



USO DE CÉLULAS CAR-T NA IMUNOTERAPIA CONTRA O CÂNCER

GIULIA ELOAH DE PÁDUA RIBEIRO

RESUMO

Considerando a alta incidência do câncer na sociedade, além de sua elevada taxa de mortalidade no Brasil e em todo o mundo, estudos a respeito de novos tratamentos oncológicos têm sido realizados a fim de diminuir a letalidade de tal doença e, também, para restringir os efeitos colaterais causados nos pacientes tratados com as terapias anti-cancerígenas convencionais, como a quimioterapia, por exemplo. Desse modo, entende-se que o sistema imunológico é alvo de estudos que propõem o combate ao câncer, com o objetivo de buscar de soluções não tão invasivas como forma de tratamento, através da utilização de células de defesa modificadas do organismo do próprio lesado. Por essa perspectiva, a imunoterapia foi desenvolvida com o intuito de modular o sistema imunológico do próprio doente a fim de que suas células de defesa consigam atuar contra as células cancerígenas. Sob essa ótica, a modificação genética dos linfócitos T CD8⁺ – células de defesa – com a inserção do receptor quimérico de antígeno, que realiza o reconhecimento de antígenos presentes na superfície de células tumorais, tem sido uma via terapêutica satisfatória em relação aos resultados de remissão da doença, uma vez que esse receptor confere uma alta especificidade na atuação linfocitária contra o crescimento e a proliferação das células cancerosas. Assim, o presente trabalho se tratou de uma revisão da literatura, em que 19 artigos científicos foram avaliados, com o objetivo de expor novas forma de terapia cancerígena que utiliza a modulação das células de defesa do próprio organismo hospedeiro, além de evidenciar seus positivos resultados inerentes ao controle da doença pelos pacientes que foram submetidos a esse tratamento.

Palavras-chave: imuno-oncologia; receptor quimérico de antígeno; receptores artificiais de células T; câncer; neoplasias.

1 INTRODUÇÃO

O câncer é a segunda causa de morte no mundo, e estima-se que essa doença se torne a principal nas próximas décadas. A Organização Mundial da Saúde (OMS) estimou que em 2015 os novos casos de câncer chegaram a 9 milhões e o número de mortes passou de 13 milhões, e que em 2025 o número de casos novos chegará a 20 milhões. O câncer de próstata e o de mama são os mais incidentes no sexo masculino e no sexo feminino, respectivamente. No Brasil, a grande maioria das neoplasias seriam cânceres de próstata, pulmão, mama, cólon e reto, os quais estariam relacionados à urbanização. Além disso, ainda há uma grande incidência de cânceres como colo de útero, estômago, esôfago e fígado, relacionados a causas infecciosas (FACUNDO & SILVA, 2019; INCA, 2015; PALOMINO, 2017).

Os tratamentos mais utilizados contra o câncer são a quimioterapia clássica, a hormonoterapia, a radioterapia e a cirurgia oncológica, e tais terapias convencionais geram

efeitos colaterais, as quais podem causar a imunossupressão do paciente. Além disso, há também as terapias biológicas dirigidas e a imuno-oncologia. As terapias convencionais que estimulam mecanismos de resposta imune possuem maiores efeitos adversos em relação às novas terapias, essas que realizam a modulação da resposta imunológica no próprio microambiente tumoral, tendo maior eficiência. Tais avanços terapêuticos ocorreram devido à melhor compreensão genética e molecular das neoplasias. A identificação e a reversão dos processos de escape tumoral são elementos buscados pelas novas terapias contra o câncer, de modo a tentar normalizar o sistema imunológico e efetivar sua capacidade antitumoral. Os indivíduos que possuem câncer possuem certo comprometimento do sistema imunológico, e as técnicas de imunoterapia utilizam o reforço da resposta imune do próprio organismo, atuando, por exemplo, a partir da infusão de linfócitos T expandidos e ativados contra antígenos associados à neoplasia (MATEUS, BORGES & CRUZ, 2019; PALOMINO, 2017; ROCHA, 2018; TEIXEIRA et al., 2019). Assim, entendendo-se que o câncer afeta significativamente a população em geral, com tratamentos que geram incapacidade e prejudicam a qualidade de vida do paciente, reconhecer o mecanismo da imunoterapia com células CAR-T pode representar um avanço no manejo da doença.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

