

Estratégias imunoterapêuticas no combate ao câncer: as vantagens da engenharia imunológica frente às terapias usuais

Immunotherapeutic strategies against cancer: the advantages of immune engineering compared to the usual therapies

Samyra Aparecida Ferreira da SILVA¹, Giuliano Reder de CARVALHO¹, Soraia Chafia Naback de MOURA¹, Aline Corrêa RIBEIRO¹.

(1) Universidade Presidente Antônio Carlos (UNIPAC). Juiz de Fora – MG, Brasil.

Recebido: 24/06/2019

Revisado: 31/07/2019

Aceito: 15/08/2019

Editor de Seção:

Dra. Karina Griesi Oliveira

Afiliação do Editor:

Hospital Israelita Albert

Einstein.

Autor correspondente:

Aline Corrêa Ribeiro (alinecorrearibeiro@yahoo.com.br)

Rua Professor Clóvis Jaguaribe, 248/401. Bairro Bom Pastor.

Juiz de Fora – MG. CEP: 36021-700

Tel: (32) 99161-9120.

Conflitos de interesses: Os autores declaram não haver conflitos de interesse. Todos os autores leram e aprovaram o manuscrito final.

Resumo

As estratégias disponíveis para o combate ao câncer possuem diversas limitações clínicas, sendo a mais relevante a falta de especificidade antitumoral, no qual tecido saudável também é prejudicado ocasionando efeitos adversos. Este trabalho objetivou abordar aspectos inerentes à imunoterapia, enfatizando sua versatilidade e vantagens em comparação às terapias comuns. A versatilidade e especificidade da imunoterapia são comprovadas através de estudos com anticorpos monoclonais, células dendríticas, vacinas de DNA, transferência adotiva de células, terapia gênica com receptores quiméricos de antígeno, sendo este, talvez, a estratégia imunoterapêutica mais promissora no tratamento de malignidades hematológicas, despertando o interesse de inúmeros cientistas.

Palavras-chave: neoplasias; tratamento farmacológico; terapia baseada em transplante de células e tecidos; imunoterapia; vacinas.

Abstract

The strategies available to fight cancer have several clinical limitations, the most relevant being the lack of antitumor specificity, where healthy tissue is also harmed causing adverse effects. This work aimed to address aspects inherent to immunotherapy, emphasizing its versatility and advantages compared to common therapies. The versatility and specificity of immunotherapy are demonstrated through studies with monoclonal antibodies, dendritic cells, DNA vaccines, adoptive transfer of cells, and gene therapy with antigen chimeric receptors, this being perhaps the most promising immunotherapeutic strategy in the treatment of hematological malignancies, arousing the interest of the scientific community.

Keywords: neoplasms; drug therapy; cell- and tissue-based therapy; immunotherapy; vaccines.

1 Introdução

O câncer consiste em um grupo de doenças que têm em comum células com alterações genéticas e epigenéticas, as quais permitem sua proliferação desenfreada e a formação de tumores com potencial invasivo e metastático (ALBERTS, 2010; MENDONÇA, 2016). As células tumorais possuem características essenciais para a progressão tumoral, entre elas a capacidade de evadir os sinais anti-proliferativos, o fato de não precisarem de sinais de crescimento para crescerem, são resistentes à morte celular programada, têm potencial replicativo infinito, são capazes de estimular a angiogênese para nutrição do microambiente tumoral, possuem o metabolismo de energia alterado, além do potencial de invadir tecidos saudáveis e se metastatizar (HANAHAN e WEIMBERG, 2011; MENDONÇA, 2016).

Entretanto, isso tudo só é possível por uma característica dessas células, a de serem capazes de evadir a resposta imunológica. Existem vários meios para isso, sendo a edição tumoral o mais bem elucidado. Essa edição funciona à medida que o sistema imune vai destruindo células tumorais e formando pressões seletivas que resultam na sobrevivência e proliferação das células malignas com imunogenicidade reduzida, as quais são capazes de gerar tumores que escapam da vigilância imunológica (LIMA et al., 2018).

As abordagens terapêuticas atuais no combate ao câncer consistem em quimioterapia, radioterapia, cirurgia, produtos biológicos e biotecnológicos, e transplante de precursores hematopoéticos no caso de malignidades hematológicas (MARQUES et al., 2018; CORREIA et al., 2018; VIDAL; FIGUEIREDO; PEPE, 2018; OLIVEIRA, 2018). Entretanto, todos esses procedimentos possuem limitações clínicas, seja pela qualidade de resposta do paciente, seja pelos efeitos colaterais. A quimioterapia e radioterapia não são específicas para as células tumorais, atacando também tecidos saudáveis do paciente. Outro problema da quimioterapia são as constantes mutações genéticas, as quais acabam por tornar as células tumorais resistentes às drogas (HOMBACH-KLONISCH, 2014). Já no caso do transplante de precursores hematopoéticos, o problema é o surgimento frequente da doença do enxerto contra o hospedeiro, a qual pode gerar reação imunológica devastadora no paciente (MARQUES et al., 2018). A cirurgia para retirada do tumor, por sua vez, tem como desvantagem a alta taxa de recidiva da doença (QUISPE et al., 2018).

Frente aos dados apresentados, torna-se nítido a necessidade de tratamentos mais eficazes. A imunoterapia, tratamento baseado na manipulação de componentes do sistema imune, tem-se mostrado promissora no combate ao câncer. A imunoterapia abrange uma diversidade de possibilidades muito ampla no tratamento do câncer; podendo usar como ferramentas, por exemplo: citocinas, anticorpos monoclonais, células dendríticas, linfócitos T, linfócitos natural killer (NK), etc (SHARMA, 2012).

O câncer está altamente relacionado com o sistema imune como apresentado anteriormente; portanto, para uma terapia mais específica e com menos efeitos colaterais, a melhor opção é a própria manipulação do sistema imunológico através da imunoterapia. Nesse contexto, o objetivo do presente trabalho foi pesquisar diferentes estratégias de utilização de componentes do sistema imune para o tratamento do câncer, além de avaliar suas vantagens em relação aos tratamentos convencionais.

