





# Terapia com células CAR-T: reprogramação celular para o combate de neoplasias malignas

## *CAR-T cell therapy: cell reprogramming to combat malignant neoplasms*

José Eduardo Palacio Soares<sup>1</sup>, Lorenzo Alvarenga Guerra<sup>1</sup>, Ronaldo de Rezende Júnior<sup>1</sup>, Fernanda Cardoso Parreiras<sup>1</sup>

### RESUMO

As células CAR-T são linfócitos geneticamente modificados para reconhecerem um espectro amplo de antígenos de superfície celulares. Além disso, atacam células tumorais malignas, que expressam esses antígenos, por meio da ativação da coestimulação citoplasmática, secreção de citocinas, citólise de células tumorais e proliferação de células T. O objetivo desse estudo é abordar a imunoterapia com células CAR-T, a fim de explicar seu conceito, processo de fabricação e papel no tratamento de neoplasias hematológicas e tumores sólidos. Foi realizada uma revisão através do portal PubMed, utilizando como descritores: “*car-t cell therapy*” e “*neoplasms*”, determinados com base nos “Descritores em Ciências da Saúde”. Foram obtidos, inicialmente, 10 artigos, os quais foram lidos integralmente para a confecção dessa revisão. Além disso, foram adicionados 3 ensaios clínicos atualizados sobre o tema. Na terapia com células CAR-T, as células T são coletadas do paciente, geneticamente modificadas para incluir receptores de antígeno específicos e, posteriormente, expandidas em laboratórios e transfundidas de volta para o paciente. Assim, esses receptores podem reconhecer células tumorais que expressam um antígeno associado a um tumor. A terapia com células CAR-T é mais conhecida por seu papel no tratamento de malignidades hematológicas de células B, sendo a proteína CD19 o alvo antigênico mais bem estudado até o momento. Entretanto, estudos estão sendo feitos para verificar a eficácia desse tratamento, também, em tumores sólidos. Portanto, apesar de inicialmente ser indicada apenas para um grupo seletivo de pessoas, essa terapia tem demonstrado grande potencial para atuar em um espectro maior de pacientes.

**Palavras-chave:** Terapia CAR com Células T; Neoplasias; Imunoterapia.

<sup>1</sup> Universidade José do Rosário Vellano (UNIFENAS), Belo Horizonte, MG, Brasil.

### Editor Associado Responsável:

Angélica Nogueira Rodrigues  
Faculdade de Medicina da  
Universidade Federal de Minas Gerais  
Belo Horizonte/MG, Brasil

### Autor Correspondente:

José Eduardo Palacio Soares  
E-mail: dupalacio@hotmail.com

### Conflito de Interesse:

Não há.

Recebido em: 17 Janeiro 2022

Aprovado em: 04 Maio 2022

Data de Publicação: 18 Agosto 2022.

DOI: 10.5935/2238-3182.2022e32210

## ABSTRACT

The CAR-T cells are lymphocytes genetically modified to recognize a broader spectrum of cell surface antigens. In addition, they attack malignant tumor cells, which express these antigens, by activating cytoplasmic co-stimulation, cytokine secretion, tumor cell cytolysis and T cell proliferation. The aim of this study is to address immunotherapy with CAR-T cells, in order to explain its concept, manufacturing process and role in the treatment of hematological neoplasms and solid tumors. This is a literature review conducted through the PubMed portal, that uses the terms "car-t cell therapy" and "neoplasms" as descriptors, determined based on the DeCS (*Descritores em Ciências da Saúde*). To prepare this review, initially 10 articles were found and read in full. In addition, 3 updated clinical trials on the subject were added. For CAR-T cell therapy, T cells are collected from the patient, genetically modified to include specific antigen receptors, and later expanded in laboratories and transfused back to the patient. Thus, these receptors can recognize tumor cells that express a tumor-associated antigen. CAR-T cell therapy is best known for its role in the treatment of B cell hematological malignancies, with the CD19 protein being the most studied antigenic target to date. However, studies are being conducted to verify the effectiveness of this treatment, also, in solid tumors. Therefore, despite being formulated only for a selected group of patients, this therapy has great potential to act on a broader spectrum of patients.

