

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO – GRADUAÇÃO EM BIOMEDICINA

Imunoterapia celular: analisando as diferenças entre CAR-T e CAR-NK

Ana Carolina Mayrink Pinto Lopes¹

Kelly Cristina Rodrigues Simi²

RESUMO

Os tratamentos tradicionais contra o câncer, como a quimioterapia e a radioterapia, ainda são amplamente utilizados, mas envolvem métodos agressivos que podem causar sérios efeitos colaterais. Com o avanço da imunoterapia, novas abordagens como a Terapia Celular Adotiva (TCA), que utiliza células do sistema imunológico modificadas geneticamente, emergiram como alternativas promissoras. Dentre essas, destacam-se as CAR-T, que usam linfócitos T para atacar células tumorais, e as CAR-NK, que utilizam as células *natural killers*. Ambas têm mostrado potencial significativo, mas ainda enfrentam limitações como efeitos adversos e dificuldades em alcançar tumores sólidos. A CAR-NK surge como uma alternativa promissora, com um perfil de toxicidade reduzido e a capacidade de contornar alguns mecanismos de evasão imunológica dos tumores. Embora as CAR-NK apresentem desafios, como baixa persistência e dificuldades em tumores sólidos, sua abordagem é vista como uma melhoria em relação às CAR-T, com menor risco de efeitos adversos graves. O objetivo deste trabalho foi realizar uma revisão sobre as terapias CAR-T e CAR-NK, com foco nas diferenças e no potencial da CAR-NK para o tratamento do câncer. A pesquisa envolveu uma revisão narrativa de literatura. Concluiu que a terapia CAR-NK, apesar das limitações, tem grande potencial para o tratamento do câncer, sendo necessária mais pesquisas para otimizar sua eficácia e persistência.

Palavras chave: Imunoterapia, CAR-T, CAR-NK.

ABSTRACT

Traditional cancer treatments, such as chemotherapy and radiotherapy, are still widely used but involve aggressive methods that can cause serious side effects. With the advancement of immunotherapy, new approaches like Adoptive Cell Therapy (ACT), which uses genetically modified immune system cells, have emerged as promising alternatives. Among these, CAR-T therapies, which use T lymphocytes to target tumor cells, and CAR-NK therapies, which use natural killer (NK) cells, stand out. Both have shown significant potential but still face limitations such as adverse effects and difficulties in targeting solid tumors. CAR-NK emerges as a promising alternative, with a reduced toxicity profile and the ability to circumvent some of the immune evasion mechanisms of tumors. Although CAR-NK presents challenges, such as low persistence and difficulties in solid tumors, its approach is seen as an improvement over CAR-T, with a lower risk of severe side effects. The objective of this work was to conduct a review of CAR-T and CAR-NK therapies, focusing on the differences and the potential of CAR-NK for cancer treatment. The research involved a narrative literature review. The conclusion was that CAR-NK therapy, despite its limitations, holds great potential for cancer

¹Graduanda do Curso de Biomedicina do Centro Universitário de Brasília – CEUB.

² Professora do Centro Universitário de Brasília – CEUB.

treatment, with further research needed to optimize its effectiveness and persistence.

Keywords: Immunotherapy, CAR-T, CAR-NK.

1 INTRODUÇÃO

Por muitos anos, os tratamentos contra o câncer consistiam principalmente em cirurgias, quimioterapia e radioterapia, métodos que ainda são empregados atualmente. Contudo, resultam em efeitos colaterais que comprometem a qualidade de vida dos pacientes. Com o avanço da ciência e da tecnologia, terapias oncológicas mais específicas e menos tóxicas foram desenvolvidas, como a imunoterapia, que utiliza células do próprio sistema imunológico do paciente para reconhecer e atacar as células tumorais (ABKEN, 2021; MAALEJ et al, 2023; MILANO, 2022).

No Brasil, estima-se 704 mil casos de câncer por ano entre 2023 e 2025, com maior incidência dos tumores de pele não melanoma (31,3%), de mama (10,5%), próstata (10,2%), cólon e reto (6,5%), pulmão (4,6%) e estômago (3,1%). Em resposta a essa elevada carga de casos, a Fiocruz (Fundação Oswaldo Cruz) em parceria com o Instituto Nacional de Câncer (Inca) pretende desenvolver e incorporar novas terapias no Sistema Único de Saúde (SUS), como a imunoterapia. Os tratamentos que se destacam são os da Terapia Celular Adotiva (TCA) que consistem em usar as células imunológicas do paciente e modificá-las geneticamente para atacar as células tumorais (BRASIL, 2022; VALVERDE, 2023).

A TCA é uma das principais modalidades da imunoterapia, destacando-se o uso de células do próprio paciente com o CAR (Receptor Quimérico de Antígeno, do inglês *chimeric antigen receptor*) que reconhece os antígenos das células neoplásicas, e otimizam a capacidade de destruição das células em que está inserido. Esse receptor foi criado a partir de diferentes componentes, por isso o termo "quimérico". Apresenta propriedades imunológicas potentes e a especificidade de um anticorpo monoclonal direcionado para células neoplásicas. Pacientes que já passaram por esse tratamento apresentam memória antitumoral de longo prazo (GONÇALVES, 2022; STYCZYNSKI, 2020).

Essa terapia se provou muito eficaz contra cânceres hematológicos e, por isso, em 2017 a *Food and Drug Administration* (FDA) nos Estados Unidos aprovou o uso dessa imunoterapia em pacientes com Leucemia Linfoblástica Aguda (LLA). Em 2019 no Brasil, o uso experimental da terapia foi realizada no Centro de Terapia Celular do Hemocentro de Ribeirão Preto em pacientes com leucemias e linfomas que não respondiam mais a outros tratamentos (MILANO, 2022; OLIVEIRA, 2023).

O CAR foi criado e utilizado, principalmente nos linfócitos T contras tumores hematológicos e sólidos. Contudo, está associado a vários efeitos adversos, sendo estes, síndrome de liberação de citocinas (SLC), doença do enxerto contra o hospedeiro, síndrome de lise tumoral, edema cerebral agudo, síndrome neurológica associada às células efetoras imunes (ICANS), entre outros. Por isso, há um interesse crescente em explorar outras células imunológicas, como as *natural killers* (NKs), que possam ser modificadas com CARs para serem usadas na imunoterapia. As CAR-NK possuem uma vida útil mais curta e um perfil de secreção de citocinas mais limitado, tornando-as um substituto potente para as CAR-T. Além disso, as CAR-NK podem apresentar a capacidade de contornar os mecanismos de invasão imunológicas do tumor, como a regulação negativa (*downregulation*) do antígeno leucocitário humano (HLA) e o processamento antigênico proteossomal. Adicionalmente,

essas células apresentam controle de ativação ou desativação em casos de toxicidade severa (ELAHI et al, 2021; GONÇALVES, 2022; MAALEJ et al, 2023).

Visando o avanço dos tratamentos do câncer, as terapias CAR-T e CAR-NK consistem em potencializar a resposta imunológica e eliminar as células neoplásicas por meio da modificação genética das células T ou das *natural killers* (NIZOLLI, 2024). Dentro deste contexto, o objetivo deste trabalho foi realizar uma revisão narrativa da literatura trazendo o desenvolvimento da CAR-NK e suas diferenças da CAR-T.