2 Câncer e o tratamento atual

O câncer, referido ao termo neoplasia, é definido como uma transformação maligna resultante da proliferação celular descontrolada. Existem mais de 100 tipos de câncer, que correspondem aos vários sistemas de células do corpo, os quais se diferenciam pela capacidade de invadir tecidos e órgãos, vizinhos ou distantes (SILVA, 2017; LIMA et al., 2018).

Os fatores de risco de câncer podem ser ambientais ou hereditários. Cerca de 80% está relacionado ao meio ambiente. Conceitua-se como ambiente, o meio em geral (água, terra e ar), o ambiente ocupacional, o ambiente social, cultural (estilo e hábitos de vida) e o de consumo (alimentos, medicamentos). Os diferentes tipos de câncer refletem diferentes estilos de vida, hábitos, dietas, entre outros fatores comportamentais (MENDONÇA, 2016; LIMA et al., 2018; CAMPOS et al., 2018).

O câncer é classificado de acordo com o tipo celular que se transformou malignamente. Entre os tipos, o mais comum é o carcinoma, o qual tem sua origem em células que revestem o corpo, incluindo pele e revestimentos internos, como os da boca, garganta, brônquios, esôfago, estômago, intestino, bexiga, útero e ovários, e os revestimentos dos dutos mamários, próstata e pâncreas. Os sarcomas constituem outro tipo de câncer, o qual se origina à partir de tecidos de suporte como ossos, tecido gorduroso, músculo e tecido fibroso de reforço, encontrados na maior parte do corpo (MURAD e KATZ, 1996; MENDONÇA, 2016; SEITENFUS, 2018). Existem, entretanto, outros cânceres

que não se enquadram nessas duas amplas categorias, como os hematológicos (leucemias e linfomas) e os derivados do sistema nervoso (MURAD e KATZ, 1996; SALATA et al., 2019).

O tratamento atual do câncer depende da origem celular e consiste basicamente em quimioterapia, cirurgia, radioterapia e transplante de medula óssea. Dentre estes, a quimioterapia é o método que utiliza compostos químicos, os quais atingem tanto células tumorais quanto as normais, embora as malignas tendem a sofrer maior dano. Esses compostos químicos, na maioria das vezes, consistem em drogas capazes de interferir em reações enzimáticas, afetando a função e proliferação tanto das células normais quanto cancerosas (MURAD e KATZ, 1996; SEITENFUS, 2018; VIDAL; FIGUEIREDO; PEPE, 2018).

A quimioterapia é chamada de curativa quando se tem por objetivo erradicação total do tumor, de adjuvante quando administrada após cirurgia curativa com o intuito de esterilizar células residuais, de neoadjuvante quando a meta é a redução parcial do tumor para posterior complementação com cirurgia ou radioterapia e de paliativa em casos em que não há fim curativo, mas a melhora de qualidade da sobrevida do paciente (BRASIL, 2014; SILVA, 2017; SEITENFUS, 2018).

Dentre os principais quimioterápicos, estão os alquilantes, antimetabólitos, antibióticos anti-tumorais, inibidores mitóticos e outros agentes que não se encaixam nessas categorias (BRASIL, 2014). Mesmo com toda essa diversidade farmacológica da quimioterapia, a resistência às drogas ainda é uma questão que requer atenção. Essa resistência pode ocorrer através do desenvolvimento de novas mutações pelas células tumorais, por um estímulo ao desenvolvimento de células tumorais resistentes quando estas são expostas às drogas, em casos de descontinuação do tratamento ou quando a droga é aplicada em intervalos irregulares e/ou em doses inadequadas (MENDONÇA, 2016).

Além da questão da resistência às drogas, pela falta de especificidade, a quimioterapia apresenta efeitos colaterais como alterações hematológicas, gastrointestinais, cardiotoxicidade, hepatotoxicidade, toxicidade pulmonar, neurotoxicidade, disfunção reprodutiva, toxicidade vesical e renal, alterações metabólicas, toxicidade dermatológicas, reações alérgicas, anafilaxia e até alterações cognitivas (UNTURA e REZENDE, 2012; SILVA, 2017; CAMPOS et al., 2018; CARVALHO; O'DWYER; RODRIGUES, 2018).

Outro tratamento comum é a radioterapia, a qual através de um feixe de radiações ionizantes é capaz de erradicar

células tumorais. A eficácia dessa terapia depende da sensibilidade do tumor às radiações, a qual está intimamente relacionada à origem celular, grau de diferenciação, oxigenação e forma clínica de apresentação (BRASIL, 2014). É classificada como radical quando se busca cura total do tumor; remissiva quando a meta é apenas redução do tumor; profilática em caso de tratamento de doença em fase subclínica; paliativa quando o objetivo for remissão de sintomas; e ablativa para suprimir a função de um órgão (BONASSA, 2005; MORETI et al., 2018).

Apesar de comum na clínica oncológica, assim como a quimioterapia, a radioterapia apresenta, entretanto, efeitos colaterais relevantes devido à sua pouca especificidade. Os efeitos imediatos ocorrem em tecidos com atividade proliferativa maior, como as gônadas por exemplo. Incluem azoospermia, epitelites, mucosites e mielodepressão. Os efeitos tardios por sua vez, não são frequentes, mas quando ocorrem, estão relacionados com doses de tolerância dos tecidos normais ultrapassadas. Consistem em fibroses e atrofia e raramente em alterações genéticas e formação de novos tumores (MURAD e KATZ, 1996).

A cirurgia para remoção do tumor é também muito empregada, apresentando resultados mais relevantes quando realizada em fases mais precoces do câncer. O procedimento cirúrgico é considerado curativo quando visa remoção completa do tumor original assim como estruturas circunvizinhas comprometidas e metástases confirmadas e identificadas (SIMMANG; SENATORE; LOWRY, 1999; MORETI et al., 2018). A cirurgia é classificada como paliativa, por sua vez, em casos em que a finalidade seja aliviar ou reduzir sintomas em pacientes que não apresentem evidências de possível cura cirúrgica (SIMMANG; SENATORE; LOWRY, 1999; SEITENFUS, 2018).