A fim de selecionar os artigos visados para compreender o receptor quimérico de antígeno e seu potencial na imunoterapia contra o câncer, foram utilizadas palavras-chave relacionadas à Imunoterapia Adotiva, Imunorreceptores Quiméricos e Neoplasias, e suas respectivas variações e filtradas de acordo com as ferramentas de busca dos repositórios de artigos científicos Scielo - Brasil, PubMed e Google Acadêmico, para atingir os melhores resultados para o estudo. Após a pesquisa, foram selecionados 19 artigos científicos que englobavam as informações visadas no presente trabalho.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A manutenção da homeostase celular é responsável pelo sistema imunológico, que atua impedindo o surgimento de células tumorais, seja removendo vírus carcinogênicos ou, até mesmo, eliminando as próprias células cancerosas. O sistema imune detecta e elimina as células tumorais, porém essas desenvolvem mecanismos que burlam o sistema imunitário e que interferem na resposta imune (CHIOSSONE *et al.*, 2017; FACUNDO & SILVA, 2019; OLIVEIRA & GOMIDE, 2020).

Sendo assim, o tratamento que utiliza como principal mecanismo a estimulação do sistema imunológico é chamado imunoterapia e seu principal foco são os tumores malignos. Tal forma de tratamento estimula a ação das células do sistema imunológico de modo a reconhecer e combater os mecanismos de evasão das células cancerosas. A imunoterapia neutraliza o tumor de forma direta ou ativa o sistema imune a partir de terapias celulares como um bloqueio do checkpoint imunológico ou como um ativador agonista. Além disso, tal forma de tratamento visa a criação de uma resposta imune específica pelo sistema imunológico, de modo a evitar a eliminação de células normais, obtendo alvos específicos que realizam a sinalização das células tumorais (CRUZ, 2017; FACUNDO & SILVA, 2019; OLIVEIRA & GOMIDE, 2020; PADILHA & COSTA, 2020; SATHYANARAYANAN & NEELAPU, 2015).

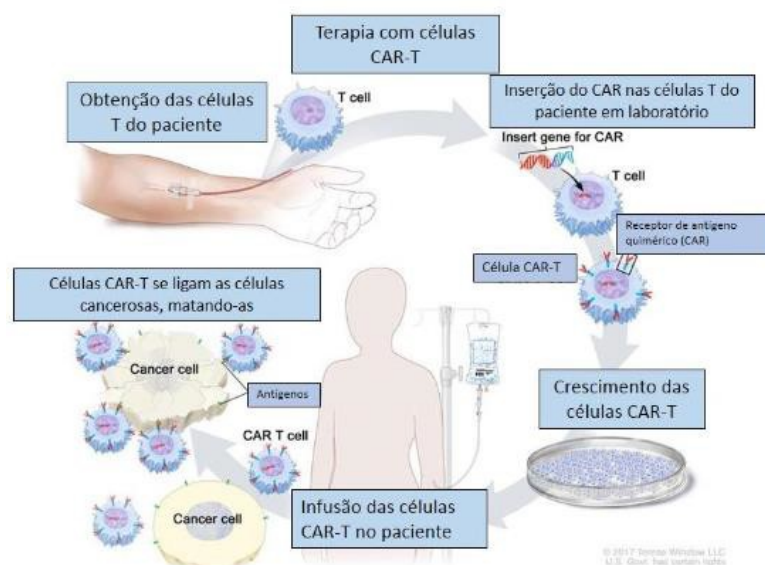
Os receptores de antígenos quiméricos (CARs) são receptores sintéticos que redirecionam a citotoxicidade dos linfócitos T CD8+ para o antígeno expresso na superfície das células tumorais. Os CARs promovem a ativação e proliferação de linfócitos T de forma específica para células alvo pré-determinadas. Além disso, tais receptores são obtidos por meio de cadeias simples de anticorpos monoclonais. O receptor quimérico de antígeno é capaz de

realizar ligação com células tumorais específicas e ativar os linfócitos T por meio de sinalização intracelular para que seu potencial citotóxico contra a célula oncogênica seja atingido (AHN *et al.*, 2019; FACUNDO & SILVA, 2019; MATEUS, BORGES & CRUZ, 2019; PADILHA & COSTA, 2020).

Os CARs constituem um ectodomínio de reconhecimento antigênico por um espaçador extracelular, um domínio de sinalização intracelular e um domínio transmembranar. O primeiro domínio corresponde a regiões variáveis da cadeia pesada e da cadeia leve de um anticorpo monoclonal e é composto por um fragmento variável de cadeia simples. Tal domínio é o que determina a afinidade ao antígeno e sua especificidade antigênica. O espaçador extracelular desse primeiro domínio, também chamado de hinge region, é composto por duas regiões constantes da cadeia pesada da imunoglobulina G1, o que liga esse domínio ao transmembranar. O domínio transmembranar tem papel estrutural e de estabilização e é constituído por homodímeros dos complexos proteicos CD8 e CD3. Por sua vez, o domínio de sinalização intracelular é proveniente de uma cadeia da molécula CD3, que ativa a função das células T após a ligação do receptor de antígeno quimérico presente nessa célula com o antígeno presente na superfície da célula alvo (KALAITSIDOU *et al.* 2015; MATEUS, BORGES & CRUZ, 2019).

As células CAR T foram desenvolvidas com o intuito de criar estratégias para vencer a evasão tumoral, e a terapia com essas células é iniciada com a coleta do sangue do paciente a fim de separar as células T que serão modificadas geneticamente por meio do vírus Lentivírus. Esses vírus possuem seu RNA modificado e serão utilizados como vetores que liberam os genes do receptor quimérico de antígeno para as células T, a fim de que elas produzam os receptores de superfície específicos para os antígenos presentes nas células cancerosas. As células T modificadas com CAR são capazes de reconhecer e provocar a morte das células tumorais. Tais células são linfócitos resultantes do reconhecimento de antígenos associados ao tumor pelo sistema imunológico, os quais se infiltram em tumores em fase de crescimento e impedem sua proliferação contínua. A transferência celular adotiva de infiltrados linfocitários tumorais é realizada a partir da coleta de células T do sangue do paciente e seleção dos mais aptos ao reconhecimento de células tumorais. Posteriormente, os linfócitos selecionados são expandidos e ativados *ex vivo* para que possam ser novamente inseridos na corrente sanguínea do paciente (INCA, 2015; FACUNDO & SILVA, 2019; MATEUS, BORGES & CRUZ, 2019; OLIVEIRA, 2016; ROCHA, 2018).

Figura 1: Produção de células CAR T.



Fonte: Rocha, 2018. (Adaptado de NIH, 2018).

As células CAR T, depois que entram no parênquima tumoral, precisam de um microambiente tumoral hostil para que sua função seja efetiva, com a presença de supressores mediadores, interleucinas 4 e 10 e antígenos de linfócitos T CD8+. As células T modificadas com CAR passam a ser capazes de reconhecer antígenos de superfície tumoral que não estão presentes em células normais. Porém, há poucos estudos sobre o desenvolvimento de resistência e sobre sua toxicidade em células não-alvo. As células T associadas ao receptor quimérico de antígeno (células CAR T) são novas formas específicas de tratamento contra neoplasias que possuem eficácia imunomoduladora. A atividade de proto-oncogenes e oncogenes (genes ligados ao aparecimento e crescimento de tumores) induz a proliferação descontrolada das células alteradas geneticamente, ocorrendo casos de supressão tumoral (PADILHA & COSTA, 2020; ROCHA, 2018).

O desenvolvimento das células CAR T evoluiu da primeira à terceira geração de receptores de antígenos quiméricos, sendo que a primeira geração possuía somente um domínio de sinalização intracelular proveniente dos receptores do complexo proteico CD3 dos linfócitos T. A segunda geração de células CAR T surgiu com a inclusão de domínios de sinalização coestimuladores como o CD28 e CD137, que são capazes de aumentar a sobrevivência das células CAR T. Por sua vez, a terceira geração surgiu com a adição de mais um domínio coestimulatório, o OX40 (MATEUS, BORGES & CRUZ, 2019).

A primeira geração das CAR T consiste em um fragmento variável de cadeia simples, um domínio transmembranar e um domínio de sinalização intracelular como a cadeia CD3 zeta. A combinação de um anticorpo monoclonal com um domínio de sinalização formando o receptor quimérico facilitou o reconhecimento do antígeno tumoral e a ativação dos linfócitos T sem a necessidade de participação das moléculas do MHC. Na segunda geração houve a integração de um receptor coestimulatório, sendo que o mais utilizado é o CD28 que funciona como uma segunda ativação linfocitária, resultando no aumento da proliferação de células T e elevando a expressão citotóxica. Por sua vez, na terceira geração, a mais recente da CAR T, houve a adição de mais um receptor coestimulatório, combinando o CD3 zeta da primeira geração, o CD28 da segunda e o CD134 da terceira. Essa combinação de moléculas coestimulatórias aumentou a atividade de um fator de transcrição que controla a expressão de genes relacionados à resposta inflamatória, elevou a produção de interleucina-2 e manteve a proliferação linfocitária (MAUDE *et al.*, 2014; ROCHA, 2018; WILKINS, KEELER & FLOTTE, 2017).

Estudos recentes exploram a quarta geração da CAR T, também chamada de TRUCKs, a qual consiste na modificação genética das células T para que elas expressem os CARs de segunda geração com genes de citocinas induzidas por um promotor sensível ao fator nuclear de linfócitos T ativados (NFAT). Por consequência, as citocinas pró-inflamatórias são secretadas de modo a erradicar as células tumorais (MATEUS, 2019; KALAITSIDOU *et al.* 2015).

Sintetizando/Em suma, o CAR consiste em domínios de sinalização intracelular fixos e fragmentos variáveis de cadeia simples, o que confere especificidade e afinidade antigênica e pré-determina o antígeno alvo. Os fragmentos variáveis de cadeias simples sofrem ativação de forma independente ao nível de expressão antigênica. No entanto, fragmentos com baixa afinidade com antígeno pode ter sua especificidade comprometida (MATEUS, BORGES CRUZ, 2019, NEWICK, MOON & ALBELDA, 2016).

A base dessa imunoterapia visa a utilização de células T do próprio paciente modificadas geneticamente com receptor quimérico de antígeno (CAR) de modo a direcionar tais células de defesa às células tumorais. O primeiro caso de terapia utilizando células CAR T obteve mais de 80% de resultados satisfatórios, seja com remissão completa –

demonstrando que a doença estava sob controle –, ou remissão completa com recuperação incompleta no hemograma (PADILHA & COSTA, 2020; ROCHA, 2018).

O primeiro caso de terapia utilizando células CAR T obteve mais de 80% de resultados satisfatórios, seja com remissão completa – demonstrando que a doença estava sob controle –, ou remissão completa com recuperação incompleta no hemograma (ROCHA, 2018).

Ensaaios clínicos foram realizados para a verificação da eficácia da terapia com as primeiras gerações de células CAR T, e os resultados variaram, como em um caso de câncer de ovário a transferência de CAR T demonstrou pouca eficácia, e um caso de carcinoma metastático de células renais possuiu resultados satisfatórios no que diz respeito à indução da produção de interleucina-5 pelas células CAR T. O sucesso das intervenções terapêuticas da imunoterapia com células CAR T em pacientes com câncer tiveram avanços significativos. A redução dos efeitos colaterais das terapias contra o câncer se deu com o desenvolvimento da imunoterapia por conta de sua especificidade, uma vez que utiliza linfócitos T modificados do próprio paciente para agir contra a célula tumoral. Os efeitos antitumorais contra tumores sólidos são aumentados com a utilização do CAR T. As células CAR T estão conferindo resultados satisfatórios, uma vez que, além de ser independente do MHC, ela é específica para cada tumor (CRUZ, 2017; PADILHA & COSTA, 2020; ROCHA, 2018).

4 CONCLUSÃO

Essa pesquisa, assim como os demais estudos utilizados como referência para a redação desse texto, aponta que o desenvolvimento de novas tecnologias e procedimentos é relevante, uma vez que novas formas de tratamento têm demonstrado resultados positivos, e, além disso, evidencia-se a importância da continuação de estudos relacionados ao tema exposto, para que a eficácia da imunoterapia com a utilização de células CAR T seja cada vez maior, de modo a tornar-se um potencial tratamento contra o câncer e, além disso, ser acessível a todos os pacientes que ainda não tenham a doença em controle.

REFERÊNCIAS

AHN, Sarah *et al.* **Cancer immunotherapy with T cells carrying bispecific receptors that mimic antibodies.** Cancer Immunol. Res, 2019.

BRASIL. **"Estimativa 2016: Incidência do Câncer no Brasil"**, INCA, Rio de Janeiro, 2015.

CHIOSSONE, Laura *et al.* **Natural killer cell immunotherapies against cancer: checkpoint inhibitors and more.** In: Seminars in immunology. Academic Press, 2017. p. 55-63.

CRUZ, Ana Lima. **Células T CAR, um Novo Pilar das Terapias Antitumorais.** 2017. 57 f. Monografia (Especialização) - Curso de Farmácia, Universidade de Coimbra, Coimbra, 2017.

FACUNDO, Alexandre Nogueira; SILVA, Igor Marcelo Castro e. **Imunoterapia: um olhar na nova modalidade terapêutica do câncer / immunotherapy.** Id On Line Revista de Psicologia, [S.L.], v. 13, n. 47, p. 556-562, 28 out. 2019.

KALAITSIDOU, M.; KUEBERUWA, G.; SCHUTT, A.; GILHAM, DE. **CAR T-cell therapy: toxicity and the relevance of preclinical models.** Immunotherapy. 2015; 7: 487-97.

MATEUS, Daniela Marques; BORGES, Olga; CRUZ, Maria Teresa. **Células T com Receptor**

de Antígeno Quimérico (CAR): Uma Nova Estratégia Imunoterapêutica. *Revista Portuguesa de Farmacoterapia*, [s. l], v. 11, n. 2-3, p. 39-48, out. 2019.

MATEUS, Daniela Marques. **Células T CAR - Uma Nova Estratégia Imunoterapêutica.** 2019. 72 f. Monografia (Especialização) - Curso de Farmácia, Universidade de Coimbra, Coimbra, 2019.

MAUDE, S. L., *et al.* **Chimeric Antigen Receptor T Cells for Sustained Remissions in Leukemia.** *The New England Journal of Medicine*. Vitória da Conquista, v.7, n.16, p.1507-1517, Oct, 2014.

NEWICK, K.; MOON, E.; ALBELDA, S. M. **Chimeric antigen receptor T-cell therapy for solid tumors.** *Mol Ther Oncolytics*. 2016; 3:16006.

NIH: National Cancer Institute - **CAR T Cells: Engineering Patients' Immune Cells to Treat Their Cancers.** [Acedido em março 2019]. Disponível em: <https://www.cancer.gov/about-cancer/treatment/research/car-t-cells>

OLIVEIRA, Beatriz Almeida de; GOMIDE, Lígia Maria Micai. **IMUNOTERAPIA NO TRATAMENTO DO CÂNCER.** *Revista Intersaúde*, Itapetininga Sp, v. 1, n. 2, p. 89-100, abr. 2020.

OLIVEIRA, T. A. S. **Imunoterapia de Células T CAR em Neoplasias Linfoides: Aplicações e Limitações.** 2016. 38 f. Dissertação (Mestrado) do Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar, da Universidade do Porto. Portugal, 2016.

PADILHA, Marcos Daniel Mendes; COSTA, Ludmilla Ferreira. **Aspectos Moleculares da Imunoterapia e Eficácia Imunomoduladora dos Checkpoints como Terapias Anti-Câncer.** *Saúde em Foco: Temas Contemporâneos - Volume 3*, [S.L.], p. 102-114, 2020.

PALOMINO, Sally. **Análise da Estabilidade de um Problema em Imuno-oncologia: uma Abordagem Teórica Ampliada ***. *Tendências em Matemática Aplicada e Computacional*, Florianópolis, v. 18, n. 3, p. 494-514, maio 2017.

ROCHA, Maria Clara de Sousa. **Terapia com células CAR-T: um avanço na imuno-oncologia.** 2018. 13 f. Tese (Doutorado) - Curso de Biomedicina, Centro Universitário de Brasília - Uniceub, Faculdade de Ciências da Saúde e da Educação - FACES, Brasília, 2018.

SATHYANARAYANAN, V.; NEELAPU, S. **Cancer immunotherapy: strategies for personalization and combinatorial approaches.** *Mol. Oncol.* Vol 9, nº 10, pag 2043-2053, 2015.

TEIXEIRA, Henrique Couto; DIAS, Lavínia da Silva; MENÃO, Tauane Larissa; OLIVEIRA, Erick Esteves de. **Proteínas de checkpoint imunológico como novo alvo da imunoterapia contra o câncer: revisão da literatura.** *Hu Revista*, [S.L.], v. 45, n. 3, p. 325-333, 28 nov. 2019.

WILKINS, O; KEELER, A. M., FLOTTE, T. R. **CAR T-Cell Therapy: Progress and Prospects.** *Human Gene Therapy Methods*. v.28, n.2, 2017.