



CAR-T: UMA EVOLUÇÃO PARA O TRATAMENTO DE TUMORES HEMATOLÓGICOS DE CÉLULAS B

MICAELY SILVA REIS

RESUMO

O sistema imunológico é composto por uma quantidade abrangente de células, moléculas e tecidos, responsáveis por manter o equilíbrio do organismo contra células invasoras e patógenos. Porém, células do nosso corpo podem funcionar diferentemente do que se espera para uma célula saudável, assim vemos o caso de células que se proliferam de maneira desordenada afetando negativamente o funcionamento do corpo e a essa proliferação se dá o nome de câncer. O câncer tem sido registrado desde a Grécia Antiga, não sendo uma doença nova, porém durante muitos anos o câncer e sua cura permanecem um dilema para ciência. Atualmente temos tratamentos que podem resolver mesmo que não permanentemente algumas patologias, dentre as mais utilizadas vemos a quimioterapia e a radioterapia. Mas nem sempre essas terapias se tornam o bastante para a remissão da doença o que abriu espaço para novas tecnologias de tratamento chamadas de imunoterapias. Dentro desse artigo explicitaremos o tratamento de neoplasias de células B, abordadas com o tratamento por células CAR-T ANTI- CD19, mostrando desde sua aplicação, produção à detalhamento de tipos de tumores de células B.

Palavras-chave: Imunoterapia; Antígeno Quimérico, Leucemia, CD19, Linfócitos.

1 INTRODUÇÃO

O sistema imunológico é composto por uma quantidade abrangente de moléculas, células e órgãos cuja principal função é manter o equilíbrio do organismo contra estruturas invasoras. Um importante constituinte deste sistema são as células tronco pluripotentes que serão a base para a formação de linfócitos T, linfócitos B e células Natural Killer (NK). Os linfócitos B são inicialmente formados no saco vitelínico, onde durante a vida fetal se dirigem ao fígado e posteriormente à medula óssea. Na medula óssea os linfócitos B sofrem maturação migrando para órgãos linfoides secundários do sistema imune. (ABBAS, LITCHMAN, PILLAI, 2007. RUDIN, THOMPSON, 1998.) Os linfócitos B atuam de maneira decisiva no sistema imunológico uma vez que atuam no reconhecimento do antígeno, realizado pelo BCR, que libera anticorpos que reconhecem e geram uma resposta sistemática contra esses antígenos. (ABBAS, LITCHMAN, PILLAI, 2015.) Porém mesmo com tamanha relevância para o sistema imune as células provenientes dos linfócitos B podem sofrer mutações em seu genoma, perdendo seus atributos normais o que acarretará a proliferação desordenada de células afetadas que atingirão várias regiões do corpo causando distúrbios funcionais, o que é caracterizado como câncer. (INCA,2011) Dessa forma, frequentemente as terapias tradicionais para o tratamento do câncer são limitadas. Tratamentos como quimioterapias e radioterapias afetam não só a células tumorais como também células saudáveis além de se mostrarem muitas vezes ineficientes contra células-tronco tumorais (MROSS; KRATZ, 2011. MOÇO, 2018.) Assim, na tentativa de criar alternativas aos tratamentos tradicionais que muitas vezes são ineficientes e debilitantes criou-se moléculas capazes de inibir vias específicas no processo de crescimento tumoral o que levou a um enorme passo para o avanço no tratamento do câncer (RIBAS;