Outra modalidade de tratamento, o transplante de medula óssea (TMO), é muito utilizado na clínica oncológica para a reconstituição hematopoiética de pacientes que apresentam uma série de malignidades hematológicas diferentes. Para a realização do transplante, o paciente deve ter uma boa fonte de células-tronco hematopoiéticas (CTH), se possível, de um doador com os mesmos antígenos de histocompatibilidade leucocitária (HLA) (LUÍS, 2000; MARQUES et al., 2018; OLIVEIRA, 2018; PEREIRA e DE OLIVEIRA, 2019).

3 Diversidade imunoterapêutica

3.1 Anticorpos Monoclonais (mAbs)

Em 1890, teve início a chamada era moderna da imunologia, com a descoberta das imunoglobulinas como componentes principais do sistema imune. Em 1975, criaram os primeiros anticorpos monoclonais através da descoberta da técnica de hibridização celular somática, resultando nos hibridomas ou híbridos de células formadoras de anticorpo e linhagens celulares de replicação contínua (LUÍS, 2000; VIDAL; FIGUEIREDO; PEPE, 2018; PEREIRA e DE OLIVEIRA, 2019). Através das técnicas genéticas e moleculares, foi possível gerar anticorpos híbridos humano-camundongo para tentar solucionar o problema da rejeição, e são os chamados anticorpos quiméricos ou humanizados. O anticorpo quimérico é o que tem a região variável do anticorpo de camundongo com a região constante do anticorpo humano. O anticorpo humanizado apresenta somente as regiões hipervariáveis do anticorpo de camundongo, e o restante de moléculas de anticorpo humano (VIDAL; FIGUEIREDO; PEPE, 2018; OLIVEIRA, 2018).

Os mAbs, como terapia alvo, têm alta especificidade e pouco efeito colateral em sua maioria, sendo o foco de muitas pesquisas para as doenças que necessitam de tratamentos agressivos como o câncer. Exemplo é o gemtuzumabe, mAb humanizado com especificidade para o antígeno CD33, o qual está expresso na maioria dos blastos de pacientes com leucemia mieloide aguda (LMA), mas não em células saudáveis. Este anticorpo possui um mecanismo de ação interessante, capaz de entregar uma potente toxina nas células-alvo (ROSS et al., 2003; SILVA, 2017).

Outro alvo é o fator de morte programada 1, para onde se direciona o nivolumabe, registrado em 2016. A partir da ligação ao receptor, há uma potencialização de respostas das células T, incluindo respostas antitumorais, responsáveis por combater o tumor. Os anticorpos anti-PD1 agem, então, restaurando a função imune no microambiente do tumor (VIDAL; FIGUEIREDO; PEPE, 2018).

O rituximabe, por sua vez, é um famoso anticorpo monoclonal quimérico que se liga especificamente ao antígeno de superfície CD20, o qual está expresso em linfócitos pré-B e linfócitos B maduros, mas não em células progenitoras, células pró-B, células plasmáticas normais ou outros tecidos normais (REBOUÇAS, 2018). O antígeno CD20 encontra-se presente em quase todas as células B dos linfomas não-Hodgkin. Os possíveis

mecanismos efetores desencadeados por esse mAb são citotoxicidade complemento-dependente e citotoxicidade celular anticorpo-dependente (VIDAL; FIGUEIREDO; PEPE, 2018; PEREIRA e DE OLIVEIRA, 2019). Em 2002, tornou-se a principal droga antineoplásica no mundo. É indicado para os casos de linfoma não-Hodgkin de baixo grau e folicular CD20+, que não responderam ou que progrediram durante ou após a pelo menos um tratamento padrão contendo agente alquilante (GRILLO-LOPEZ, 2003; OLIVEIRA, 2018; REBOUÇAS, 2018).

Casos em que a doença é refratária ao rituximabe e recidivou à quimioterapia subsequente, pode ser utilizado o mAb tositumomabe. Este consiste em um anticorpo monoclonal IgG murino, radiomarcado com iodo-131, que também se liga ao antígeno CD20 na superfície de células B normais e malignas (VOSE, 2004; VIDAL; FIGUEIREDO; PEPE, 2018).

Para tumores sólidos, poucos mAbs se mostram eficazes, entretanto, em 2004, foi aprovado um mAb chamado bevacizumabe para o tratamento de primeira linha no câncer colorretal metastático em combinação com quimioterapia. Este consiste em um anticorpo monoclonal humanizado anti-fator de crescimento do endotélio vascular. É o primeiro agente aprovado contra um tumor de angiogênese (HARRIS, 2004).

3.2 Vacinas anti-neoplásicas

Com o avanço dos estudos no campo da imunologia, além do mAbs, diversas novas formas de vacina e imunização no geral têm sido descobertas. Entre as mais modernas estão as chamadas vacinas gênicas ou vacinas de DNA, nas quais os genes que codificam antígenos potencialmente imunizantes são clonados em plasmídeos-vetores. Esta modalidade de imunização é uma das abordagens investigadas atualmente para a geração de vacinas anti-neoplásicas (MENDONÇA, 2016; OLIVEIRA, 2018). Foi demonstrado em um ensaio clínico com pacientes acometidos com câncer de próstata que a imunização com um antígeno de membrana específico de próstata, inserido em um plasmídeo-vetor, foi capaz de induzir a produção de anticorpos específicos; os quais não foram detectados em pacientes não imunizados (TODOROVA et al., 2005).

A vacina profilática para hepatite B acabou se tornando também anti-neoplásica, pois em um ensaio publicado em 2009, após 20 anos de acompanhamento, foi demonstrado que a vacinação reduziu o risco de desenvolvimento de carcinoma hepatocelular em 70% (CHANG, 2009; SILVA, 2017). Para o vírus do papiloma humano (HPV), duas vacinas já

estão disponíveis no mercado, a Gardasil® e a Cervarix®, sendo que ambas têm apresentado eficácia na prevenção de infecção pelos tipos de HPV 16 e 18, presentes em 70% dos casos de câncer de colo do útero (EISENSTEIN, 2011).

Outro tipo de vacinação é a que usa células para imunização, sendo as células dendríticas (DCs) as mais estudadas para este fim. A técnica baseia-se no desenvolvimento de vacinas partindo de precursores de DCs retiradas do paciente; são posteriormente diferenciadas em DCs maduras e carregadas com antígenos tumorais autólogos, possibilitando o desencadeamento de uma resposta imune direcionada e efetiva (GOLDSBY; KINDT; OSBORNE, 2007; BAPTISTA, 2017; OLIVEIRA, 2018). Para o câncer da próstata, a estratégia da vacinação com DCs se mostrou promissora através de diversos estudos clínicos de fase 2 e 3 (KIRKWOOD, 2012; BAPTISTA, 2017). Em outra forma de câncer, o pancreático, dos cinco doentes testados, um paciente apresentou remissão parcial do tumor e dois obtiveram uma estabilização tumoral de duração superior a seis meses (KOIDO, 2011). O uso de DCs em pacientes com melanoma avançado mostrou também aumentar o potencial de indução e amplificação da resposta anti-tumoral nestes doentes (BRUSSEL; BERNEMAN; COOLS, 2012; BAPTISTA, 2017; OLIVEIRA, 2018).

3.3 Outras abordagens

Sendo elas agentes inflamatórios, estimuladores de células imunológicas ou com outras funções, as citocinas desempenham papel importante no sistema imune e, portanto, têm sido amplamente utilizadas em imunoterapias. Em 2000, os primeiros estudos utilizando a citocina CCL21 recombinante como uma monoterapia para modelos tumorais pré-clínicos demonstraram uma potente resposta antitumoral imunomediada que levou à completa erradicação de tumores de carcinoma de pulmão (SHARMA; STOLINA; LUO, 2000). Outras citocinas como CCL2, CCL3 e CCL5 utilizadas em monoterapia ou em terapia de combinação, têm apresentado como resultado tanto a regressão do tumor quanto imunidade à formação de novos tumores em vários modelos pré-clínicos (HOMEY; MÜLLER; ZLOTNIK, 2002; BAPTISTA, 2017).

Além das citocinas, outras moléculas conhecidas como coestimuladores podem funcionar como adjuvantes do sistema imune fazendo parte de vias de sinalização ou através de outros meios. B7.1 e B7.2 são moléculas co-estimulatórias que tem a capacidade de fornecer o segundo sinal de ativação de células T para seu estado ativado prevalecer sobre o estado anérgico.

Várias estratégias com B7 foram utilizadas com sucesso para a imunoterapia de tumores sólidos e malignidades hematológicas, incluindo a expressão celular de B7 e proteínas B7 de fusão imunoglobulínicas solúveis (ELTZSCHIG e CARMELIET, 2011).

Uma abordagem de imunoterapia paralela para estimular ligantes co-estimulatórios de células T é através da inibição do antígeno 4 de linfócito T citotóxico (CTLA-4), molécula inibidora natural de B7 e de co-estimulação em geral (Figura 1) (FERREIRA, 2018). Anticorpos monoclonais antagonistas de CTLA-4 foram extensivamente estudados em pacientes com melanoma e estão agora a ser explorados para benefício clínico em outros tumores sólidos, incluindo os de pulmão, próstata e cancro das células renais. Apesar de apenas apresentar melhorias periféricas nas taxas de resposta e sobrevida global em comparação com regimes de quimioterapia convencionais, terapias anti-CTLA-4 são promissoras para a longa durabilidade dos efeitos na minoria dos pacientes que obtêm remissão parcial ou completa (CALLAHAN; WOLCHOK; ALLISON, 2010; OLIVEIRA, 2018).

A administração local de moléculas inflamatórias ou tratamento sistêmico com agentes que funcionam como ativadores policlonais de linfócitos, podem estimular respostas anti-tumorais inespecíficas, constituindo um outro tipo de imunoterapia (FERREIRA, 2018). A administração do bacilo de Calmette-Guérin (BCG) em pacientes oncológicos nos locais de crescimento tumoral é o exemplo mais estudado dessa abordagem. As micobactérias BCG promovem a ativação de macrófagos e, conseqüentemente, ocorre morte mediada por macrófagos das células tumorais. Essas bactérias atuam ainda estimulando respostas de células T contra antígenos tumorais e são muito usadas no tratamento do câncer de bexiga (KAWAI, 2003).

4 Imunoterapias avançadas

4.1 Transferência adotiva de células (ACT)

A transferência adotiva de linfócitos T é uma modalidade imunoterapêutica na qual linfócitos T do paciente são isolados e estimulados *in vitro* e, após expansão clonal e ativação, são reinfundidos no mesmo (KALOS e JUNE, 2013; PEREIRA e DE OLIVEIRA, 2019). Na última década, pesquisadores têm buscado diferentes modalidades de ACT: linfócitos infiltrantes de tumor (TIL), clones de células T autólogas antígeno-específicas, linfócitos anti-tumorais

doadores, e linfócitos humanos, mais recentemente, geneticamente modificadas (LEE e MARGOLIN, 2012; PEREIRA e DE OLIVEIRA, 2019).

Destes, a terapia com TILs tem sido uma das mais estudadas por estes estarem presentes em tumores como o melanoma, carcinoma renal, carcinoma de cólon, glioma e câncer de mama; e, portanto, serem tumor-específicos. Nessa estratégia, TILs são isolados do tumor do paciente, expandidos *in vitro* e inseridos de volta no paciente. Apesar de estarem presentes em outros tumores, os TILs só apresentam boa resposta anti-tumoral no contexto do melanoma, pois parece que TILs de outros tumores após expansão *in vitro* dificilmente formam linfócitos capacitados a desencadear resposta efetora com sucesso (BAPTISTA, 2017).