**Keywords:** CAR-T Cell Therapy; Neoplasms; Immunotherapy.

## INTRODUÇÃO

Apesar do rápido desenvolvimento da ciência e do surgimento de novas tecnologias na área da saúde, a terapia tumoral é ainda uma questão de difícil manejo. Terapias convencionais, como cirurgia, quimioterapia e radioterapia podem fornecer benefícios a curto prazo, mas possuem efeitos colaterais devido a sua invasividade e biotoxicidade. Além disso, a resistência a múltiplas drogas quimioterápicas e as diversas toxicidades da radioterapia limitam seus efeitos curativos. Nesse contexto, as imunoterapias despertam o interesse de vários pesquisadores<sup>1</sup>.

Dentre as imunoterapias típicas, incluem-se: linfócitos infiltradores de tumor (TILs), células T com receptores de células T (TCR) produzidos e células T com receptores antigênicos quiméricos (CAR). Destas, a imunoterapia com células CAR-T tem recebido considerável atenção nas áreas de pesquisa, pois apresenta uma grande eficácia no tratamento de cânceres, especialmente nas malignidades hematológicas de células B<sup>1,2</sup>. Entretanto, nos tumores sólidos, há uma dificuldade no reconhecimento das células cancerígenas pelo CAR, devido a sua alta heterogeneidade fenotípica, dentre outros fatores<sup>1</sup>.

Até recentemente, a terapia com células CAR-T estava disponível apenas para um grupo seletivo de pacientes com malignidades hematológicas avançadas. Embora o uso desse tratamento emergente tenha sido, até agora, amplamente restrito a pequenos ensaios clínicos, seu avanço foi seguido com grande interesse por pesquisadores e clínicos<sup>3</sup>.

Um CAR é um tipo de receptor geneticamente construído<sup>1-3</sup>, composto por quatro partes. A primeira é uma região de reconhecimento de antígeno extracelular com fragmentos variáveis de cadeia única (scFvs), que derivam de anticorpos monoclonais (mAb) antígeno-específicos e reconhecem e se ligam a antígenos específicos relacionados ao tumor, independente da restrição molecular do complexo principal de histocompatibilidade (MHC). A segunda é uma área de haste (dobradiça) extracelular que normalmente consiste de regiões de fragmento cristalizável (Fc) ou da região espaçadora do CD4 e CD8. A terceira é uma região transmembrana que normalmente deriva do CD8, CD3- $\zeta$ , CD4, OX40 e H2-K<sup>b</sup>. A quarta é uma cauda sinalizadora intracelular, que inclui o componente transdutor de sinal do receptor de célula T (TCR)<sup>2</sup>. O design do CAR e sua estrutura têm evoluído com o tempo, de modo que

existem agora quatro gerações utilizadas na prática clínica, que variam entre si quanto à composição dos domínios de co-estimulação<sup>2,4</sup>.

Sendo assim, as células CAR-T são linfócitos geneticamente modificados para reconhecerem um espectro mais amplo de antígenos de superfície celulares, incluindo glicolípidios, carboidratos e proteínas. Além disso, atacam células tumorais malignas, que expressam esses antígenos, por meio da ativação da coestimulação citoplasmática, secreção de citocinas, citólise de células tumorais e proliferação de células T<sup>1,5</sup>. É essencial para o desenvolvimento de uma célula CAR-T bem-sucedida, que o alvo escolhido possibilite a identificação de um antígeno associado ao tumor, além de estar praticamente ausente nas células normais e superexpressado nas células malignas, de maneira a minimizar efeitos tóxicos em tecidos normais (*off target*)<sup>6</sup>.

O estudo teve como objetivo abordar a imunoterapia com células CAR-T, a fim de explicar o seu conceito, o seu processo de fabricação e o seu papel no tratamento de neoplasias hematológicas e tumores sólidos, por meio de uma revisão bibliográfica das publicações mais recentes sobre o assunto, de maneira a contribuir e incentivar a expansão das pesquisas sobre essa promissora terapia.