WOLCHOK, 2018.) A imunoterapia utiliza de tecnologias criadas a partir das próprias células do sistema imune afim de combater neoplasias, se torna um tratamento promissor pela sua seletividade, alto poder curativo e baixa toxicidade (MATHIS, VALLAT, MAGY, 2016. MOÇO, 2018.) A terapia celular utilizando linfócitos T CD4+ associados a uma estrutura de reconhecimento chamada receptor de antígeno quimérico (CAR) é uma abordagem emergente no tratamento de neoplasias hematológicas como linfomas não Hodgkin e leucemia linfóide aguda (LLA) uma vez que reconhecem moléculas de superfície em células tumorais independentemente do complexo de histocompatibilidade (MHC) tornando-se um tratamento mais efetivo (BREENTJEN, 2007; ROCHENDERFER, 2009.) Ademais, linfócitos T modificados adquirem capacidade de se diferenciar em células de memória dando ao paciente uma resposta antitumoral duradoura o que se torna eficiente contra o elevado número de reincidivas após apresentarem o DCR (doença residual mínima) (WALSH; YANG; KOHLER, 2019.) Desse modo, esse trabalho trata-se de uma revisão bibliográfica sobre o tratamento de tumores hematológicos de células B em pacientes com o uso da tecnologia genética CAR-T onde exploraremos benefícios, aplicações e possíveis implicações para o cenário brasileiro

2 MATERIAIS E MÉTODOS

A revisão bibliográfica teve referência artigos retirados da plataforma de dados do PubMed, que pertence a *National Library of Medicine* (NLM), em idiomas variados, dentre eles português, inglês e francês. Além dessa plataforma, foram utilizadas durante as pesquisas teses e artigos publicados na plataforma SciELO, através da procura por periódicos. Ademais foram utilizados órgãos federais e teses de mestrado e doutorado retirados de bibliotecas universitárias de todo país.

Como critério de pesquisa foram utilizadas as palavras chaves: CAR-T, imunoterapia contra o câncer de células B e antígeno quimérico de células T, os artigos variaram entre os anos de 1998 e 2024, porém foi dada a preferência por artigos mais atuais a fim de estabelecer um levantamento bibliográfico mais atualizado. Os critérios de seleção de artigos vieram pela leitura do título e do resumo da obra.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 CÂNCER

O câncer é um dos principais causadores de mortes por todo mundo. Na maioria dos países o câncer corresponde a primeira ou a segunda causa de morte prematura, ou seja, morte antes dos 70 anos. (INCA, 2023) Apesar da inovação na área terapêutica que engloba a oncologia ainda existem taxas de sobrevivência consideravelmente baixas em algumas tipologias principalmente quando pacientes apresentam a doença residual mínima (DCR) após várias linhas de tratamento. (INABA, 2013) Dessa forma, cânceres hematopoiéticos compõem quantidade significativa de casos no Brasil, onde a cada ano estimam-se cerca de 23.580 casos de leucemias e linfomas não Hodgkin (INCA, 2023) dos quais falaremos detalhadamente abaixo:

3.1.1 LEUCEMIA LINFOBLÁSTICA AGUDA (LLA)

Leucemias são cânceres do sistema hematopoiéticos considerados uma grande causa de morte em crianças e adolescentes, mesmo afetando indivíduos de todas as faixas etárias. Essa patologia advém de sucessivas mutações genéticas que provocam a proliferação de linfócitos imaturos (INABA, 2013). Isso se dá pela sequência de eventos moleculares que modifica o processo de divisão e diferenciação celular, que define uma hematopoese normal, gerando um clone leucêmico capaz de se autorrenovar indefinidamente (ROSSIG & JUERGENS, 2008). A

produção desregulada dessas células migram para diferentes locais do organismo, impedindo a produção normal de linfócitos causando ao paciente sintomas como fadiga, fraqueza, desenvolvimento de infecções, gerando febre, hemorragias e perda de peso inesperadas. (PAULO S, 2016)

O diagnóstico de LLA é feito a partir da análise morfológica estabelecida pelo grupo Franco Americano Britânico (FAB), onde se divide o diagnóstico de LLA em três subgrupos de acordo seus linfoblastos, L1 (85%), L2 (14%), L3 (1%), porém essa subdivisão que não definem seu grau de maturação. Desse modo ainda são feitos testes de reações citoquímicas e citogenéticas além da biologia molecular, a fim de rastrear possíveis mutações que definirá o tipo de leucemia e seu subtipo o que é importantíssimo para definir o prognóstico e a linha terapêutica utilizada. (SILVA, 2004)