4.2 Imunoterapia gênica

A terapia gênica é um procedimento criado para o tratamento de doenças através da modificação genética de células (NARDI; TEIXEIRA; SILVA, 2002; BAPTISTA, 2017). Entre as estratégias mais recentes de terapia gênica para o câncer pode-se citar um estudo recente no qual demonstraram a eficiência de um sistema de entrega no qual um siRNA conjugado a oligodeoxinucleotídeos CpG, agonistas do receptor Toll-like 9 intracelular, é internalizado no compartimento de células leucêmicas e silencia a expressão do fator de transcrição oncogênico STAT3 gerando imunidade anti-tumoral sistêmica (HOSSAIN, 2014; BAPTISTA, 2017).

Em um outro estudo, pesquisadores construíram um vetor adenoviral contendo o gene pró-apoptótico Smac sob o controle do promotor induzido por radiação ionizante (IR) EGr1. Após transfecção de linhagens celulares de câncer de mama com esse vetor e exposição à IR o gene Smac era expresso resultando em redução do crescimento e viabilidade celular, progressão alterada do ciclo celular e aumento de apoptose. A expressão de Smac induzida por IR promoveu também o aumento da sensibilização dessas células à morte induzida por radiação (LI, 2014).

5 Receptores Quiméricos de Antígeno (CARs)

Os exemplos mostrados anteriormente salientam a diversidade de meios de manipular componentes do sistema imune através da terapia gênica, além da possibilidade de associação com procedimentos anti-tumorais antes descritos para aumentar a especificidade no combate ao câncer. Nesse contexto se encaixam as terapias gênicas que têm como conceito a modificação genética de linfócitos T para expressarem os CARs e redirecionar a resposta efetora dessas células contra o tumor (PEREIRA e DE OLIVEIRA, 2019). Nessa abordagem, linfócitos T do paciente são isolados e modificados com transgenes que codificam os CARs que reconhecem aquele tipo de tumor. Os linfócitos T CAR positivos são então expandidos e estimulados *in vitro* para, posteriormente, serem infundidos nos pacientes (DAVILA e BRENTJENS, 2013; PEREIRA e DE OLIVEIRA, 2019).

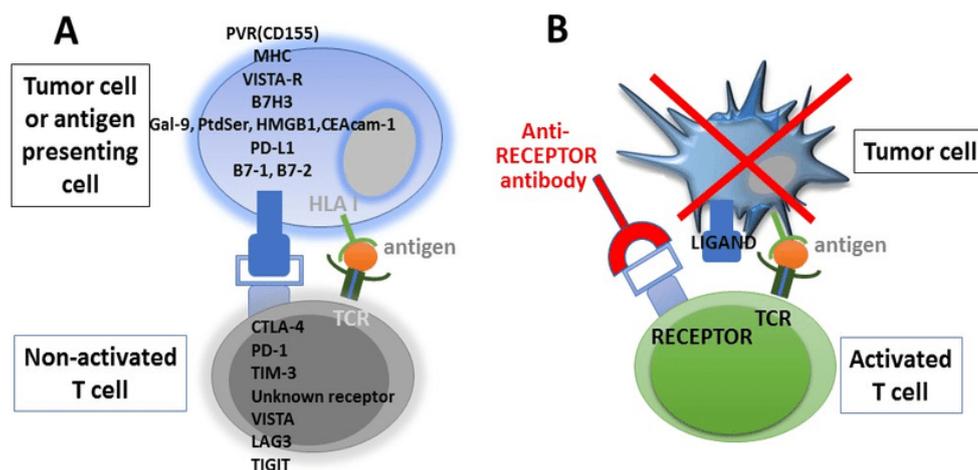


Figura 1. Bloqueio do *checkpoint* imunológico restaura a capacidade dos linfócitos T (específicos para tumores) de matar células tumorais.

Nota: O reconhecimento do complexo de antígeno leucocitário humano (HLA) classe I pelo receptor de células T presente nas células T é necessário para induzir a morte de células tumorais; (A) A interação inibitória receptor/ligante não é bloqueada e a célula tumoral não é morta; (B) o receptor *checkpoint* imunológico é bloqueado por um anticorpo inibitório e a célula T é reativada e, capaz de matar células tumorais.

Fonte: Adaptado de DOLCETTI; DE RE; CANZONIERI, 2018.

A unidade extracelular dos CARs é derivada de anticorpos monoclonais, tendo Fab como unidade de reconhecimento do antígeno e composta pelas regiões de cadeia leve variável, cadeia pesada variável, cadeia leve constante e cadeia pesada constante, sendo as cadeias variáveis as responsáveis pela especificidade ao antígeno. Através de um espaçador flexível que liga a porção extracelular à região transmembrana, o domínio de especificidade ao antígeno pode se ligar a este em diferentes orientações, aumentando a capacidade de reconhecimento. A região transmembrana atravessa a membrana plasmática se unindo à porção intracelular através de sua alfa hélice hidrofóbica. Já o domínio intracelular do CAR corresponde à porção estrutural responsável por sua funcionalidade, a qual desencadeia a cascata de sinalização intracelular de ativação (SHIRASU e KUROKI, 2012).

Antígenos específicos de tumor (TSAs) são raros, de difícil identificação e estão suscetíveis a novas mutações, o que limita muito a sua utilização como alvo de terapias. Portanto, são muito utilizados os antígenos associados ao tumor (TAAs), os quais estão expressos tanto no tecido tumoral quanto no tecido normal. A desvantagem na utilização deste tipo de antígeno como alvo é que, por também estar expresso em células saudáveis, pode desencadear resposta auto-imune (LAINO, 2012; PEREIRA e DE OLIVEIRA, 2019).

Devido à engenharia diversificada com que os CARs podem ser projetados, essa desvantagem pode ser vencida. Um exemplo dessa diversidade é uma estratégia utilizada para aumentar a especificidade contra células B neoplásicas do linfoma não-hodgkin. Nas células desse tipo de linfoma, geralmente estão expressos os antígenos CD19 e CD20, assim como nas células B maduras normais, enquanto nos precursores de células B está expresso somente o CD19 (PEREIRA e DE OLIVEIRA, 2019). Foram então projetados dois CARs, um anti-CD20 acoplado a um domínio citoplasmático responsável pelo primeiro sinal de ativação de linfócitos e outro anti-CD19 acoplado a um endodomínio de sinalização coestimulatório responsável pelo segundo sinal de ativação. Para um linfócito se ativar e desencadear resposta efetora, precisa de ambos os sinais de ativação. Desta forma, a ativação completa de um linfócito que expressa esses dois CARs só ocorre em contato com células alvo duplo-positivas (CD19+ CD20+), protegendo da lise os precursores de células B saudáveis (SADELAIN; BRENTJENS; RIVIERE, 2013; PEREIRA e DE OLIVEIRA, 2019).

As possibilidades de arquitetura de estratégias com essa terapia despertou grande interesse entre os pesquisadores e

hoje mais de quarenta antígenos diferentes já foram alvos de CARs para o tratamento de malignidades como: cânceres epiteliais, câncer de ovário, carcinoma de células renais, linfoma folicular, linfoma folicular refratário, linfoma de células do manto, leucemia linfóide aguda, leucemia linfóide crônica, leucemia mieloide aguda, adenocarcinoma pancreático, linfoma hodgkin e não-hodgkin, carcinoma cervical, câncer colorretal, glioblastoma, câncer de mama, câncer de próstata, melanoma, neuroblastoma, mieloma múltiplo, entre outros (SADELAIN; BRENTJENS; RIVIERE, 2013).

O grande êxito nos modelos *in vitro* e *in vivo* deu origem a diversos testes clínicos com CARs (ESTADOS UNIDOS, 2015). Entre eles, destacam-se os referentes às malignidades hematológicas, como o de um grupo que testou em 5 pacientes com leucemia linfóide aguda de precursores B refratária, a infusão de linfócitos T com CARs com especificidade para o antígeno CD19, expresso em linfócitos B imaturos; a resposta dos pacientes à terapia foi surpreendente, pois todos os cinco progrediram para remissão completa (BRENTJENS, 2013). Esses resultados foram consistentes com os de um outro estudo em que 6 de 8 pacientes com malignidades de células B tiveram remissão completa após infusão de linfócitos T expressando CAR anti-CD19 (KOECHENDERFER, 2012).

Para o tratamento de neuroblastoma, pesquisadores geraram CARs anti-GD2, antígeno expresso em células tumorais desse câncer. Dezenove pacientes de risco (11 em remissão e 8 com doença ativa) foram tratados com linfócitos expressando esses CARs. Três dos oito pacientes com a doença ativa atingiram remissão completa. Apesar de os outros pacientes não progredirem para remissão, foi observado melhora clínica nestes. Linfócitos CAR-positivos persistiram por longo período (aproximadamente 192 semanas) nesses pacientes e, embora em baixos níveis, esses dados sugerem que a permanência dos CARs esteja intimamente relacionada com a melhora clínica dos pacientes (LOUIS, 2011).

Como pode ser visto, a eficácia dos CARs no tratamento de tumores sólidos é menor comparada ao tratamento de tumores hematológicos. Entretanto, o impasse com os tumores sólidos não diminuiu o interesse dos pesquisadores pelos CARs. Atualmente já foram registrados 81 ensaios clínicos para tumores sólidos e não-sólidos, dos quais 67 estão em andamento. A quantidade de estudos e a variedade de neoplasias que pretendem tratar são o suficiente para enfatizar o atual

progresso da terapia gênica com CARs no tratamento do câncer (ESTADOS UNIDOS, 2015).

6 Considerações finais

A terapia gênica com CARs, em particular, é talvez a estratégia imunoterapêutica mais promissora. Por sua versatilidade de manipulação e eficácia demonstrada clinicamente no tratamento de malignidades hematológicas, os receptores quiméricos estão despertando o interesse de inúmeros cientistas.

Os ensaios clínicos apresentados exibem um desafio maior no uso dos CARs para a erradicação de tumores sólidos

7 Referências

ALBERTS, B. *Biologia Molecular da Célula*. 5ª ed. Porto Alegre: Artmed, 2010.

BAPTISTA, A.C.F. **Vacinas anti-tumorais baseadas em células dendríticas no cancro da próstata**. Dissertação de Mestrado, 2018.
BONASSA, E.M.A. Conceitos gerais em quimioterapia antineoplásica. In: Bonassa EMA, Santana TR. **Enfermagem em terapêutica oncológica**. São Paulo: Atheneu, p. 3-19, 2005.

BRASIL. **Manual de Bases Técnicas da Oncologia–SIA/SUS Sistema de Informações Ambulatoriais**. Brasília: MS. SAS/DRAC/CGSI, 2014. [Acesso em 2015 Out 12].

BRENTJENS R. CD19-targeted T cells rapidly induce molecular remissions in adults with chemotherapy-refractory acute lymphoblastic leukemia. *Sci Transl Med*, v. 5, n. 177, 2013.

BRUSSEL, I.V.; BERNEMAN, Z.N.; COOLS, N. Optimizing dendritic cell-based immunotherapy: tackling the complexity of different arms of the immune system. *Mediat Inflamm*, p. 1-14, 2012.

CALLAHAN, M.K.; WOLCHOK, J.D.; ALLISON, J.P. Anti-CTLA-4 antibody therapy: immune monitoring during clinical development of a novel immunotherapy. *Semin Oncol*, v. 37, n. 5, p. 473–484, 2010.

CAMPOS, J. A. D. B. S.; SILVA, W. R.; SPEXOTO, M. C. B.; SERRANO, S. V.; MARÔCO, J. Características clínicas, dietéticas e demográficas que interferem na qualidade de vida de pacientes com câncer. *Einstein (São Paulo)*, v. 16, n. 4, eAO4368, 2018.

CARVALHO, P.G.; O'DWER, G.; RODRIGUES, N. C. P. Trajetórias assistenciais de mulheres entre diagnóstico e início de tratamento do câncer de colo uterino. *Saúde em Debate*, v. 42, p. 687-701, 2018.

em comparação com as malignidades hematológicas. Entretanto, vários testes clínicos com CARs gerados para antígenos de tumores sólidos estão em andamento, sugerindo que apesar dos obstáculos esses pesquisadores têm obtido progresso em seus modelos pré-clínicos. Além disso, outras estratégias como os TILs e a utilização de moléculas inibitórias como CTLA-4 têm se mostrado efetivas para neoplasias sólidas. Em conjunto, esses dados demonstram as vantagens da imunoterapia em relação ao tratamento usual e comprovam ser esta uma modalidade terapêutica promissora.

CHANG, M.H. Decreased incidence of hepatocellular carcinoma in hepatitis B vaccines: a 20-year follow-up study. *J Natl Cancer I*. v.101, 2009.

CORREIA, R.A.; BONFIM, C. V.; FERREIRA, D. K. S.; FURTADO, B. M. A. S. M.; COSTA, H. V. V.; FEITOSA, K. M. A.; SANTOS, S. L. Quality of life after treatment for cervical cancer. *Escola Anna Nery*, v. 22, n. 4, 2018.

DAVILA, M.L.; BRENTJENS, R. CAR therapy for CLL: what are the challenges? *Hematol Oncol Clin*, v. 27, n. 2, p. 341–353, 2013.

DOLCETTI, R.; DE RE, V.; CANZONIERI, V. Immunotherapy for Gastric Cancer: Time for a Personalized Approach? *Int J Mol Sci*, v. 19, n. 6, p. 1602, 2018.

EISENSTEIN, M. Know your enemy. *Nature*. v. 471, p. S8-S9, 2011.
ELTZSCHIG, K.R.; CARMELIET, P. Hypoxia and inflammation. *N Engl J Med*. v. 364, n. 7, p. 656–65, 2011.

ESTADOS UNIDOS. Clinical trials [base de dados na internet]. **National Institutes of Health**. [acesso em 2015 Out 04]. Disponível em: <https://clinicaltrials.gov>.

FERREIRA, A.C.N. **Desafios da Imunoterapia no Tratamento do Adenocarcinoma Pulmonar**. Dissertação de Mestrado, 2018.

GOLDSBY, R.A.; KINDT, T.J.; OSBORNE, B.A. **Kuby Immunology**. 6ª Ed. New York: W. H. Freeman and Company, p. 38-40, 2007.

GRILLO-LOPEZ, A.J. Rituximab (Rituxan/MabThera): the first decade (1993-2003). *Expert Rev Anticancer Ther*, v. 3, p.767-779, 2003.

HANAHAN, D.; WEIMBERG, R.A. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell*, v. 144, p. 646-674, 2011.

- HARRIS, M. Monoclonal antibodies as therapeutic agents for cancer. **Lancet Oncol**, v. 5, p. 292-302, 2004.
- HOMBACH-KLONISCH, F. Mechanisms of therapeutic resistance in cancer (stem) cells with emphasis on thyroid cancer cells. **Frontiers in Endocrinology**, v. 5, n. 34, 2014.
- HOMEY, B.; MÜLLER, A.; ZLOTNIK, A. Chemokines - agents for the immunotherapy of cancer? **Nat Rev Immunol**, v. 2, n. 3, p. 175-184, 2002.
- HOSSAIN, D. M. Leukemia cell-targeted STAT3 silencing and TLR9 triggering generate systemic antitumor immunity. **Blood**, v. 123, p. 15-25, 2014.
- KALOS, M.; JUNE, C. H. Adoptive T cell Transfer for Cancer Immunotherapy in the Era of Synthetic Biology. **Immunity**, v.39, n.1, 2013.
- KAWAI, K. Bacillus calmette-guerin (BCG) immunotherapy for bladder cancer: current understanding and perspectives on engineered BCG vaccine. **Cancer Sci**, v. 104, n. 1, p. 22-27, 2013.
- KIRKWOOD, J. M. Immunotherapy of cancer in 2012. **Cancer J Clin**, v. 62, n. 5, p. 309-35, 2012.
- KOECHENDERFER, J. N. B-cell depletion and remissions of malignancy along with cytokine-associated toxicity in a clinical trial of anti-CD19 chimeric-antigen-receptor-transduced T cells. v. 119, n. 12, p. 2709-2720, 2012.
- KOIDO, S. Current immunotherapeutic approaches in pancreatic cancer. **Clin Dev Immunol**, v. 2011, p. 1-15, 2011.
- LAINO, A. S. C. **Estudo de um sistema de ativação condicional de linfócitos T modificados com receptores quiméricos de antígenos.** Dissertação de mestrado. Rio de Janeiro: Instituto Nacional do Câncer, 2012.
- LEE, S.; MARGOLIN, K. Tumor-infiltrating lymphocytes in melanoma. **Curr Oncol Rep**, v. 14, n. 5, p. 468-474, 2012.
- LI, Z. L. Expression of Smac induced by the Egr1 promoter enhances the radiosensitivity of breast cancer cells. **Cancer Gene Therapy**, v.21, p. 142-149, 2014.
- LIMA, B.C.; SILVA, L. F.; GÓES, F. G. B., RIBEIRO, M. T. S.; ALVES, L. L. O itinerário terapêutico de famílias de crianças com câncer: dificuldades encontradas neste percurso. **Revista Gaúcha de Enfermagem**, v. 39, 2018.
- LOUIS, C.U. Antitumor activity and long-term fate of chimeric antigen receptor-positive T cells in patients with neuroblastoma. **Blood**, v. 118, n. 23, p. 6050-6056, 2011.
- LUÍS, F.S.B. Transplante de medula óssea em pediatria e transplante de cordão. Simpósio: **Transplante de medula óssea.** Ribeirão Preto, 2000.
- MARQUES, A. C. B.; SZCZEPANIK, A. P.; MACHADO, C. A. M.; SANTOS, P. N. D.; GUIMARÃES, P. R. B.; KALINKE, L. P. Transplante de células-tronco hematopoiéticas e qualidade de vida durante o primeiro ano de tratamento. **Rev. Latino-Am. Enfermagem**, v. 26, p. e3065, 2018.
- MENDONÇA, J.M.C. **Terapia fotodinâmica no tratamento de neoplasias.** Tese de Doutorado, 2016.
- MORETI, F.; MORASCO-GERALDINI, B.; CLAUDINO-LOPES, S. A.; CARRARA-DE ANGELIS, E. Sinais, sintomas e função vocal em indivíduos com disfagia tratados de câncer de cabeça e pescoço. **Audiol., Commun. res**, v. 23, p. e1873-e1873, 2018.
- MURAD, A.M.; KATZ, A. Oncologia - bases clínicas do tratamento. Rio de Janeiro: **Guanabara**, 1996.
- NARDI, N.B.; TEIXEIRA, L.A.K.; SILVA, E.F.A. Terapia gênica. **Ciências & Saúde Coletiva**, v.7, n. 1, p. 109-116, 2002.
- OLIVEIRA, D.F.L.F. **Imunoterapia ativa para o cancro da mama: potenciais estratégias terapêuticas.** Dissertação de Mestrado, 2018.
- PEREIRA, V.C.; DE OLIVEIRA, P.A.F. Definição das terapias celulares com receptores de antígenos quiméricos (CAR), receptores de células t (TCR) e linfócitos infiltrantes de tumor (TIL). Perspectivas futuras para a cura do câncer/Definition of cellular therapies with receptors of chemical antigens (CAR), t-cell receptors (TCR), and infiltrant tumor lymphocytes (TIL). Future perspectives for the cure of cancer. **Brazilian Journal of Health Review**, v. 2, n. 2, p. 1105-1124, 2019.
- QUISPE, R.A.; CREMONESI, A. L.; GONÇALVES, J. K.; RUBIRA, C. M. F.; SANTOS, P. S. S. Estudo caso-controle de índices de doenças bucais em indivíduos com câncer de cabeça e pescoço após terapia antineoplásica. **Einstein (São Paulo)**, v. 16, n. 3, e1873, 2018.
- REBOUÇAS, A.S. **Estudo da interação do scFv do anticorpo Rituximab com a alça do receptor CD20: avaliação da energia livre de ligação pelo método ABF para proposição de biobetters.** Tese de Doutorado, 2018.

ROSS, J.; GRAY, K.; SCHENKEIN, D.; GREENE, B.; GRAY, G.S.; SHULOK, J. Antibody-based therapeutics in oncology. **Expert Rev Anticancer Ther**, v. 3, p. 107-121, 2003.

SALATA, T.M.; Ribeiro, B. N. F.; Muniz, B. C.; Antunes, L. O.; Rosas, H. B.; Marchiori, E. Distúrbios da audição-achados na tomografia computadorizada e ressonância magnética: ensaio iconográfico. **Radiologia Brasileira**, v. 52, n. 1, p. 54-59; 2019.

SADELAIN, M.; BRENTJENS, R.; RIVIERE, I. The basic principles of chimeric antigen receptor (CAR) design. **Cancer Discov**, v. 3, n. 4, p. 388-398, 2013.

SEITENFUS, R.; KALIL, A. N.; DE-BARROS, E. D.; FEDRIZZI, G. Quimioterapia Aerossolizada e Pressurizada Intraperitoneal (PIPAC) por monoportal: aplicação alternativa no controle das metástases peritoneais. **Rev Col Bras Cir**, v. 45, n. 4, p. e1909-e1909, 2018.

SHARMA, P. Novel cancer immunotherapy agents with survival benefit: recent successes and next steps. **Nat Rev Cancer**, v. 11, n. 11, p. 805-812, 2012.

SHARMA, S.; STOLINA, M.; LUO, J. Secondary lymphoid tissue chemokine mediates T cell dependent antitumor responses in vivo. **J Immunol**, v. 164, p. 4558-4563, 2000.

SHIRASU, N.; KUROKI, M. Functional design of chimeric T-cell antigen receptors for adoptive immunotherapy of cancer: architecture and outcomes. **Anticancer Res**, v. 32, n. 6, p.2377-2383, 2012.

SILVA, G.G. **Carcinoma hepatocelular: evolução da terapêutica e perspectivas futuras**. Tese de Doutorado, 2017.

SIMMANG, C.L.; SENATORE, P.; LOWRY, A. Practice parameters for detection of colorectal neoplasms - the standards committee, the american society of colon and rectal surgeons. **Dis Colon Rectum**, v. 42, p. 1123-1129, 1999.

TODOROVA, K.; IGNATOVA, I.; TCHAKAROV, S.; ALTANKOVA, I.; ZOUBAK, S.; KYURKCHIEV, S.; MINCHEFF, M. Humoral immune response in prostate cancer patients after immunization with gene-based vaccines that encode for a protein that is proteasomally degraded. **Cancer Immun**, v. 11, p. 1-8, 2005.

UNTURA, L.P.; REZENDE, L.F. A função cognitiva em pacientes submetidos à quimioterapia: uma revisão integrativa. **Rev Bras de Cancer**, v. 58, n. 2, p. 257-265, 2012.

VIDAL, T.J.; FIGUEIREDO, T.A.; PEPE, V.L.E. O mercado brasileiro de anticorpos monoclonais utilizados para o tratamento de câncer. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 34, p. e00010918, 2018.

VOSE, J.M. Bexxar: novel radioimmunotherapy for the treatment of low-grade and transformed low-grade non-Hodgkin's lymphoma. **Oncologist**, v. 9, p.160-172, 2004.