2 MÉTODO

O presente estudo foi conduzido por meio de uma revisão narrativa da literatura, utilizando como base diversas plataformas de pesquisa científica, incluindo Elsevier, Google Acadêmico, Springer Nature Link e Nature. Para a seleção dos artigos, foram empregadas as palavras-chave "imunoterapia", "CAR-T" e "CAR-NK". Os critérios de inclusão abrangeram publicações científicas em português e inglês, datadas entre 2020 e 2024. As ferramentas Miro e Biorender foram utilizadas para a elaboração das ilustrações, enquanto o quadro de ensaios clínicos foi gerado a partir de dados disponíveis na plataforma Clinicaltrials.gov.

3 DESENVOLVIMENTO

3.1 História das células CAR

A partir de 1980, cientistas começaram a desenvolver métodos para modificar células do sistema imune para atacar células neoplásicas. Em 1989, os imunologistas Zelig Eshhar e Gideon Cross no departamento de imunologia no *Weizmann Institute of Science* em Israel, desenvolveram os linfócitos T com a capacidade de expressar o Receptor Quimérico de Antígeno (CAR). Essa inovação possibilitou a identificação e ligação desses linfócitos às células tumorais, além de promover o recrutamento de mais CAR-T para a destruição dessas células (OLIVEIRA, 2023; STYCZYNSKI, 2020; WANG et al, 2023).

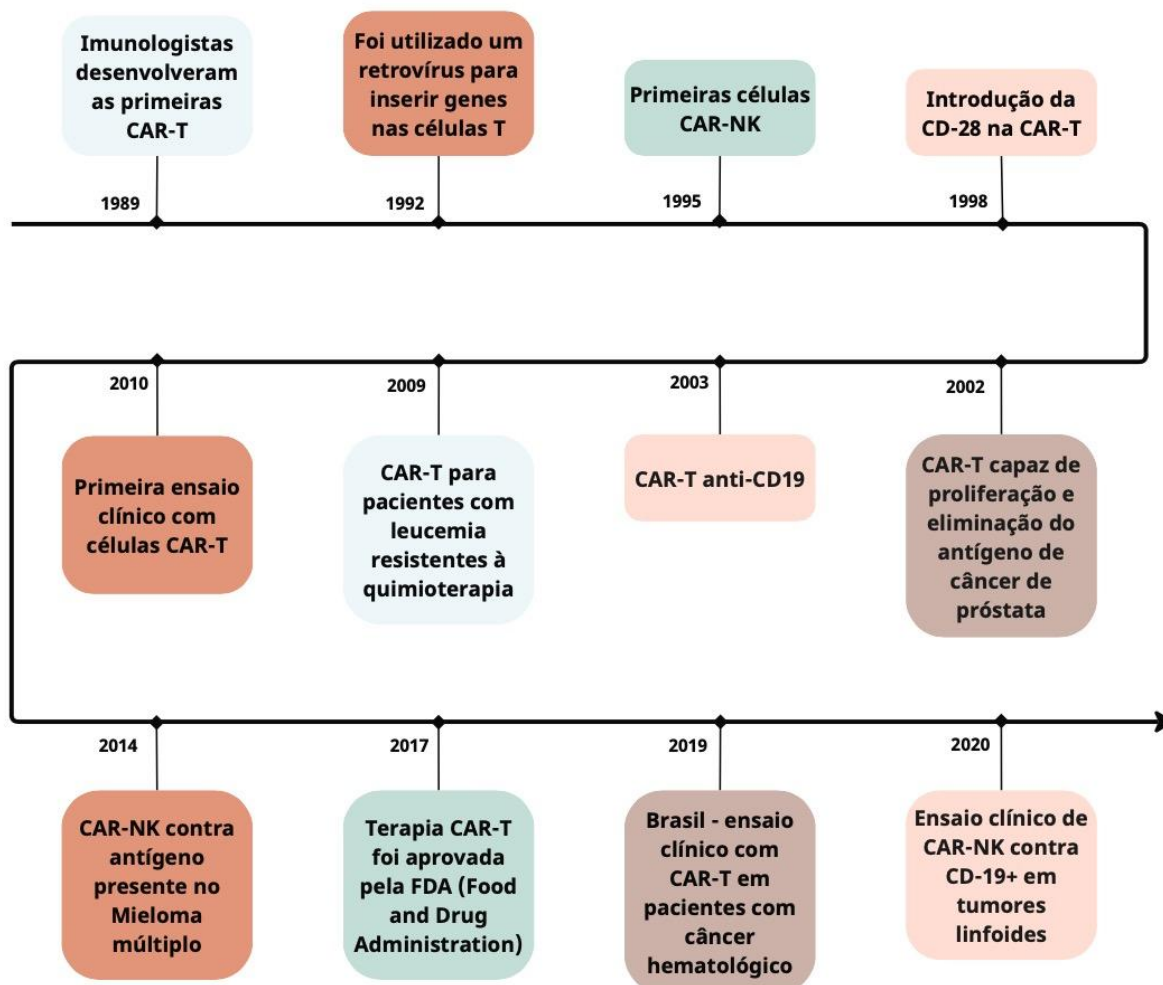
Três anos depois, em 1992, o imunologista do Instituto de Tecnologia de Massachusetts (MIT), Michel Sadelain, junto com a sua equipe, utilizou retrovírus para inserir genes nas células T, com o objetivo de atacar antígenos específicos de tumores. Já em 1998, esses mesmos pesquisadores, utilizaram uma molécula co-estimuladora, a CD28 para que as CAR-T ficassem ativas no organismo. Depois disso, em 2002, cientistas do *Memorial Sloan Kettering Cancer Center* (MSK), em Nova York, criaram as primeiras CAR-T capazes de se proliferar e atacar um antígeno específico do câncer de próstata. Em 2003, os cientistas do MIT introduziram uma molécula co-estimuladora nas células CAR-T, resultando na observação da capacidade de destruir células neoplásicas CD19+ em camundongos com leucemia. Seis anos depois, essa mesma equipe conseguiu fabricar essas células para o tratamento de pacientes com leucemias resistentes à quimioterapia. Um ano depois, na Faculdade de Medicina da Universidade da Pensilvânia, o primeiro ensaio clínico com células CAR-T foi realizado em dois voluntários com leucemia linfoblástica crônica em estágio terminal, que alcançaram a remissão completa (OLIVEIRA, 2023).

A terapia com CAR-T foi aprovada em 2017, pela *Food and Drug Administration* (FDA) dos Estados Unidos. Em 2019, no Brasil, foi utilizado de forma experimental em pacientes com câncer hematológico no Centro de Terapia Celular do Hemocentro de Ribeirão Preto. Já em 2022, a terapia se expandiu pelo Instituto Butantan com o objetivo de ser disponibilizada

no Sistema Único de Saúde (SUS) (TANAKA, 2023).

As primeiras células CAR-NK foram desenvolvidas em 1995 com a mesma estrutura da CAR-T. Posteriormente, em 2014, pesquisadores utilizaram células NK de camundongos geneticamente modificados com CAR, contra antígeno presente no mieloma múltiplo. Quatro anos depois, o primeiro ensaio clínico foi realizado. E em 2020, o ensaio clínico de CAR-NK contra CD19 + em tumores linfoides foi um sucesso. Atualmente, existem vários ensaios clínicos sendo realizados com CAR-NK contra tumores (Figura 1) (RAFTERY, 2023).