O tratamento da leucemia é realizado primeiramente utilizando a quimioterapia. Seu tratamento é dividido inicialmente em três fases:

FASE 1: A fase um é caracterizada como a fase da indução, nesse momento o objetivo é a remissão da doença e restauração de glóbulos vermelhos, brancos e plaquetas. Frequentemente são utilizadas terapias combinadas nesse estágio. (BARBOSA, 2002)

FASE 2: Na fase dois ocorre a tentativa de consolidação dos resultados obtidos na fase 1 a fim de manter os resultados conquistados.

FASE 3: Na fase três segue-se com a fase de manutenção, onde o principal objetivo é a erradicação da doença residual mínima. (A doença residual mínima DCR, é caracterizada pela presença de células leucêmicas residuais sem evidência clínica da doença, ou seja, os níveis de leucemia estarão abaixo da detecção microscópica convencional.)

Em certos casos em que ocorrem reincidivas pode ser necessário o tratamento via transplante de medula óssea através de um doador compatível. (LOURENÇO, 2019)

Um estudo feito no Hospital do Câncer Aldenora Bello (HCAB), em São Luís, capital do Maranhão reuniu 409 prontuários de pacientes até 18 anos com neoplasias hematológicas a fim de contabilizar as tipologias mais frequentes e suas respectivas taxas de sobrevida. Nesse estudo, 265 pacientes, seja, 60% dos pacientes apresentaram LLA. Assim como mostrado no gráfico 1:



Posteriormente, foram abordadas as taxas de sobrevida e mortalidade, presentes no gráfico 2:

Tabela 1. Distribuição da evolução do tratamento de acordo com o tipo de neoplasia hematológica

Variável	Evolução do tratamento				p
	Sobrevida		Óbito		
	n	(%)	n	(%)	
CID no diagnóstico					<0,001*
Leucemia linfoblástica aguda	136	(51,4)	119	(88,0)	
Leucemia mieloide aguda	19	(34,5)	36	(89,5)	
Linfoma de Hodgkin	33	(80,5)	8	(19,5)	
Linfoma não-Hodgkin	7	(37,8)	15	(68,2)	
Outras tipos	25	(45,6)	25	(54,4)	

Legenda: CID-10 = Classificação Estatística Internacional de Doenças e Problemas Relacionados à Saúde.
 (*) Diferença estatisticamente significativa pelo teste qui-quadrado (p<0,05).

Desse modo, de acordo com os gráficos mencionados notamos a necessidade de aumentar a sobrevida de pacientes com canceres hematológicos, tais dados mostram que apenas

os tratamentos atuais não são totalmente eficazes contra o LLA, de onde veio a necessidade de outros tipos de tratamentos como a imunoterapia (REVISTA BRASILEIRA DE CANCERIOLOGIA, 2022).

3.1.2 LINFOMA DIFUSO DE CÉLULAS B (DLBCL)

O linfoma difuso de grandes células B (DLBCL) é um dos cânceres mais comuns e agressivos dentro da categoria de linfomas não Hodgkin, sendo responsável por mais de 20.000 casos por ano em todo mundo (PASQUALUCCI, 2013). Esse linfoma é caracterizado por um crescimento anormal de células B, esse crescimento exponencial se dá em órgãos do sistema linfático denominados nódulos linfáticos, que englobam o baço e o timo. Esse tipo de tumor afeta pessoas de todas as idades, porém possuem uma alta prevalência em indivíduos com idade superior a 70 anos (PASQUALUCCI, 2013). Apesar de ter sua causa desconhecida o DLBCL está relacionado com infecção por HIV, uma vez que a imunossupressão é um fator de risco para o desenvolvimento deste linfoma. (REZK, 2018)

Atualmente, o DLBCL é dividido em três subtipos: Célula B centrogerminal (GCB), derivada de um centroblasto de linha germinativa, onde encontra-se elevados níveis de BCL6, regulador primordial no processo de transcrição celular; Célula B ativada (ABC), onde uma célula de origem encontra-se ligada com uma célula B ativada por BCR; Linfoma primário de célula B do mediastino primário (PMBCL).