## MÉTODOS

Foi feita uma revisão de literatura na qual realizou-se uma pesquisa bibliográfica e transversal por meio do portal: PubMed (*National Center For Biotechnology Information*), em que foram utilizados como descritores os termos “*car-t cell therapy*” e “*neoplasms*”, determinados com base na biblioteca virtual de saúde DeCS (Descritores em Ciências da Saúde). A busca foi restrita a artigos completos gratuitos, para que apenas os resultados que apresentassem ambos os termos no título ou no resumo do artigo fossem incluídos. Dessa forma, foram obtidos, inicialmente, 10 artigos, os quais foram lidos integralmente para a confecção dessa revisão. Além disso, foram adicionados 3 ensaios clínicos atualizados sobre o tema.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

O processo de fabricação se inicia com a coleta de leucócitos não estimulados via leucaférese de grande volume<sup>3,7</sup>. A separação das células T pode ser alcançada de várias maneiras, sendo algumas delas, a remoção de glóbulos vermelhos e contaminantes de plaquetas pelos gradientes de densidade, a divisão das células por tamanho e densidade, e a eliminação de monócitos e isolamento de linfócitos<sup>3</sup>. As células são, então, transferidas para uma instalação de processamento celular de enriquecimento, onde são incubadas, geralmente, com vetores virais que codificam o CAR, os quais entram nas células T e introduzem o RNA do mesmo. Esse RNA é transcrito reversamente em DNA, que se recombina no genoma da célula T, o que resulta na incorporação permanente do gene CAR<sup>7</sup>. Os vetores lentivirais fornecem um perfil de integração genômica mais

seguro do que os gama-retrovirais e, portanto, têm sido comumente utilizados em ensaios clínicos de terapias com células CAR-T<sup>3</sup>.

Embora os vetores lentivirais tenham exibido esses recursos atraentes, apresentam acessibilidade complicada e cara. Por essas razões, pesquisadores têm procurado por métodos de transferência gênica mais acessíveis, sendo que os elementos transponíveis (*transposons*) oferecem uma alternativa com um vasto potencial para a terapia com células CAR-T. O *transposon sleeping beauty* (SB), um dos sistemas de transferência de genes não virais mais explorados para a fabricação do CAR, tem mostrado eficiência comparável com os vetores virais, oferecendo uma alternativa válida para a transferência de genes<sup>4</sup>.

Após a transferência gênica, as células T modificadas pelo CAR são, então, expandidas *ex vivo* e preparadas como um produto de infusão intravenosa farmacêutica<sup>7</sup>. Após a coleta de sangue e a fabricação do produto de célula CAR-T específico para o paciente, as células são congeladas e entregues ao centro de tratamento, onde são, então, descongeladas e infundidas no paciente<sup>3</sup>. Geralmente, o tempo entre a leucaférese e a administração de células CAR-T é de aproximadamente 4 a 5 semanas, sendo que o processo do encaminhamento até a infusão no paciente pode levar até 2 meses. Portanto, durante este período, visando a minimização da velocidade de progressão da doença e a manutenção da condição geral do paciente, costuma-se realizar quimioterapia linfodepletora<sup>7</sup>.

Em resumo, as células T são coletadas do paciente e geneticamente modificadas para incluir receptores de antígeno, que combinam o fragmento variável de cadeia única de um anticorpo com os domínios de sinalização intracelular. Assim, eles podem reconhecer células tumorais que expressam um antígeno associado a um tumor. As células CAR-T projetadas são então expandidas em laboratório e transfundidas de volta para o paciente<sup>3</sup>.

A terapia com células CAR-T é mais conhecida por seu papel no tratamento de malignidades hematológicas de células B. A CD19, uma proteína de superfície expressa na maior parte dos linfócitos da linhagem B e não expressa em outros tecidos normais, é o alvo antigênico mais bem estudado de antígenos hematológicos associados à malignidade. A terapia com células CAR-T específicas para CD19 tem demonstrado grande eficiência em induzir remissões duráveis de várias malignidades hematológicas, incluindo a leucemia linfoblástica aguda (LLA), a leucemia linfoblástica crônica (LLC), ambas neoplasias malignas de células hematopoiéticas de linhagem linfóide<sup>1,7,8</sup>, e os linfomas não-Hodkins (LNH), que são neoplasias malignas que acometem o tecido linfático de maneira diversa (células B, células T e células *natural killer*)<sup>5</sup>. Em 90% dos casos da LLA, em mais de 50% dos casos das LLC<sup>1</sup> e em 40 a 58% dos casos de LNH, houve remissão completa dos sintomas<sup>7</sup>.

Além disso, tem-se discutido a respeito de novos antígenos candidatos promissores para o tratamento do mieloma múltiplo (MM) refratário/recidivante com células CAR-T, como por exemplo: o antígeno de cadeia

leve Kappa, o CD38, o CD138, o SLAMF7, o GPRC5D e o antígeno de maturação de célula B. O MM é uma neoplasia de células B com uma variedade de manifestações clínicas e um prognóstico muito ruim e, apesar da terapia com células CAR-T ter demonstrado ser promissora para o seu tratamento, alguns desafios devem ser superados como, por exemplo, a redução da toxicidade causada pelo efeito *off target*. Apesar de ainda não haver terapia com células CAR-T licenciada para pacientes com MM, aqueles pré-tratados intensamente, inelegíveis para transplante ou recidivados precocemente, podem se beneficiar desse tratamento<sup>6</sup>.

Um efeito colateral quase inevitável da imunoterapia com células CAR-T é a síndrome da liberação de citocinas (CRS), também conhecida como “tempestade de citocinas”, a qual está relacionada ao processo inflamatório sistêmico induzido pela reação entre as células CAR-T infundidas e os antígenos-alvo. A apresentação da CRS pode variar desde uma síndrome semelhante à gripe, autolimitada, até uma disfunção de múltiplos órgãos que, sem uma intervenção imediata e tratamentos intensivos de suporte, pode levar o paciente à morte. A toxicidade da CRS geralmente se desenvolve dentro da primeira semana após a infusão de células CAR-T<sup>9</sup> e atinge seu pico dentro de 1 a 2 semanas, coincidindo com a expansão máxima *in vivo* das células T<sup>3</sup>. Quando severa, pode ser necessária a utilização de vasopressores, ventilação mecânica, anti-epiléticos e hemodiálise. Um indicador confiável da severidade da CRS é a proteína C-reativa (PCR)<sup>1</sup>. Atualmente os pesquisadores podem controlar a maior parte dos casos de CRS com anticorpo anti-interleucina 6, como o tocilizumab, aprovado em 2017 pelo *Food and Drug Administration* (FDA) para o tratamento de CRS induzido por terapia CAR-T<sup>1,3,9</sup>.

Também em 2017, apoiando-se nos resultados de segurança e eficácia do ensaio clínico ZUMA-1 (Tabela 1), o FDA aprovou o uso do axicabtagene ciloleucel para o tratamento de adultos portadores de LNH de células B recorrente ou refratário<sup>10</sup>. Já em 2021, os resultados do ensaio clínico ZUMA-3 (Tabela 1) culminaram com a

aprovação do uso de brexucabtagene autoleucel (KTE-X19) para o tratamento de adultos portadores LLA de linhagem B recidivada ou refratária, sendo a primeira terapia com células CAR-T para essa doença<sup>11</sup>. Atualmente, o ensaio clínico de fase 3 TRANSFORM, com previsão de término para o final de 2023, está avaliando se o uso de lisocabtagene maraleucel em adultos com LNH de células B de alto grau recorrente ou refratário é tão seguro e eficaz quanto altas doses de quimioterapia e transplante de células tronco<sup>12</sup>.

Após o sucesso da terapia com células CAR-T em malignidades hematológicas, mais pesquisas têm sido feitas para estender esse tratamento a outras neoplasias, como os tumores sólidos<sup>3</sup>. No entanto, dentre as dificuldades encontradas para sua utilização, incluem-se: a ausência de alvos antigênicos específicos de tumores sólidos, a heterogeneidade desses tumores e a hostilidade do microambiente (imunossupressor) tumoral às células T, dificultando a infiltração e persistência dessas células nesses tecidos por tempo suficiente para gerar uma resposta eficiente<sup>1</sup>.

Apesar das dificuldades, a terapia com células CAR-T tem alcançado resultados promissores para tipos específicos de tumores sólidos, como por exemplo, o câncer de pulmão de células não pequenas, o mesotelioma pleural maligno, o colangiocarcinoma, o câncer ovariano epitelial, o glioblastoma e os sarcomas. No entanto, alguns pontos-chave devem ser considerados para traduzir o sucesso da terapia com células CAR-T para tumores sólidos, como, por exemplo, a descoberta de um antígeno específico, a fabricação de células CAR-T com receptores para múltiplos antígenos, a adaptação das células T frente à hostilidade do microambiente tumoral<sup>1</sup>. Acredita-se que fatores solúveis imunossupressores desse ambiente, como o fator de transformação de crescimento β (TGF-β), sejam responsáveis pela inibição da resposta imune celular. Espera-se que a combinação do bloqueio do receptor TGF-β com a terapia com células CAR-T resulte em melhores resultados para os pacientes oncológicos<sup>13</sup>.

**Tabela 1.** Principais dados clínicos referentes ao ZUMA-1 e ZUMA-3.

ZUMA-1 <sup>10</sup>		ZUMA-3 <sup>11</sup>	
<b>Medicamento testado</b>	Axicabtagene ciloleucel	<b>Medicamento testado</b>	Brexucabtagene autoleucel
<b>Número de pacientes tratados</b>	101 (fase 2)	<b>Número de pacientes tratados</b>	55
<b>Tempo de acompanhamento</b>	25,7-28,8 meses	<b>Tempo de acompanhamento</b>	13,8-19,6 meses
<b>Tipo de resposta</b>	Completa: 58% Parcial: 25% Doença permaneceu estável: 10% Doença progressiva: 5% Não acessados: 2%	<b>Tipo de resposta</b>	Remissão completa (RC): 56% RC com recuperação hematológica incompleta: 15% Medula óssea aplásica ou hipoplásica livre de blastos: 7% Sem resposta: 16 % Resposta desconhecida ou não avaliável: 5%

Fonte: tabela feita pelos próprios autores baseada nos dados dos ensaios clínicos ZUMA-1 e ZUMA-3.

Outro grande desafio da terapia com células CAR-T a ser vencido é a sua acessibilidade. Nos Estados Unidos da América (EUA), o custo total do tratamento da LLA de células B, considerando o produto e as despesas das medidas de suporte necessárias, é de cerca de 1 milhão de dólares<sup>9</sup>.

## CONCLUSÃO

A terapia com células CAR-T era, inicialmente, indicada apenas para um grupo seleto de pacientes com neoplasias hematológicas avançadas. Entretanto, essa terapia tem avançado e demonstrado grande potencial para atuar em um espectro cada vez maior de pacientes. Com relação às malignidades hematológicas, a terapia com células CAR-T específicas para CD19 demonstrou especial eficácia na indução de remissões duráveis na LLA, LLC e LNH. Além disso, novos antígenos têm sido estudados para o tratamento do MM refratário/recidivante com células CAR-T; entretanto, a intensa ativação imune característica dessa terapia deve ser gerenciada adequadamente para permitir o seu uso clínico bem-sucedido, pois pode apresentar repercussões graves. Por outro lado, os resultados em cânceres sólidos não foram homogêneos com relação a sua eficácia até o momento, já que a terapia para esses tumores é mais complicada do que para as neoplasias hematológicas e, apesar de existirem alguns casos de remissão temporária dos tumores sólidos, a sua aplicação clínica enfrenta algumas dificuldades técnicas, como a hostilidade do microambiente tumoral, bem como poderia se beneficiar do desenvolvimento de soluções mais econômicas para esse tipo de terapia.

## CONTRIBUIÇÃO DOS AUTORES

Todos os autores participaram de maneira significativa na concepção do estudo, na análise e interpretação dos dados, na elaboração, revisão e tradução do manuscrito. Adicionalmente, o autor José Eduardo Palacio Soares também foi o responsável por responder os revisores e atualizar o manuscrito, quando solicitado. Por fim, a autora Fernanda Cardoso Parreiras foi responsável pela orientação e aprovação final do manuscrito.

## COPYRIGHT

Copyright© 2020 Soares et al. Este é um artigo em acesso aberto distribuído nos termos da Licença Creative Commons Atribuição que permite o uso irrestrito, a distribuição e reprodução em qualquer meio desde que o artigo original seja devidamente citado.

## REFERÊNCIAS

- Pang Y, Hou X, Yang C, Liu Y, Jiang G. Advances on chimeric antigen receptor-modified T-cell therapy for oncotherapy. *Mol Cancer*. 2018;17(91):1-10.
- Zhu X, Cai H, Zhao L, Ning L, Lang J. CAR-T cell therapy in ovarian cancer: from the bench to the bedside. *Oncotarget*. 2017 Ago;8(38):64607-21.
- Subklewe M, Von Bergwelt-Baildon M, Humpe A. Chimeric antigen receptor t cells: a race to revolutionize cancer therapy. *Transfus Med Hemother*. 2019 Fev;46(1):15-24.
- Magnani CF, Tettamanti S, Alberti G, Pisani I, Biondi A, Serafini M, et al. Transposon-based CAR T cells in acute leukemias: where are we going? *Cells*. 2020 Mai;9(6):1337.
- Crisci S, Di Francia R, Mele S, Vitale P, Ronga G, De Filippi R, et al. Overview of targeted drugs for mature B-cell non-hodgkin lymphomas. *Front Oncol*. 2019;9:1-22.
- Huang H, Wu HW, Hu YX. Current advances in chimeric antigen receptor T-cell therapy for refractory/relapsed multiple myeloma. *J Zhejiang Univ Sci B*. 2020 Jan;21(1):29-41.
- Roex G, Feys T, Beguin Y, Kerre T, Poiré X, Lewalle P, et al. Chimeric antigen receptor-T-cell therapy for B-cell hematological malignancies: an update of the pivotal clinical trial data. *Pharmaceutics*. 2020 Fev;12(2):194.
- Valent P, Sadovnik I, Eisenwort G, Bauer K, Herrmann H, Gleixner KV, et al. Immunotherapy-based targeting and elimination of leukemic stem cells in AML and CML. *Int J Mol Sci*. 2019 Ago;20(17):4233.
- Cerrano M, Ruella M, Perales MA, Vitale C, Faraci DG, Giaccone L, et al. The advent of CAR T-cell therapy for lymphoproliferative neoplasms: integrating research into clinical practice. *Front Immunol*. 2020 Mai;11:888.
- Locke FL, Ghobadi A, Jacobson CA, Miklos DB, Lekakis L, Oluwole OO, et al. Long-term safety and activity of axicabtagene ciloleucel in refractory large B-cell lymphoma (ZUMA-1): a single-arm, multicentre, phase 1-2 trial. *Lancet Oncol*. 2018 Jan;20(1):31-42.
- Shah BD, Ghobadi A, Oluwole OO, Logan AC, Boissel N, Cassaday RD, 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. *Lancet*. 2021 Ago;398(10299):491-502.
- Kamdar M, Solomon SR, Arnason JE, Johnston PB, Glass B, Bachanova V, et al. Lisocabtagene Maraleucel (liso-cel), a CD19-Directed Chimeric Antigen Receptor (CAR) T Cell Therapy, versus Standard of Care (SOC) with Salvage Chemotherapy (CT) followed by Autologous Stem Cell Transplantation (ASCT) As Second-Line (2L) Treatment in Patients (Pts) with Relapsed or Refractory (R/R) Large B-Cell Lymphoma (LBCL): results from the randomized phase 3 transform study. *Blood*. 2021;138(Supl 1):91.
- Stüber T, Monjezi R, Wallstabe L, Kühnemundt J, Nietzer SL, Dandekar G, et al. Inhibition of TGF- $\beta$ -receptor signaling augments the antitumor function of ROR1-specific CAR T-cells against triple-negative breast cancer. *J Immunother Cancer*. 2020 Abr;8(1):e000676.