Figura 1: Linha do tempo das células CAR



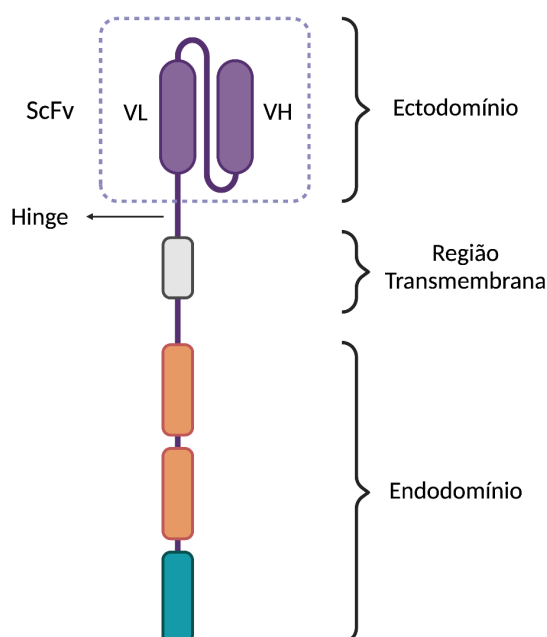
Fonte: Adaptado de OLIVEIRA, 2023; RAFTERY, 2023; STYCZYNSKI, 2020; TANAKA, 2023; WANG et al, 2023.

3.2 Estrutura básica da CAR

A estrutura básica da CAR possui três regiões responsáveis por funções específicas no tratamento, sendo eles o domínio extracelular (ectodomínio), a transmembrana e o intracelular (endodomínio), capazes de reprogramar o ataque citolítico da célula. A região extracelular é formada por um fragmento variável da cadeia única (ScFv, do inglês *single-chain fragment variant*) de um anticorpo monoclonal, que inclui a cadeia leve (VL) e cadeia pesada (VH), sendo responsável pela especificidade da CAR, e pelo reconhecimento

das células tumorais. O ectodomínio está conectado a uma alça (hinge) que conecta a região extracelular com as outras duas regiões, mantendo-as estáveis e possibilitando um melhor acesso ao antígeno alvo. O tamanho da alça é determinado pela localização dos antígenos alvo, isto é, a alça comprida é usada para antígeno mais próximos da membrana celular, e uma alça mais curta para antígenos na superfície celular. A transmembrana está localizada na membrana celular e transmite os sinais de ativação para o endodomínio. A região intracelular é a parte que controla a ativação, proliferação e sobrevivência da célula, como também moléculas co estimulatórias com função citotóxica (Figura 2) (GONG et al, 2021; KESHAVERZ et al, 2022; PAN et al, 2021; TANAKA, 2023).

Figura 2: Estrutura básica do CAR.



Região do Ectodomínio é composta por um fragmento variável da cadeia única (ScFv, do inglês *single-chain fragment variant*) de um anticorpo monoclonal, responsável pela especificidade e reconhecimento do antígeno. A região transmembrana é responsável por transmitir sinais de ativação para o endodomínio. Já o endodomínio, é composto por moléculas com função citotóxica que são responsáveis por controlar a ativação, proliferação e a sobrevivência da célula.

Fonte: Adaptado de KESHAVERZ, 2022; TANAKA, 2023.

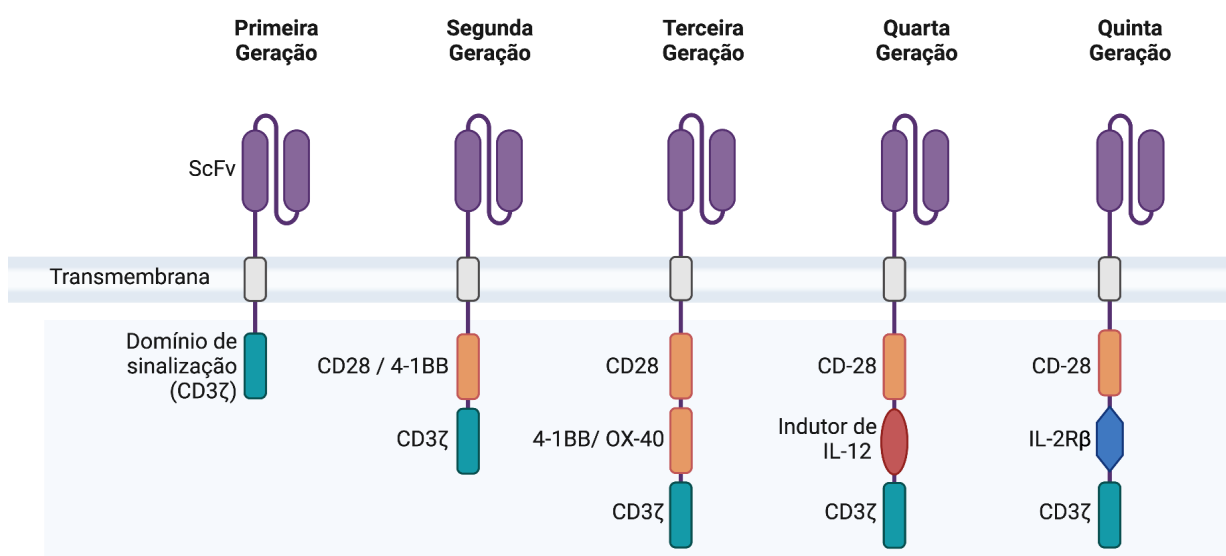
3.3 Gerações da CAR-T e CAR-NK

Atualmente, existem cinco gerações de células CAR-T e quatro de células CAR-NK que se diferenciam entre si pelo domínio de sinalização intracelular que ativa a resposta leucocitária. Na primeira geração, ambas as CARs possuem somente o CD3 zeta como domínio de sinalização, porém, essa geração não produz citocinas suficientes para eliminar células tumorais e não apresenta capacidade proliferativa a longo prazo. Por isso, na segunda geração uma molécula co-estimulatória como CD28 ou 4-1BB foi introduzida para proporcionar a sobrevivência e o potencial citotóxico. A terceira geração apresenta duas moléculas, a CD28 (molécula co-estimulatória) e 4-1BB/OX40 (receptor do fator de necrose tumoral, do inglês *tumor necrosis factor receptor*, TNFR) para CAR-T (figura 3) e CD28 e DAP10/DAP12/2B4 (moléculas de sinalização da ativação leucocitária) para CAR-NK, que

aumentam a produção de citocinas, a proliferação celular e a habilidade antitumoral (GONG et al, 2021; MAROFI et al, 2021; MEHRABADI et al, 2022; NASCIMENTO, 2023; SILVESTRE, 2022).

A quarta geração foi desenvolvida utilizando uma citocina imunoestimuladora, a interleucina 12 (IL-12) para CAR-T e interleucina 2 ou 15 (IL-2 ou IL-15) para CAR-NK, que é expressa após a ativação, promovendo a produção, proliferação e longevidade da citocina desejada para a eliminação de células neoplásicas. Por fim, a quinta geração de CAR-T possui o receptor beta da interleucina-2 com um sítio de ligação para o fator de transcrição STAT3/5 (figura 3). Portanto, mantém essas células vivas, ativa a produção de citocinas, promove a geração de células T de memória, e também reativa e estimula o sistema imunológico (MAROFI et al, 2021; MEHRABADI et al, 2022; NASCIMENTO, 2023).

Figura 3: Gerações do CAR.



Fonte: Adaptado de MAROFI et al, 2021; MEHRABADI et al, 2022; NASCIMENTO, 2023; SILVESTRE, 2022.

3.4 Limitações da CAR-T

A terapia com células CAR-T apresenta diversas limitações, que afetam sua eficácia, especialmente em tumores sólidos. Uma das mais desafiadoras é o escape imunológico, que ocorre devido à resistência das células tumorais. As células neoplásicas desenvolvem mecanismos de resistência, sendo capazes de perder ou parar de expressar o antígeno alvo da CAR-T, ou também produzir outro antígeno que a CAR-T não é capaz de reconhecer (figura 4-A). Cerca de 70% a 90% dos pacientes que fazem terapia com CAR-T anti-CD19 apresentam esse fenômeno. Além disso, o efeito "*on target off tumor*" em tumores sólidos representa outra limitação importante. Nesse caso, as células CAR-T podem atacar células normais que expressam o mesmo antígeno das células tumorais, resultando em danos aos tecidos saudáveis e efeitos tóxicos (figura 4 - B) (KESHAVARZ et al, 2022; STERNER, 2021; TANAKA, 2023).

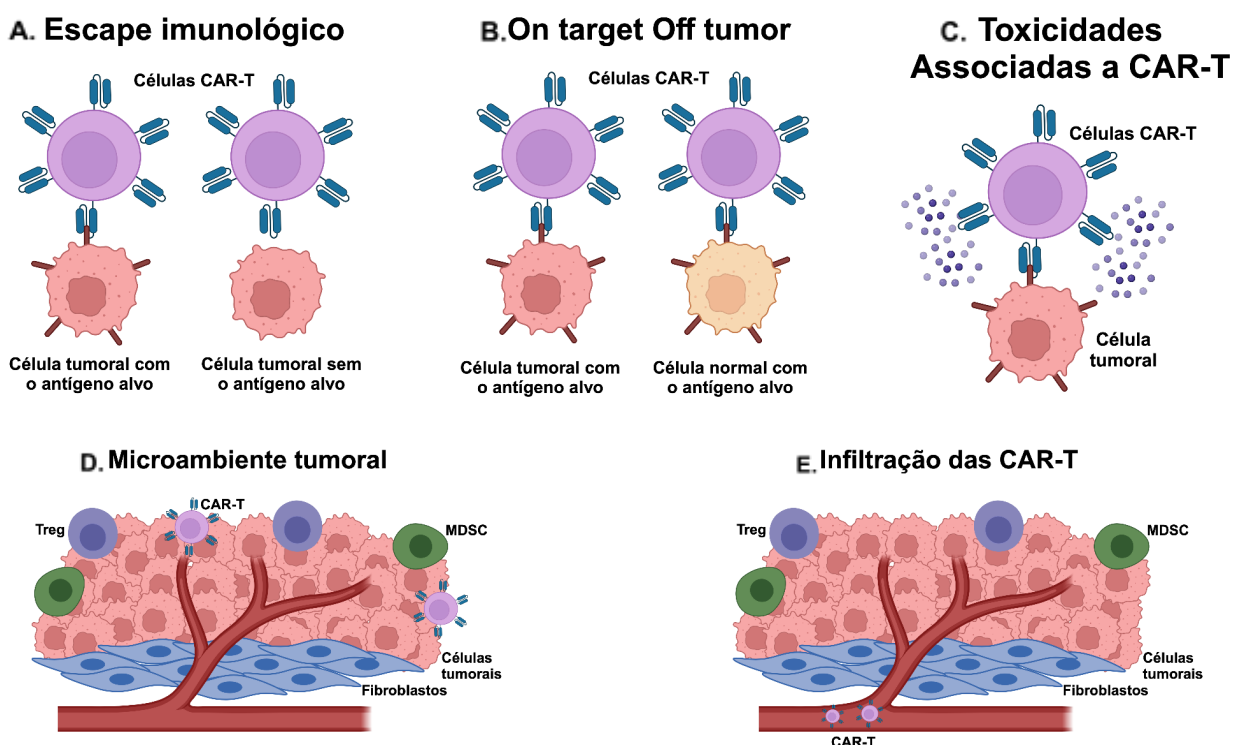
Outro desafio significativo é a toxicidade associada à terapia CAR-T, caracterizada pela liberação excessiva de citocinas inflamatórias (figura 4 - C, o que pode levar à Síndrome de Liberação de Citocinas (SLC) e neurotoxicidades. Durante esse processo, há um aumento nos

níveis de fatores como TNF-alfa, PCR (proteína C reativa), IL-6, IL-8, entre outros. A SLC é o efeito adverso mais comum observado em pacientes que recebem a terapia CAR-T e pode causar uma série de manifestações clínicas, incluindo febre, hipotensão, confusão mental, convulsões, anorexia, hipóxia e até óbito, caso não seja tratada adequadamente. Além disso, há a síndrome neurológica associada às células efetoras imunes (ICANS, do inglês *Immune Effector Cell Associated Neurotoxicity*), que é caracterizada pelo aumento de citocinas no líquido, resultando em sintomas como afasia, convulsões e cefaleia (KESHAVARZ et al., 2022; OLIVEIRA, 2023; PAN et al., 2022).

O microambiente tumoral nos tumores sólidos também representa uma barreira significativa. É caracterizado pela infiltração de células imunossupressoras, como as células mieloderivadas supressoras (MDSCs), células T reguladoras (Treg) e macrófagos associados ao tumor (TAMs) (figura 4 - D). Esses elementos do microambiente secretam citocinas, quimiocinas e fatores de crescimento que favorecem o crescimento das células tumorais e dificultam a ação das células CAR-T. Isso diminui a capacidade antitumoral, e alguns cientistas acreditam que é devido a baixa expansão e persistência das células CAR-T (STERNER, 2021; TANAKA, 2023).

A infiltração das células CAR-T no local do tumor é particularmente difícil em tumores sólidos. As células CAR-T, por não expressarem moléculas de adesão suficientes, têm dificuldade para atravessar os vasos sanguíneos e alcançar as áreas tumorais. A desregulação na secreção de citocinas pelas células neoplásicas resulta em uma baixa expressão de receptores de quimiocinas nas células CAR-T, o que também dificulta sua migração para o local do tumor. Adicionalmente, a presença de uma matriz extracelular fibrosa espessa nos tumores sólidos limita a capacidade de invasão das células CAR-T (figura 4 - E), prejudicando a eficácia da terapia (KESHAVARZ et al., 2022; MEHRABADI et al., 2022).

Figura 4: Limitações da CAR-T



Limitações da CAR-T. (A) Escape imunológico: células tumorais desenvolvem resistência e perdem ou para de expressar o antígeno alvo. (B) “On Target Off Tumor”: CAR-T atacam células normais por apresentarem o mesmo antígeno das células tumorais. (C) Toxicidade Associada a CAR-T: liberação exagerada de citocinas. (D) Microambiente tumoral: infiltração de células imunossupressoras nos tumores sólidos que produzem citocinas diminuindo a eficácia da CAR-T. (E) Infiltração das CAR-T: CAR-T apresenta dificuldade de chegar no local do tumor devido a sua falta de moléculas de adesão e a matriz fibrosa espessa do tumor.

Fonte: Adaptado de STERNER, 2021.

3.5 Limitações da CAR-NK

A terapia com células CAR-NK apresenta um potencial significativo na imunoterapia do câncer, mas ainda enfrenta limitações importantes que precisam ser superadas para aumentar sua eficácia, especialmente em tumores sólidos. Uma das principais limitações é a baixa persistência das células CAR-NK, que estão sujeitas à sobrevivência de curto prazo no organismo sem o suporte adequado de citocinas. Essas células necessitam de citocinas para se manterem viáveis, o que reduz a eficácia da terapia e pode, por sua vez, provocar efeitos colaterais, como a inibição das células T regulatórias (Treg) (XUE, 2023).

Outro fator limitante é o microambiente tumoral inibitório, presente nos tumores sólidos, que prejudica a eficácia das CAR-NK. É caracterizado por condições de hipóxia e pela presença de citocinas supressoras, como o TGF-beta, que impactam negativamente na função das CAR-NK. A hipóxia contribui para processos como angiogênese, metástase, indução de inflamação, evasão imunológica e instabilidade genômica, todos fatores que dificultam a ação eficaz das células CAR-NK. Além disso, a presença de TGF-beta reduz o metabolismo celular, a secreção de citocinas e a degranulação das células NK, enfraquecendo ainda mais a resposta antitumoral dessa terapia (PENG et al., 2024; WANG et al., 2024).

A resistência das células NK à transdução viral também é uma das principais limitações observadas na terapia CAR-NK. Durante os ensaios clínicos, foi constatada uma grande variabilidade na eficiência da transdução viral, com taxas que variam de 22,7% a 91,1%, o que compromete a uniformidade e a previsibilidade dos resultados da terapia (PENG et al., 2024). Essas limitações destacam a necessidade de novas estratégias para melhorar a persistência das células CAR-NK, otimizar a transdução viral e superar os desafios impostos pelo microambiente tumoral nos tumores sólidos.

3.6 Potencial da NK contra o câncer

As células NK são linfócitos do sistema imune inato encontrados no sangue periférico (5-15% dos linfócitos totais), que são responsáveis pela identificação e eliminação de células anormais e estressadas. Elas reconhecem células estranhas a partir de receptores estimulatórios e inibitórios. Além disso, as NK eliminam células neoplásicas sem precisar de uma sensibilização prévia devido a presença de um sistema de detecção de antígenos, que reconhecem moléculas presentes em células estressadas. Por isso, a NK tem um grande potencial na terapia contra o câncer (GONG et al, 2021; RAFTERY, 2023).

3.6.1 Mecanismo de ação CAR-NK

Células CAR-NK, quando se ligam no receptor associado ao tumor (TAA, do inglês *Tumor associated antigen*) e reconhecem as células alvo, através do ectodomínio (scFv),

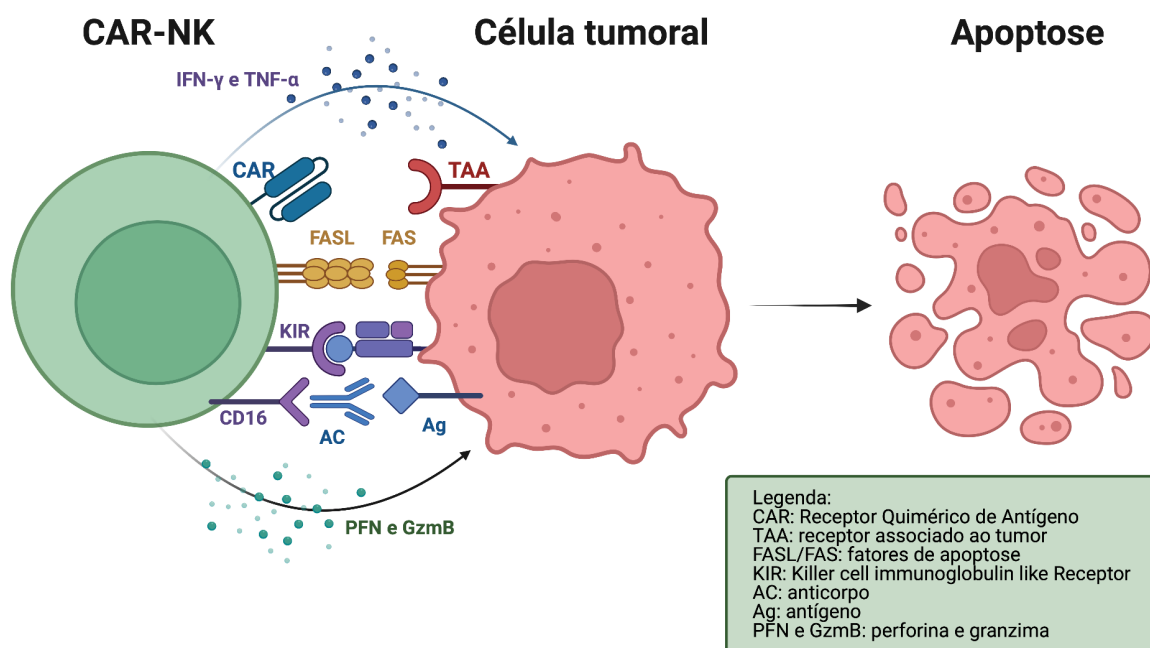
liberam citocinas e ativam os mecanismos naturais das NKs. As *natural killers* são células do sistema imune inato, responsáveis por identificar e eliminar células anormais rapidamente, de maneira independente do antígeno leucocitário humano (HLA). O mecanismo das NKs de diferenciar células estranhas de células próprias é determinado pela combinação de receptores de ativação (NKG2D, NKp40, NKp30 e NKp44) e de inibição de superfície que reconhecem uma grande variedade de ligantes das células estressadas (GONG et al, 2021; MAALEJ et al, 2023; SILVESTRE, 2022).

Além disso, as *natural killers* expressam o receptor KIR (do inglês, *Killer cell Immunoglobulin like Receptor*), que identificam as células próprias e restringem a atividade citotóxica, prevenindo danos às células do próprio organismo (MAALEJ et al, 2023). As células normais apresentam moléculas HLA do tipo I, contudo células infectadas ou tumorais não expressam essas moléculas, tornando-as alvo de destruição pela NK através de mecanismos como via perforina-granzima, apoptose mediada pela interação FAS/FASL e liberação de citocinas (ELAHI et al, 2021; SILVESTRE, 2022).

A via perforina-granzima consiste na liberação de citocinas como a perforina e granzima que induz a apoptose da célula alvo. Já o mecanismo FAS/FASL acontece a partir da expressão da molécula FAS em células estressadas e o reconhecimento dessas pelos ligantes de FAS (FASL), presentes nas NKs (figura 5). Essa interação induz a morte celular. Além disso, a liberação de citocinas pró inflamatórias pelas CAR como, IFN- γ e TNF- α inibem o crescimento das células tumorais e ativam a outras células do sistema imune (PANG et al, 2022; PENG et al, 2024).

Outro mecanismo de eliminação das células tumorais é o da citotoxicidade mediada por células dependentes de anticorpos (ADCC, do inglês *antibody-dependent cell cytotoxicity*). As NKs expressam o receptor de superfície, CD16, que se ligam a anticorpos que estão ligados nas células alvo, ativando a citotoxicidade da NK e o sistema imune contra o câncer (MAROFI et al, 2022; PANG et al, 2022).

Figura 5: Mecanismo de ação da CAR-NK



Quando as CAR-NK se ligam ao TAA, liberam citocinas e ativam os mecanismos naturais das NKs. A liberação de perforinas e granzimas induz a apoptose das células tumorais, enquanto as citocinas IFN- γ e TNF- α desempenham papel crucial na ativação do sistema imunológico e na inibição do crescimento tumoral. O receptor KIR impede a destruição de células normais. A interação entre FAS e FASL ocorre quando o FAS, expresso em células tumorais ou estressadas, se liga ao FASL nas NKs, resultando na indução da morte celular. Adicionalmente, a citotoxicidade dependente de anticorpos (ADCC) é mediada pela ligação do receptor CD16 das NKs aos anticorpos que se encontram aderidos às células tumorais, o que ativa a citotoxicidade das NKs e fortalece a resposta imunológica contra o câncer.

Fonte: Adaptado de MAALEJ et al, 2023; PANG et al, 2022

3.6.2 Fonte da NK para o desenvolvimento da CAR-NK

As células NK utilizadas na terapia CAR-NK podem ser extraídas do sangue periférico (PB, do inglês *Peripheral blood*), sangue do cordão umbilical (UCB, do inglês *Umbilical cord blood*), células tronco hematopoiéticas (HSC, do inglês *Hematopoietic stem cells*), células tronco embrionárias ou células tronco pluripotentes induzidas (iPSC, do inglês *Induced pluripotent stem cell*) e células da linhagem NK. Contudo, há vantagens e desvantagens para cada uma dessas fontes (quadro 1) (SILVESTRE, 2022).

Quadro 1: Vantagens e desvantagens das fontes de NK.

Obtenção	Vantagens	Desvantagens
Sangue Periférico	- Células maduras, não requerem diferenciação. - Capacidade de expressar receptores de ativação importantes contra células tumorais.	- Baixa concentração de NK no sangue periférico. - Necessita isolamento e expansão in vitro, o que pode reduzir a citotoxicidade.
Sangue do Cordão Umbilical	- Alta concentração de células NK (30%). - Alta capacidade proliferativa das células.	- Células não totalmente diferenciadas. - Baixa produção de receptores e inibição celular limitada.
Células tronco hematopoiéticas	- Mais suscetíveis a manipulações genéticas. - Potencial para métodos "off the shelf" (pronto para uso).	- Expansão demorada, leva mais de 40 dias.
Células tronco embrionárias ou células tronco pluripotentes induzidas	- Grande quantidade de células NK a partir de um único clone. - Maior citotoxicidade. - Fonte fácil de acesso (fibroblastos e células sanguíneas).	- O processo de reprogramação e diferenciação é complexo e demorado. - Desafios técnicos na diferenciação e expansão.

NK- 92	- Facilidade de expansão e manutenção em cultura. - Alta atividade anti-tumoral e secreção significativa de granzimas e perforinas. - Excelente capacidade citotóxica.	- Processo de irradiação - Aneuploidia (alteração cromossômica numérica), resultando em baixa proliferação <i>in vivo</i> e vida útil curta.
---------------	--	---

Fonte: Adaptado de GONG et al, 2021; MAROFI et al, 2021; PENG et al, 2024; SILVESTRE, 2022; ZHANG, 2024.

A maioria dos estudos clínicos utilizam células NK isoladas do sangue periférico dos próprios pacientes ou de doadores compatíveis. As células NK autólogas não são tão eficazes quanto as de doadores devido a inativação mediada pelo Complexo Principal de Histocompatibilidade (MHC) do próprio paciente, além do comprometimento funcional dessas células em decorrência da presença do câncer. As NK do PB coletadas de doadores por aférese têm a capacidade de expressar receptores de ativação que desempenham um papel muito importante contra células neoplásicas e não precisam do processo de diferenciação por serem maduras. Contudo, o PB contém uma concentração reduzida de células NK, o que exige seu isolamento e expansão *in vitro*, podendo reduzir a citotoxicidade (GONG et al, 2021; MAROFI et al, 2021).

Diferente do PB, que apresenta 5-15% de NK, o sangue do cordão umbilical contém 30% (dos linfócitos totais) de NK, sendo uma outra alternativa. As células do UCB são caracterizadas por uma alta capacidade proliferativa. Contudo, não são totalmente diferenciadas e, por isso, exibem uma baixa produção de receptores e uma inibição celular limitada (ZHANG, 2024).

Pelas dificuldades encontradas na utilização de NK do PB e do UCB, pesquisadores estão dando mais atenção para as células tronco hematopoiéticas, criando métodos "*off the shelf*" (pronto para uso). Células NK do HCS são mais suscetíveis a manipulações genéticas. Entretanto, o tempo de expansão é longo, levando mais de 40 dias (PENG et al, 2024).

As células tronco pluripotentes induzidas são derivadas de células como fibroblastos e células sanguíneas facilmente acessíveis. A obtenção de células NK a partir de iPCS consiste na reprogramação das células somáticas em células pluripotentes e em seguida diferenciação em NK e expansão para gerar os produtos finais. Essa abordagem gera um grande número de células NK a partir de um único clone, e mantém uma maior citotoxicidade (PENG et al, 2024).

Uma das principais desvantagens da maioria das fontes de células NK é a dificuldade em obter um grande número dessas células em um curto espaço de tempo. Entretanto, células das linhagens NK, principalmente a NK-92 superam essas dificuldades porque são fáceis de expandir e manter congeladas. A NK-92 é caracterizada pela alta atividade anti-tumoral, destacando-se pela secreção significativa de granzimas e perforinas e uma excelente capacidade citotóxica contra tumores sólidos e hematológicos. Essa linhagem apresenta uma grande quantidade de receptores de ativação e poucos de inibição. Contudo, as NK-92 são derivadas de um tumor e são aneuploides (alteração cromossômica numérica), e por isso precisam passar por um processo de irradiação e apresentam uma baixa proliferação *in vivo* e uma vida útil curta (GONG et al, 2021; MAROFI et al, 2021; SILVESTRE, 2022).

Depois da obtenção das células, elas precisam ser enriquecidas com CD56 +. Em seguida, é feito a transdução da CAR usando um vetor (retrovírus ou lentivírus), isto é, a sequência genômica CAR é inserida na NK a partir de um vetor. As células NK transfectadas são expandidas com citocinas (IL-2, IL-15, IL-18, IL-21 e IL-12). Posteriormente, são criopreservadas para serem usadas nos pacientes (ELAHI et al, 2021).

3.6.3 Ensaios clínicos CAR-NK

Muitos ensaios clínicos da terapia CAR-NK contra o câncer estão em desenvolvimento no mundo todo. As células NK têm uma alta capacidade antitumoral e, por isso, pesquisadores estão usando-as para criar CAR-NK com o objetivo de atacar cânceres hematológicos e sólidos (MAROFI et al, 2021).

Atualmente, existem 18 estudos, destes, 11 são de malignidades hematológicas e 7 de tumores sólidos (tabela 2). Os ensaios clínicos com células CAR-NK estão sendo realizados na China (11 estudos), EUA (6 estudos) e Irã (1 estudo). Um estudo foi completado em 2023 e apresenta resultados promissores (Clinicaltrials.gov).

O estudo NCT03056339 (tabela 2) sobre a eficiência da CAR-NK anti-CD19, derivadas de sangue do cordão umbilical, em 11 pacientes com cânceres hematológicos CD19+ recidivantes ou refratários mostrou resultados promissores. Os resultados indicaram que o tratamento foi bem tolerado, e não apresentou efeitos adversos. Entre os 11 pacientes tratados, 73% obtiveram resposta positiva, com 7 deles alcançando remissão completa. As respostas foram observadas em até 30 dias, e as células CAR-NK demonstraram persistência por pelo menos 12 meses. Esses achados sugerem que a terapia com células CAR-NK possui potencial de eficácia e segurança no tratamento de cânceres CD19+ (LI et al, 2024).

No Brasil, o Hemocentro de Ribeirão Preto irá começar o ensaio clínico com células CAR-NK anti-CD19 alogênicas para linfoma não Hodgkin de células B recidivado/refratário. Esta abordagem emprega células derivadas de doadores saudáveis e está disponível de forma "off the shelf". As células serão modificadas com um vetor CAR de quarta geração, desenvolvido pelos pesquisadores do Hemocentro, com o objetivo de aprimorar a eficácia terapêutica (TALAMONE, 2024).

Quadro 2: Ensaios clínicos atuais da terapia CAR-NK.

Número do NCT	Doença	Fase	Ano de início	Ano de Conclusão	Local
NCT03056339	Malignidades Linfoides B Leucemia Linfocítica Aguda Leucemia Linfocítica Crônica Linfoma Não-Hodgkin	I/II	2017	2023	EUA
NCT05987696	Leucemia Mieloide Aguda Doença Residual Mínima	I	2023	2026	China
NCT06478459	Câncer de Pâncreas Não Ressecável	I	2024	2026	China
NCT06594211	Mieloma múltiplo	Não	2024	2028	China

		aplicável			
NCT06503497	Câncer de Pâncreas	I	2024	2026	
NCT05686720	Câncer de Mama Avançado	I	2023	2024	China
NCT06379451	Mieloma múltiplo	I	2024	2025	China
NCT06572956	Segurança e Eficácia de Medicamentos Celulares, Taxa de Resposta Objetiva dos Pacientes com tumores sólidos	I	2024	2025	China
NCT06242249	Mieloma múltiplo	II	2024	2026	China
NCT06454890	Câncer de Pulmão de Células Não Pequenas (NSCLC)	II	2024	2029	China
NCT06631040	Leucemia Linfoblástica Aguda em Recidiva	II	2024	2026	Irã
NCT04623944	Leucemia Mieloide Aguda Síndromes Mielodisplásicas Refratárias	I	2020	2039	EUA
NCT05182073	Mieloma múltiplo	I	2021	2040	EUA
NCT05020015	Linfoma Não-Hodgkin	II	2021	2030	EUA
NCT06464861	Linfoma B de Células Grandes Difusas (DLBCL) Linfoma de Células do Manto (MCL) Linfoma B de Células Mediastinais Primárias (PMBCL)	I	2024	2027	China
NCT06652243	Carcinoma Hepatocelular	I	2024	2027	China
NCT06358430	Câncer Colorretal Doença Residual Mínima	I	2024	2029	EUA

Fonte: Adaptado do Clinicaltrials.gov

3.7 Perspectivas futuras da CAR-NK

A terapia com células CAR-NK surge como uma alternativa promissora à terapia com células CAR-T, com o potencial de superar algumas das limitações associadas às terapias celulares convencionais. À medida que a pesquisa avança, as perspectivas futuras para as células CAR-NK são promissoras, com vários caminhos emergentes que podem expandir suas aplicações e melhorar sua eficácia no tratamento de diferentes tipos de câncer (PENG et al, 2024)

A abordagem mais atual para melhorar esse terapia é a CRISPR/Cas9 (Repetições Palindrômicas Curtas Agrupadas e Regularmente Espaçadas) que consiste na introdução da proteína Cas9 nas células NK. Essa técnica pode ser usada para deletar, reparar ou inserir genes para melhorar a capacidade antitumoral da CAR-NK (MAROFI et al, 2021; PENG et al, 2024).

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este trabalho evidenciou o potencial das terapias CAR-NK como uma abordagem promissora para o tratamento de diversos tipos de câncer. A modificação genética de células NK para expressar receptores CAR direcionados a antígenos tumorais oferece vantagens sobre terapias convencionais, como um perfil de segurança mais favorável, maior acessibilidade e um processo de fabricação mais ágil. No entanto, desafios como a eficácia em tumores sólidos e a persistência celular ainda precisam ser superados para que a terapia alcance seu pleno potencial.

As CAR-NK se destacam por induzirem uma resposta imunológica rápida e eficaz, com menor risco de efeitos adversos graves, como a síndrome de liberação de citocinas observada nas CAR-T. Além disso, sua produção a partir de fontes alogênicas pode reduzir custos e expandir o acesso ao tratamento. No entanto, a otimização da persistência e da atividade antitumoral das células NK no microambiente tumoral continua sendo um desafio importante.

O papel do biomédico é fundamental nesse contexto, com contribuições essenciais na engenharia genética das células, na realização de ensaios clínicos e pré-clínicos, no aprimoramento de protocolos de expansão e ativação celular, e na personalização do tratamento por meio de diagnósticos moleculares. Além disso, o biomédico desempenha papel crucial na pesquisa sobre o microambiente tumoral e a resistência imunológica, além de ser responsável pela educação e disseminação de conhecimento sobre as terapias celulares. Assim, a atuação do biomédico é central no desenvolvimento e implementação bem-sucedidos das terapias CAR-NK, ampliando suas possibilidades terapêuticas e melhorando os resultados clínicos.

REFERÊNCIAS

ABKEN, H. Building on Synthetic Immunology and T Cell Engineering: A Brief Journey Through the History of Chimeric Antigen Receptors. **Human Gene Therapy**, Nova York, v. 32, p. 1011 - 1028, 2021. Disponível em: <https://www.liebertpub.com/doi/epdf/10.1089/hum.2021.165>. Acesso em: 13 ago. 2024.

BRASIL. Ministério da Saúde. **INCA estima 704 mil casos de câncer por ano no Brasil até 2025**. 2022. Disponível em: <https://www.gov.br/inca/pt-br/assuntos/noticias/2022/inca-estima-704-mil-casos-de-cancer-por-ano-no-brasil-ate-2025>. Acesso em: 16 ago. 2024.

ELAHI, R. *et al*. Chimeric Antigen Receptor-Engineered Natural Killer (CAR NK) Cells in Cancer Treatment; Recent Advances and Future Prospects. **Stem Cell Reviews and Reports**, v. 17, p. 2081–2106, 2021. Disponível em:

<https://link.springer.com/article/10.1007/s12015-021-10246-3?fromPaywallRec=false#citea>. Acesso em: 23 ago. 2024.

GONÇALVES, J. **Imunoterapia VS A Tecnologia de CAR-T para Tratamento de Leucemia Linfoblástica Aguda**. 2022. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharel em Biomedicina) - Universidade São Judas Tadeu - Unidade Butantã, São Paulo, 2022. Disponível em: <https://repositorio.animaeducacao.com.br/items/14bc881b-8985-4800-bd88-c0a146a9bde>. Acesso em: 16 ago. 2024.

GONG, Y. *et al.* Chimeric antigen receptor natural killer (CAR-NK) cell design and engineering for cancer therapy. **Journal of Hematology & Oncology**, v. 14, ed. 73, 2021. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1186/s13045-021-01083-5#citeas>. Acesso em: 19 ago. 2024.

KESHAVARZ, A. *et al.* Recent findings on chimeric antigen receptor (CAR)-engineered immune cell therapy in solid tumors and hematological malignancies. **Stem Cell Research & Therapy**, v. 13, 2022. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1186/s13287-022-03163-w?fromPaywallRec=false#Abs1>. Acesso em: 5 set. 2024.

LI, T. *et al.* CAR-NK cells for cancer immunotherapy: recent advances and future directions. **Frontiers in Immunology**. v.15, 2024. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/journals/immunology/articles/10.3389/fimmu.2024.1361194/full#h5>. Acesso em 11 nov. 2024.

MAALEJ, K.M. *et al.* CAR-cell therapy in the era of solid tumor treatment: current challenges and emerging therapeutic advances. **Molecular Cancer**, v. 22, 2023. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1186/s12943-023-01723-z?fromPaywallRec=false#Abs1>. Acesso em: 13 ago. 2024.

MAROFI, F. *et al.* CAR-engineered NK cells; a promising therapeutic option for treatment of hematological malignancies. **Stem Cell Research & Therapy**, v. 12, n. 374, 2021. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1186/s13287-021-02462-y#Abs1>. Acesso em: 9 out. 2024.

MEHRABADI, A.Z.M. *et al.* Therapeutic potential of CAR T cell in malignancies: A scoping review. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 146, 2022. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S07533332221012993#ab0020>. Acesso em: 2 set. 2024

MILANO, M.S.A. **Revisão de Literatura: Imunoterapia com Células T-CAR ("CAR-T")**. 2022. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharel em Biomedicina) - Centro Universitário Sagrado Coração - Unisagrado, Bauru, 2022. Disponível em: <https://repositorio.unisagrado.edu.br/jspui/bitstream/handle/1482/1/REVISÃO%20DE%20LITERATURA%20IMUNOTERAPIAS%20COM%20CÉLULAS.pdf>. Acesso em: 13 ago. 2024.

NASCIMENTO, M.; SILVA, I.C. Imunoterapia baseada em células CAR-T. **RECIMA21 - Revista**

Científica Multidisciplinal, v. 4, n. 1, 2023. Disponível em: <https://recima21.com.br/index.php/recima21/article/view/3257>. Acesso em: 30 ago. 2024.

NIZOLLI, A.R.; HEIMBECHER, C.T. CAR-T vs CAR-NK cells: an integrative review of therapeutic approaches in immunotherapy. **International Seven Journal of Health Research**, v. 3, n. 3, p. 844–858, 2024. Disponível em: <https://sevenpublicacoes.com.br/ISJHR/article/view/4472>. Acesso em: 3 sep. 2024.

OLIVEIRA, D.S.; ARAÚJO, M.M.; MENDONÇA, S.G. **O Futuro da Imunoterapia: CAR-T uma inovadora terapia na onco-hematologia e suas limitações para tumores sólidos**. 2023. Trabalho de conclusão de curso (Bacharel em Biomedicina) - Faculdade metropolitanas unidas, São Paulo, 2023. Disponível em: <https://recima21.com.br/index.php/recima21/article/view/3329/2396>. Acesso em: agosto. 2024.

PAN, K. et al. CAR Race to Cancer immunotherapy: from CAR T, CAR NK to CAR Macrophage Therapy. **Journal of Experimental & Clinical Cancer Research**, v. 41, n. 1, 2022. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1186/s13046-022-02327-z>. Acesso em: 6 set. 2024

PANG, Z. *et al.* Current Progress of CAR-NK Therapy in Cancer Treatment. **Cancers**, v. 14, 2022. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2072-6694/14/17/4318>. Acesso em: 24 out. 2024.

PENG, L. *et al.* CAR-T and CAR-NK as cellular cancer immunotherapy for solid tumors. **Cellular & Molecular Immunology**, v. 21, p. 1089–1108, 2024. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1038/s41423-024-01207-0?fromPaywallRec=false#Abs1>. Acesso em: 12 out. 2024.

RAFTERY, M.J.; FRANZÉN, A.S.; PECHER, G. CAR NK Cells: The Future Is Now. **Annual Review of Cancer Biology**, v. 7, p. 229–246, 2023. Disponível em: <https://www.annualreviews.org/docserver/fulltext/cancerbio/7/1/annurev-cancerbio-061521-082320.pdf?expires=1724074078&id=id&accname=guest&checksum=9D7F6E8FB02AA88D6AF679CE3AD594BD>. Acesso em: 19 ago. 2024.

SILVESTRE, R.N. **Geração de células NK-CAR anti-CD19 como uma alternativa alogênica para o tratamento de neoplasias de células B**. 2022. Tese (Doutorado em Oncologia Clínica, Células-Tronco e Terapia Celular) - Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2022. Disponível em: https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/17/17153/tde-08082022-094847/publico/RENA_TANACASAKISILVESTREco.pdf. Acesso em: 2 set. 2024.

STERNER, R.C.; STERNER, R.M. CAR-T cell therapy: current limitations and potential strategies. **Blood Cancer Journal**, v. 11, 2021. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1038/s41408-021-00459-7?fromPaywallRec=true#citeas>. Acesso em: 2 set. 2024.

STYCZYNSKI, J. A brief history of CAR-T cells: from laboratory to the bedside. **Acta Haematologica Polonica**, Polônia, v. 52, ed. 1, 2020. Disponível em: https://journals.viamedica.pl/acta_haematologica_polonica/article/view/75176/54981. Acesso em: 12 ago. 2024.

TALAMONE, R. Hemocentro de Ribeirão Preto vai receber R\$ 50 milhões para desenvolver terapia inovadora no tratamento do câncer. **Jornal da USP**. 2024. Disponível em: <https://jornal.usp.br/campus-ribeirao-preto/hemocentro-de-ribeirao-preto-vai-receber-r-50-milhoes-para-o-desenvolvimento-de-terapia-inovadora-para-o-tratamento-do-cancer/>. Acesso em: 11 nov. 2024.

TANAKA, J.S.H. **Papel das células CAR-T em tumores sólidos: Desafios e perspectivas para o tratamento de cânceres não-hematológicos**. 2023. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharel em Farmácia) - Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Rio Grande do Norte, 2023. Disponível em: <https://repositorio.ufrn.br/bitstream/123456789/56300/1/Trabalho%20de%20Conclusão%20de%20Curso%20-%20JULMI.docx.pdf>. Acesso em: 19 ago. 2024.

VALVERDE, R. **Fiocruz sela parceria com Inca e divulga estudo sobre custos do câncer no SUS**. Fiocruz, Rio de Janeiro, 2023. Disponível em: <https://portal.fiocruz.br/noticia/fiocruz-sela-parceria-com-inca-e-divulga-estudo-sobre-custos-do-cancer-no-sus>. Acesso em: 16 ago. 2024

WANG, Chao *et al.* CAR-T cell therapy for hematological malignancies: History, status and promise. **Heliyon**, China, v. 9, 2023. Disponível em: <https://www.cell.com/action/showPdf?pii=S2405-8440%2823%2908984-3>. Acesso em: 12 ago. 2024.

WANG, W. *et al.* Breakthrough of solid tumor treatment: CAR-NK immunotherapy. **Cell Death Discovery**, v. 10, 2024. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/s41420-024-01815-9#citeas>. Acesso em: 12 out. 2024.

XUE, Ye. Limitations and Overcomes of CAR-NK for Cancer Immunotherapy. **Highlights in Science, Engineering and Technology**, v. 36, p. 944–948, 2023. Disponível em: <https://drpress.org/ojs/index.php/HSET/article/view/6133>. Acesso em: 12 oct. 2024.

ZHANG, B. *et al.* Chimeric antigen receptor-based natural killer cell immunotherapy in cancer: from bench to bedside. **Cell Death & Disease**, v. 15, 2024. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/s41419-024-06438-7#citeas>. Acesso em: 31 out. 2024.