Os sintomas desse tipo de tumor costumam ser variáveis de acordo seu local de início, porém uma condição comum à sua patologia é o aparecimento anormal de nódulos, perda de peso e infecções recorrentes. (PASQUALUCCI, 2013)

Atualmente, existem várias alternativas para o tratamento do DLBCL, geralmente esses tratamentos constituem-se de fármacos relacionados a tratamentos quimioterápicos. Porém, sua utilização deve ser ponderada por motivos como a idade do paciente e seu estado de saúde por serem tratamentos que afetam o bem-estar geral do paciente. Ademais, quando o paciente sofre com uma recidiva onde a quimioterapia não é mais uma opção de tratamento, ele poderá ser tratado por meio de um transplante autólogo, porém essa opção acarreta vários riscos e em sua maioria não é uma opção benéfica, deixando o tratamento com uma grande janela terapêutica. Desse modo, a terapia com células T-CAR seria uma opção para o preenchimento dessa janela terapêutica. (LOURENÇO, 2019)

3.2 CÉLULAS CAR-T

3.2 FUNÇÃO DOS LINFÓCITOS T

Os linfócitos T são células responsáveis pela resposta imune específica, além de serem responsáveis pela resposta imune específica os linfócitos T são responsáveis pela imunidade celular mediada por células. Os linfócitos T devido a sua estrutura são capazes de proporcionar uma interação-regulação com mais células do sistema imune conferindo ao indivíduo mecanismos imunes eficientes no combate a patógenos que utilizam da maquinaria intracelular do hospedeiro. Porém, ao estudarmos os mecanismos das células T-CAR, daremos ênfase ao linfócito T CD4+, mais comumente utilizado como auxiliares onde são capazes de secretar citocinas que são produzidas por outras células como consequência a exposição do antígeno. (BARDINI, CAROBREZ, AGUINALDO, 2010).

3.3.1 COMPOSIÇÃO DAS CÉLULAS CAR-T

As células CAR-T são linfócitos T modificados a fim de expressar uma proteína sintética (CAR). A composição desta molécula é constituída por um fragmento variável de um anticorpo de cadeia única unido ao domínio de sinalização do complexo receptor de células T (TCR). O receptor CAR tem como função realizar o reconhecimento de antígenos presentes na

superfície de células tumorais ativando linfócitos T que assimilam a sinalização TCR (RUELLA; JUNE, 2016). Comumente células tumorais são capazes de driblar o sistema imune devido ao seu microambiente tumoral imunossupressor e pouca expressão do Complexo Principal de Histocompatibilidade (MHC) (SELIGER; RITZ; FERRONE; 2006). Mas diferentemente do habitual as células CAR-T independem da apresentação do fragmento peptídico pelo MHC para o reconhecimento do antígeno o que torna esse mecanismo mais promissor (ESHAR et al., 2001; MURPHY; TRAVERS; WALPORT; 2010). Concomitante a esse processo domínios co-estimulatórios podem garantir menor vulnerabilidade aos efeitos de imunossupressão. Se torna essencial para o desenvolvimento de uma célula CAR-T funcional que o alvo seja identificável nas células associadas ao tumor, além de estar pouco presente em células saudáveis, sua identificação deve estar superexpressada em células malignas para minimização de efeitos tóxicos em células normais (HUANG, HW, YX, 2021). Assim, a utilização de células CAR-T em tumores hematológicos de células B tem sido amplamente estudada, a CD19 é a proteína mais expressa na superfície de linfócitos B e que não é expressa em outros tecidos normais e principalmente em células tronco hematopoiéticas. A terapia com células CAR-T específicas para CD19 tem se mostrado amplamente promissoras na remissão de curto a longo prazo de casos de LLA e Linfomas não Hodgkin. (PANG, HOU, YANG, LIU, 2018) Nos dados estudos, estimou-se que em 90% dos casos de LLA foram completamente curados após o uso de células CAR-T anti-CD19, assim como houve a remissão completa dos sintomas em até 58% dos pacientes com Linfomas não Hodgkin. (ROEX, FEYS, BEGUIN, KERRE, POIRÉ, LEWALLE, 2020)

