue a evoluir e beneficie um número cada vez maior de pacientes.

REFERÊNCIAS

- ABBAS, Abul K.; LICHTMAN, Andrew H. PILLAI, Shiv. **Imunologia Celular e Molecular**. 8 ed. [s. l.]: Editora Elsevier, 2015.
- ABRAMSON, J. S. et al. Lisocabtagene maraleucel for patients with relapsed or refractory large B-cell lymphomas (TRANSCEND NHL 001): a multicentre seamless design study. **The Lancet**, v. 396, n. 10254, p. 839–852, set. 2020.
- ADUSUMILLI, P. S. et al. A Phase I Trial of Regional Mesothelin-Targeted CAR T-cell Therapy in Patients with Malignant Pleural Disease, in Combination with the Anti-PD-1 Agent Pembrolizumab. **Cancer Discovery**, v. 11, n. 11, p. 2748–2763, 1 nov. 2021.
- ALMEIDA, S. A. DE et al. Imunoterapia com células CAR-T como nova perspectiva de tratamento da leucemia linfoblástica aguda recidivada/refratária. **Revista Médica de Minas Gerais**, 22 set. 2021.
- AMERICAN CANCER SOCIETY. **How Immunotherapy Is Used to Treat Cancer**. Estados Unidos, 2021. Disponível em: <https://www.cancer.org/cancer/managing-cancer/treatment-types/immunotherapy/car-t-cell1.html>. Acesso em: 15 de agosto de 2023.
- ANVISA. (2023). TERAPIA GÊNICA. Anvisa autoriza pesquisa clínica com células CAR-T no Brasil. Desenvolvida por pesquisadores brasileiros, pesquisa representa mais um avanço na luta contra o câncer. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/noticias-anvisa/2023/anvisa-autoriza-pesquisa-clinica-com-celulas-201ccar-2013-t201d-no-brasil#:~:text=Terapias%20avan%C3%A7adas%20no%20Brasil,por%20empresas%20farmac%C3%AAuticas%20biotecnol%C3%B3gicas%20internacionais>
- APARÍCIO, C.; ACEBAL, C.; GONZÁLEZ-VALLINAS, M. Current approaches to develop “off-the-shelf” chimeric antigen receptor (CAR)-T cells for cancer treatment: a systematic review. **Experimental Hematology & Oncology**, v. 12, n. 1, p. 73, 21 ago. 2023.
- ARCANGELI, Silvia *et al.* Next-Generation Manufacturing Protocols Enriching TSCM CAR T Cells Can Overcome Disease-Specific T Cell Defects in Cancer Patients. **Frontiers in Immunology**, vol. 11, 19 jun. 2020. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.01217>.
- BASAR, R.; DAHER, M.; REZVANI, K. Next-generation cell therapies: the emerging role of CAR-NK cells. **Hematology**, v. 2020, n. 1, p. 570–578, 4 dez. 2020.
- BRENTJENS, R. J. et al. Safety and persistence of adoptively transferred autologous CD19-targeted T cells in patients with relapsed or chemotherapy refractory B-cell leukemias. **Blood**, v. 118, n. 18, p. 4817–4828, 3 nov. 2011.
- CAMPBELL, P. J. et al. The patterns and dynamics of genomic instability in metastatic pancreatic cancer. **Nature**, v. 467, n. 7319, p. 1109–1113, 27 out. 2010.

CAVAZZANA-CALVO, Marina; HACEIN-BEY-ABINA, Salima; FISCHER, Alain. Dix ans de thérapie génique Réflexions. **médecine/sciences**, vol. 26, n° 2, p. 115–118, 15 fev. 2010. <https://doi.org/10.1051/medsci/2010262115>.

CHEN, Y. et al. CAR-macrophage: A new immunotherapy candidate against solid tumors. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 139, p. 111605, jul. 2021.

CHENG, J. et al. Understanding the Mechanisms of Resistance to CAR T-Cell Therapy in Malignancies. **Frontiers in Oncology**, v. 9, 21 nov. 2019.

COPPOLA, C. et al. Investigation of the Impact from IL-2, IL-7, and IL-15 on the Growth and Signaling of Activated CD4+ T Cells. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 21, n. 21, p. 7814, 22 out. 2020.

CRUZ, Daniel V. **Estudos sobre o Câncer**. 1ª Edição. Pernambuco: OMNIS Scientia, 2021. E-book. Disponível em: <https://editoraomnisscientia.com.br/editora/livros/04030234.pdf>. Acesso em: 22 ago. 2023.

FILHO, Dr. Jayr Schmidt. (2023). Tudo sobre células CAR-T. A.C Camargo - Cancer Center.

<https://accamargo.org.br/sobre-o-cancer/tratamento-oncologico/tudo-sobre-celulas-car-t#:~:text=Atualmente%2C%20as%20indica%C3%A7%C3%B5es%20j%C3%A1%20aprovadas,recidivado%20ou%20refrat%C3%A1rio%20da%20doen%C3%A7a>

DAVILA, M. L. et al. Efficacy and Toxicity Management of 19-28z CAR T Cell Therapy in B Cell Acute Lymphoblastic Leukemia. **Science Translational Medicine**, v. 6, n. 224, 19 fev. 2014.

DAVILA, M. L.; SADELAIN, M. Biology and clinical application of CAR T cells for B cell malignancies. **International Journal of Hematology**, v. 104, n. 1, p. 6–17, 1 jul. 2016

ELLIS, Gavin I.; SHEPPARD, Neil C.; RILEY, James L. Genetic engineering of T cells for immunotherapy. **Nature Reviews Genetics**, v. 22, p. 427–447, fev. 2021.

HACEIN-BEY-ABINA, Salima *et al.* Insertional oncogenesis in 4 patients after retrovirus-mediated gene therapy of SCID-X1. **Journal of Clinical Investigation**, vol. 118, n° 9, p. 3132–3142, 2 set. 2008. <https://doi.org/10.1172/JCI35700>.

HALIM, L.; MAHER, J. CAR T-cell immunotherapy of B-cell malignancy: the story so far. **Therapeutic Advances in Vaccines and Immunotherapy**, v. 8, p. 251513552092716, 27 jan. 2020.

HASLAUER, T. et al. CAR T-Cell Therapy in Hematological Malignancies. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 16, p. 8996, 20 ago. 2021.

HENRY, N. L.; HAYES, D. F. Cancer biomarkers. **Molecular Oncology**, v. 6, n. 2, p. 140–146, 6 abr. 2012.

HONG, D. S. et al. Autologous T cell therapy for MAGE-A4+ solid cancers in HLA-A*02+ patients: a phase 1 trial. **Nature Medicine**, v. 29, n. 1, p. 104–114, 9 jan. 2023.

HOU, B. et al. Efficiency of CAR-T Therapy for Treatment of Solid Tumor in Clinical Trials: A Meta-Analysis. **Disease Markers**, v. 2019, p. 1–11, 11 fev. 2019.

IARC WILD, Christopher (ed.); WEIDERPASS, Elisabete (ed.); STEWART Bernard (ed.). **World Cancer Report: Cancer research for cancer prevention**. France: Lyon: International Agency for Research on Cancer, 2020

INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER (Brasil). **Estimativa 2023: Incidência de câncer no Brasil / Instituto Nacional de Câncer**. – Rio de Janeiro: INCA, 2022 (INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER - INCA, 2022)

INSTITUTO BUTANTAN. (2023). A história da terapia CAR-T: 60 anos de evolução e pioneirismo em direção à cura do câncer. Instituto Butantan. <https://butantan.gov.br/noticias/a-historia-da-terapia-car-t-60-anos-de-evolucao-e-pioneerismo-em-direcao-a-cura-do-cancer>

KOCHENDERFER, J. N. et al. Adoptive transfer of syngeneic T cells transduced with a chimeric antigen receptor that recognizes murine CD19 can eradicate lymphoma and normal B cells. **Blood**, v. 116, n. 19, p. 3875–3886, 11 nov. 2010.

KOCHENDERFER, J. N. et al. Eradication of B-lineage cells and regression of lymphoma in a patient treated with autologous T cells genetically engineered to recognize CD19. **Blood**, v. 116, n. 20, p. 4099–4102, 18 nov. 2010.

LEVINE, B. L. et al. Global Manufacturing of CAR T Cell Therapy. **Molecular Therapy - Methods & Clinical Development**, v. 4, p. 92–101, mar. 2017.

LIU, G. et al. Enhancing CAR-T cell efficacy in solid tumors by targeting the tumor microenvironment. **Cellular & Molecular Immunology**, v. 18, n. 5, p. 1085–1095, 30 maio 2021.

LIU, Z. et al. Immunosuppression in tumor immune microenvironment and its optimization from CAR-T cell therapy. **Theranostics**, v. 12, n. 14, p. 6273–6290, 2022.

LIU, Z. et al. Safety and antitumor activity of GD2-Specific 4SCAR-T cells in patients with glioblastoma. **Molecular Cancer**, v. 22, n. 1, p. 3, 9 jan. 2023.

LOPES, Ana Luisa Kalb. **Transposons de DNA: Caracterização de sistemas de transposição TC1/MARINER e evolução de elementos *Merlin* em eucariotos**. 2021. Tese (Doutorado em Biologia Celular e Molecular) - Setor de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2021.

MAILANKODY, S. et al. GPRC5D-Targeted CAR T Cells for Myeloma. **New England Journal of Medicine**, v. 387, n. 13, p. 1196–1206, 29 set. 2022.

MARTINEZ, M.; MOON, E. K. CAR T Cells for Solid Tumors: New Strategies for Finding, Infiltrating, and Surviving in the Tumor Microenvironment. **Frontiers in Immunology**, v. 10, 5 fev. 2019.

MAUDE, S. L. et al. Chimeric Antigen Receptor T Cells for Sustained Remissions in Leukemia. **New England Journal of Medicine**, v. 371, n. 16, p. 1507–1517, 16 out. 2014.

MAUDE, S. L. et al. Tisagenlecleucel in Children and Young Adults with B-Cell Lymphoblastic Leukemia. **New England Journal of Medicine**, v. 378, n. 5, p. 439–448, fev. 2018.

MEEUSEN, Els; LIM, Elgene; MATHIVANAN, Suresh. Secreted Tumor Antigens: Immune Biomarkers for Diagnosis and Therapy. **Proteomics**, v. 17, n. 23-24, p. 1600442, 25 out. 2017. Acesso em: 21 jul. 2023

MANCINI, Natália. (2023). Terapia CAR-T Cell: como vem sendo aplicada no Brasil? ABRALE.

<https://revista.abrale.org.br/saude/2023/03/terapia-car-t-cell-como-vem-sendo-aplicada-no-brasil/>

MESQUITA JÚNIOR, Danilo et al. Sistema imunitário - parte II: fundamentos da resposta imunológica mediada por linfócitos T e B. **Revista Brasileira de Reumatologia**, v. 50, n. 5, p. 552–580, set. 2010.

MINISTÉRIO DA SAÚDE; INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER (Brasil). **ABC Do Câncer: Abordagens básicas para o controle do câncer**. 2 ed. Rio de Janeiro: INCA, 2012.

MOON, Peter. (2023). A história da terapia CAR-T: 60 anos de evolução e pioneirismo em direção à cura do câncer. Hemocentro RP. <https://www.hemocentro.fmrp.usp.br/a-historia-da-terapia-car-t-60-anos-de-evolucao-e-pioneirismo-em-direcao-a-cura-do-cancer/>

NARDO, Mirella *et al.* **Consenso da Associação Brasileira de Hematologia, Hemoterapia e Terapia Celular sobre Células Geneticamente Modificadas**. Artigo de Revisão: Terapia Celular em Tumores Sólidos. São Paulo, SBHH, 2021. Disponível em: <https://abhh.org.br/wp-content/uploads/2021/08/II.-Terapia-com-celulas-T-CAR-para-pacientes-adultos-e-criancas-portadores-de-leucemia-linfoide-aguda-CD19-1.pdf>. Acesso em: 13 de setembro de 2023.

NATIONAL CANCER INSTITUTE. **Types of Cancer Treatment**. Estados Unidos, 2021. Disponível em: <https://www.cancer.gov/about-cancer/treatment/types>. Acesso em: 14 de abril de 2023.

NATIONAL LIBRARY OF MEDICINE. Rockville Pike, Bethesda, 2008. Disponível em: <https://clinicaltrials.gov/>. Acesso em: 20 de setembro de 2023.

NEMKOV Travis; D'ALESSANDRO Angelo; REISZ Julie. Metabolic underpinnings of leukemia pathology and treatment. **Wiley Periodicals, Inc** (Hoboken). [s. l.]: [s. n.]. Oct. 2018.

NOGUEIRA-RODRIGUES, Angélica et al. **Oncologia Para Não Oncologistas**. 1 ed. [s. l.]: CoopMed, 2021

OGASAWARA, K. et al. Population Cellular Kinetics of Lisocabtagene Maraleucel, an Autologous CD19-Directed Chimeric Antigen Receptor T-Cell Product, in Patients with Relapsed/Refractory Large B-Cell Lymphoma. **Clinical Pharmacokinetics**, v. 60, n. 12, p. 1621–1633, 14 dez. 2021.

ORZETTI, S. et al. Genetic Therapy and Molecular Targeted Therapy in Oncology: Safety, Pharmacovigilance, and Perspectives for Research and Clinical Practice. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 23, n. 6, p. 3012, 10 mar. 2022.

PANG, N. et al. IL-7 and CCL19-secreting CAR-T cell therapy for tumors with positive glypican-3 or mesothelin. **Journal of Hematology & Oncology**, v. 14, n. 1, p. 118, 29 dez. 2021.

PARK, J. H. et al. Long-Term Follow-up of CD19 CAR Therapy in Acute Lymphoblastic Leukemia. **New England Journal of Medicine**, v. 378, n. 5, p. 449–459, fev. 2018.

PARSLOW, Tristram et al. **Imunologia Médica**. 10 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2018, pp. 495–501

PAZDUR, Richard. Endpoints for Assessing Drug Activity in Clinical Trials. **The Oncologist**, vol. 13, nº S2, p. 19–21, 1 abr. 2008. <https://doi.org/10.1634/theoncologist.13-S2-19>.

QI, C. et al. Claudin18.2-specific CAR T cells in gastrointestinal cancers: phase 1 trial interim results. **Nature Medicine**, v. 28, n. 6, p. 1189–1198, 9 jun. 2022.

QI, Y. et al. Efficacy and safety of CD19-specific CAR T cell-based therapy in B-cell acute lymphoblastic leukemia patients with CNSL. **Blood**, v. 139, n. 23, p. 3376–3386, 9 jun. 2022.

RAMOS, C. A. et al. Anti-CD30 CAR-T Cell Therapy in Relapsed and Refractory Hodgkin Lymphoma. **Journal of Clinical Oncology**, v. 38, n. 32, p. 3794–3804, 10 nov. 2020.

RAMOS, Rodrigo Nalio *et al.* **Consenso da Associação Brasileira de Hematologia, Hemoterapia e Terapia Celular sobre Células Geneticamente Modificadas**. VII: O presente e o futuro de tecnologias para a produção de terapias com células CAR. São Paulo, SBHH, 2021. Disponível em: <https://abhh.org.br/wp-content/uploads/2021/08/II.-Terapia-com-celulas-T-CAR-para-pacientes-adultos-e-criancas-portadores-de-leucemia-linfoide-aguda-CD19-1.pdf>. Acesso em: 01 de setembro de 2023.

ROBBINS, S. L.; KUMAR, V. (ed.); ABBAS, A.K. (ed.); FAUSTO, N. (ed.). **Patologia: Bases Patológicas das doenças**. 6. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2013.

SARHADI, V. K.; ARMENGOL, G. Molecular Biomarkers in Cancer. **Biomolecules**, v. 12, n. 8, p. 1021, 23 jul. 2022.

SCHUSTER, S. J. et al. Chimeric Antigen Receptor T Cells in Refractory B-Cell Lymphomas. **New England Journal of Medicine**, v. 377, n. 26, p. 2545–2554, 28 dez. 2017.

SEBER, Adriana et al. **Consenso da Associação Brasileira de Hematologia, Hemoterapia e Terapia Celular sobre Células Geneticamente Modificadas. II: Terapia com células CAR-T para pacientes portadores de leucemia linfoblástica aguda CD19+**. São Paulo, SBHH, 2021. Disponível em: <https://abhh.org.br/wp-content/uploads/2021/08/II.-Terapia-com-celulas-T-CAR-para-pacientes-adultos-e-criancas-portadores-de-leucemia-linfoide-aguda-CD19-1.pdf>. Acesso em: 27 de agosto de 2023.

SHAH, B. D. et al. KTE-X19 for relapsed or refractory adult B-cell acute lymphoblastic leukaemia: phase 2 results of the single-arm, open-label, multicentre ZUMA-3 study. **The Lancet**, v. 398, n. 10299, p. 491–502, ago. 2021.

SINGH, Harjeet *et al.* Reprogramming CD19-Specific T Cells with IL-21 Signaling Can Improve Adoptive Immunotherapy of B-Lineage Malignancies. **Cancer Research**, vol. 71, n° 10, p. 3516–3527, 15 maio 2011. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-10-3843>.

SLANEY, C. Y.; KERSHAW, M. H.; DARCY, P. K. Trafficking of T Cells into Tumors. **Cancer Research**, v. 74, n. 24, p. 7168–7174, 15 dez. 2014.

SUBKLEWE, M.; VON BERGWELT-BAILDON, M.; HUMPE, A. Chimeric Antigen Receptor T Cells: A Race to Revolutionize Cancer Therapy. **Transfusion Medicine and Hemotherapy**, v. 46, n. 1, p. 15–24, 2019.

TORREZINI, Thaissa; ATHANAZIO, Daniel Abensur. **Imunovigilância e Imunoedição de Neoplasias: Implicações Clínicas e Potencial Terapêutico**. 2006. Graduação em Medicina - Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública da Universidade Federal da Bahia (UFBA), Salvador (BA), 2007.

VARGAS, Jose Eduardo *et al.* Retroviral vectors and transposons for stable gene therapy: advances, current challenges and perspectives. **Journal of Translational Medicine**, vol. 14, n° 1, p. 288, 12 dez. 2016.

WANG, M. et al. KTE-X19 CAR T-Cell Therapy in Relapsed or Refractory Mantle-Cell Lymphoma. **New England Journal of Medicine**, v. 382, n. 14, p. 1331–1342, 2 abr. 2020.

WANG, Z. et al. Phase I study of CAR-T cells with PD-1 and TCR disruption in mesothelin-positive solid tumors. **Cellular & Molecular Immunology**, v. 18, n. 9, p. 2188–2198, 11 set. 2021.

WU, L.; QU, X. Cancer biomarker detection: recent achievements and challenges. **Chemical Society Reviews**, v. 44, n. 10, p. 2963–2997, 2015.

ZHANG, C. et al. Phase I Escalating-Dose Trial of CAR-T Therapy Targeting CEA+ Metastatic Colorectal Cancers. **Molecular Therapy**, v. 25, n. 5, p. 1248–1258, maio 2017.

ZHANG, H. et al. New Strategies for the Treatment of Solid Tumors with CAR-T Cells. **International Journal of Biological Sciences**, v. 12, n. 6, p. 718–729, 2016.