3.4 PROCESSO DE GERAÇÃO DE CÉLULAS CAR-T

3.4.1 RECOLHA E PREPARAÇÃO DOS LINFÓCITOS T

Para o processo de preparação das células T, inicialmente o paciente é submetido a leucoférese, nessa etapa, o indivíduo passa pelo processo de separação dos leucócitos, denominado aférese. Nesse momento o material será centrifugado a fim de separar os materiais presentes no sangue por diferença de densidade, é então quando os linfócitos serão separados. (FESNAK, 2017) Após esse processo o restante é reinfundido no paciente.

O produto obtido é submetido a uma lavagem para retirar possíveis produtos utilizados durante a separação. Após essa etapa, serão utilizados anticorpos anti-CD3 e IL-2 ou beads magnéticas para a ativação dos linfócitos T que posteriormente devem ser retiradas e simuladas como células dendríticas artificiais. Depois da ativação dos linfócitos serão realizadas as modificações genéticas mediadas por vetores lentivirais, previamente modificados de forma que não seja transmitido o RNA que constitui a doença para paciente. Posteriormente a esse processo, haverá a adição do CAR aos linfócitos T que passaram pelo processo de expansão onde as células já modificadas deverão se multiplicar para posteriormente irem para o paciente (MAUS; LEVINE, 2016).

3.5 CAR-T NO CENÁRIO BRASILEIRO

Muito se imagina que tal tratamento seria inviável no cenário brasileiro, porém mesmo sendo um tratamento caro o SUS deverá custear 95% desses gastos fazendo com que células CAR-T possam ser inseridas como tratamento para diversos brasileiros. Dois centros foram entregues pelo governo de São Paulo, Instituto Butantan, Hemocentro de Ribeirão Preto e Universidade de São Paulo no mês de julho de 2022, após a aprovação da FDA (Food and Drug Administration) de dois principais medicamentos Tisagenlecleucel e Axicabtagene ciloleucel, a estimativa é que sejam tratados mais de 300 brasileiros se tornando o primeiro centro a produzir o CAR-T anti-CD19 na América Latina o que se torna um passo importantíssimo em busca de tratamento de doenças hematológicas. Os (INSTITUTO

BUTANTAN, 2022)

4 CONCLUSÃO

Dessa forma, vimos que o tratamento com células CAR-T tem sido amplamente benéfico contra doenças neoplásicas de células B, sua aplicação tem sido uma opção plausível para as janelas terapêuticas encontradas em muitos tumores após a primeira linha de tratamento. Diferentemente daquilo que se imaginava o tratamento CAR-T anti- CD19 já é uma realidade em curso no Brasil. Portanto esse tratamento, comprovadamente benéfico tem sido um importante auxílio à aqueles sem outras opções de tratamento, sendo uma linha menos tóxica e invasiva.

REFERÊNCIAS

AF, Daniyan; RJ, Brentjens. **“Na bancada: terapia com células T do receptor de antígeno quimérico (CAR) para o tratamento de malignidades de células B”**. J Leukoc Biol. dezembro de 2016.

ARAÚJO; RODRIGUES; SILVA; AZEVEDO; MONTEIRO; FERREIRA; SOUSA. **“Perfil Demográfico e Clínico de Casos de Neoplasias Hematológicas em Crianças e Adolescentes”**. Rev. Bras. Cancerol, 22º de junho de 2022.

Daniyan AF, Brentjens RJ. **“Na bancada: terapia com células T do receptor de antígeno quimérico (CAR) para o tratamento de malignidades de células B”**. J Leukoc Biol. dezembro de 2016.

CATHARINO, Luana Correia Croda. **“CAR-T CELLS: UMA ALTERNATIVA TERAPÊUTICA PARA O TRATAMENTO DE CÂNCER”** UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO, São Paulo, 2021.

CAVALCANTE, Jeremias Antunes Gomes; ASSIS, Priscilla Anne Castro de. **“PRODUÇÃO DE LINFÓCITOS B”**. UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA.

GONÇALVES, Júlia; FINARDI, Alessandra. **“IMUNOTERAPIA VS A TECNOLOGIA DE CAR-T PARA TRATAMENTO DE LEUCEMIA LINFOBLÁSTICA AGUDA”**.

JESUS, Mariana Cintra de. **“Imunologia do Câncer”**. Centro Universitário de Brasília, 2002.

INCA, Ministério da Saúde; Instituto Nacional de Câncer. **“Estimativa 2023”**. **“Incidência de Câncer no Brasil”**. Rio de Janeiro, 2022.

LOURENÇO, Machado Lúcia. **“Aspectos de Qualidade críticos para Farmacovigilância de Medicamentos de Terapia Génica – Células Geneticamente Modificadas”**

MATTA, Johnny Fouad. **“ESTUDO DA SOBREVIVÊNCIA MÉDIA RELATIVA EM PORTADORES DE LEUCEMIA LINFÓIDE AGUDA”**. Campo Grande, 2011.

MESQUITA Júnior, D., ARAÚRO, J. A. P., CATELAN, T. T. T., SOUZA, A. W. S. de., CRUVINEL, **“Sistema imunitário - parte II: fundamentos da resposta imunológica mediada por linfócitos T e B”**. *Revista Brasileira De Reumatologia*, 2010.

MONTENEGRO, Yorran Hardman Araújo; RAMOS, Anderson dos Santos; SILVA, Geilza Carla de Lima. **“IMUNOLOGIA TUMORAL: DESVENDANDO AS RELAÇÕES ENTRE O CÂNCER E O SISTEMA IMUNE”**. II Congresso Brasileiro de Ciências da Saúde, 2017.

Mock, Ulrike; NICKOLAY, Lauren; PHILIP, Brian; PULE, Martin; THRASHER, Adrian J.; QASIM, Waseem. **“Fabricação automatizada de células T receptoras de antígenos quiméricos para imunoterapia adotiva usando CliniMACS Prodigy”**. International Society for Cellular Therapy, 2016.

TIRAPELLE, Mariane Cariati. **“Produção de vetores lentivirais em condições escalonáveis para geração de células T-CAR para terapia celular”**. UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO. Ribeirão Preto – 2021.

SEBERA, Adriana; JUNIOR, Claudio Galvão de Castro; KERBAUYE, Lucila; HIRAYAMAF, Alexandre; **“II: Terapia com células CAR-T para pacientes portadores de leucemia Linfoblástica aguda CD19+”** Consenso da Associação Brasileira de Hematologia, Hemoterapia e Terapia Celular sobre Células Geneticamente Modificadas. Ribeirão Preto 2021.

SOARES, José Eduardo Palacio; GUERRA, Lorenzo Alvarenga; JÚNIOR, Ronaldo de Rezende; CARDOSO, Fernanda. **“CAR-T cell therapy: cell reprogramming to combat malignant neoplasms”**. Belo Horizonte, 2022.

SIQUEIRA, Alessandra M; SILVA, Ana Caroline Costa; CIAMBARELLA, Bianca; SANTOS, Fábio P. M.; OLSEN, Priscilla C.; CARDOSO, Rafael M. **“SÉRIE EBIOLOGIA CELULAR E MOLECULAR IMUNOFARMACOLOGIA”**. Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro.