

# IMUNOTERAPIA COM CÉLULAS T-CAR: BIOENGENHARIA CONTRA A LEUCEMIA LINFOBLÁSTICA AGUDA

## CAR-T CELLS IMMUNOTHERAPY: BIOENGINEERING AGAINST ACUTE LYMPHOBLASTIC LEUKEMIA

## INMUNOTERAPIA CON CÉLULAS T-CAR: BIOINGENIERÍA CONTRA LA LEUCEMIA LINFOBLÁSTICA AGUDA

Lisandra Juliani Martho\*, Giovanna Rosa Degaspero\*\*, Christiane Aparecida Badin Tarsitano\*\*\*

### Resumo

**Introdução:** Uma atual abordagem da imunoterapia do câncer baseia-se na modificação genética de linfócitos T, através da expressão de uma molécula de superfície capaz de atuar como um receptor específico. Tal molécula foi intitulada Receptor Antigênico Quimérico (CAR) e tem a função de reconhecer antígenos presentes em células tumorais para redirecionar o ataque linfocitário. Desenvolvido como um tratamento para a Leucemia Linfoblástica Aguda (LLA) do tipo B, o receptor CAR expresso pela célula modificada atua especificamente no reconhecimento do CD19, principal *cluster* de diferenciação da linhagem linfóide B. Ao reconhecer o antígeno, o sítio interno da molécula transmite um sinal de ativação do ataque citolítico, o qual atinge apenas a célula-alvo e promove sua eliminação com baixa toxicidade. **Objetivo:** Descrever a manipulação e funcionamento da imunoterapia com Células T-CAR no tratamento da LLA do tipo B e destacar os benefícios desta técnica para os pacientes. **Método:** Estudo de revisão bibliográfica a partir de artigos de bases de dados *online PubMed* e do Portal Capes, no período de 2011 a 2017 e livros acadêmicos correlacionados. **Conclusão:** Com as técnicas de engenharia genética, a imunoterapia com Células T-CAR proporcionou melhora significativa na qualidade de vida dos pacientes de ensaios clínicos devido à baixa agressividade do tratamento e alta especificidade contra a célula tumoral, atingindo taxas próximas de 95% de remissão completa da doença. Os resultados indicam novas oportunidades de avanço no tratamento da LLA e outras neoplasias.

**Palavras-chave:** Biotecnologia. Terapia genética. Receptor antigênico quimérico. Hematologia. Oncologia.

### Abstract

**Introduction:** A current approach to cancer immunotherapy is based on the genetic modification of T-lymphocytes by the expression of a cell surface molecule able to act as a specific receptor. Such molecule has been called Chimeric Antigen Receptor (CAR) and has the function of recognizing antigens in tumor cells to redirect the lymphocyte attack. Developed as a treatment for Acute Lymphoblastic Leukemia (ALL) type B, the CAR-receptor expressed by the modified cell acts specifically on the recognition of CD19, the major differentiation cluster of lymphoid B lineage. After antigen recognition, the molecule internal site transmits a signal of cytolytic attack activation, which reaches only the target cell, therefore promoting its elimination with low toxicity. **Objective:** To describe manipulation and functioning of immunotherapy with CAR-T cells on the treatment of type B ALL and to highlight the benefits of this technique for the patients. **Method:** Bibliographic review study based on articles from online databases PubMed and Capes Portal from 2011 through 2017 and correlated academic books. **Conclusion:** With genetic engineering techniques, CAR-T Cells immunotherapy provided significant improvement in life quality of clinical trials patients, due to low treatment aggressiveness, as well as high specificity against tumor cells, with disease complete remission rates near to 95%. The results point out new opportunities for advancement in the treatment of ALL and other neoplasms.

**Keywords:** Biotechnology. Genetic therapy. Chimeric Antigen Receptor. Hematology. Oncology.

### Resumen

**Introducción:** Actualmente, uno de los enfoques en inmunoterapia para cáncer es la modificación genética de linfocitos T a través de la expresión de moléculas de superficie capaces de actuar como receptor específico. Estas moléculas se llaman Receptor Antigénico Quimérico (CAR) y su función es reconocer antígenos presentes en las células tumorales direccionando el ataque linfocitario. El receptor CAR fue desarrollado para el tratamiento de Leucemia Linfoblástica Aguda (LLA) tipo B y se expresa en la célula modificada para actuar específicamente en el reconocimiento de CD19, principal marcador de diferenciación del linaje de linfocitos B. Cuando es reconocido el antígeno, el sitio interno de la molécula transmite una señal de activación para iniciar el ataque citolítico, atacando de forma específica a las células cancerígenas y promoviendo la eliminación de éstas con baja toxicidad. **Objetivo:** Describir la manipulación y funcionamiento de la inmunoterapia con células T-CAR en el tratamiento de LLA tipo B y mostrar los beneficios de la técnica en los pacientes. **Método:** Estudio de revisión bibliográfica de artículos científicos de los años 2011-2017 en bases de datos on-line y libros académicos relacionados. **Conclusión:** Gracias a las técnicas de ingeniería genética, la inmunoterapia con células T-CAR proporcionó una mejora significativa en la calidad de vida de los pacientes participantes de ensayos clínicos, debido a la baja agresividad del tratamiento y a la alta especificidad del mismo contra las células tumorales. Siendo la tasa de remisión completa de la enfermedad de aproximadamente un 95%. Los resultados muestran nuevas oportunidades de avances en el tratamiento de la LLA y en otras neoplasias.

**Palabras clave:** Biotecnología. Terapia genética. Receptor antigénico quimérico. Hematología. Oncología.

\* Graduada em Ciências Biológicas, Pontifícia Universidade Católica de Campinas (PUC-Campinas), Campinas-SP. Contato: lisandramartha@gmail.com

\*\*Doutora em Fisiopatologia Médica. Docente do curso de Ciências Biológicas, Pontifícia Universidade Católica de Campinas (PUC-Campinas), Campinas-SP.

\*\*\*Doutora em Biologia Celular. Docente do curso de Ciências Biológicas, Pontifícia Universidade Católica de Campinas (PUC-Campinas), Campinas-SP.

## INTRODUÇÃO

Os avanços em imunologia, engenharia genética e processamento de células são fatores estimulantes para o desenvolvimento de novas técnicas de tratamento contra o câncer, como a imunoterapia com Células T-CAR. Trata-se de uma terapia celular adotiva capaz de redirecionar o combate às células cancerígenas através do reconhecimento antigênico, dispensando a restrição do complexo principal de histocompatibilidade (MHC). Atualmente, o método é uma poderosa ferramenta contra tumores e leucemias<sup>1,2</sup>.

A leucemia linfoblástica aguda (LLA) é um tipo de câncer altamente incidente em crianças de 3 a 7 anos de idade<sup>3</sup>, ocorrendo, anualmente, três novos casos a cada 100 mil indivíduos<sup>4</sup>. Dentre estes, cerca de 15% não alcançam a cura da doença e 25% dos pacientes apresentam recidiva após o tratamento de primeira linha<sup>3,4</sup>. Em adultos, a incidência de LLA consiste em apenas 15% de todas as leucemias agudas, atingindo especialmente pacientes acima dos 70 anos de idade. Porém, a taxa de cura constitui somente 5% dos casos<sup>3,5</sup>.

Atualmente, a quimioterapia é considerada o principal tratamento contra a LLA. Apesar de convencional, o método é altamente inespecífico, o que afeta tanto células tumorais quanto células saudáveis do organismo. Desta forma, pode levar ao desenvolvimento de diversos efeitos colaterais e deixar sequelas permanentes<sup>3,6</sup>.

Com base no atual cenário terapêutico do câncer e nos índices alarmantes da LLA, foi intensificada a busca por novas opções de tratamentos. A terapia com Células T-CAR tende a substituir ou reduzir o uso dos tratamentos convencionais, uma vez que os efeitos colaterais da tecnologia T-CAR podem ser revertidos, proporcionando uma melhor qualidade de vida aos pacientes. Além disso, o tratamento se mostrou altamente eficaz nos ensaios clínicos, com taxas de até 94% de remissão completa da doença<sup>1,7,8</sup>.

Esta revisão tem o propósito de descrever o processamento de células T-CAR *in vitro* e seu funcionamento após infusão em circulação sistêmica de pacientes com LLA de linhagem B, bem como destacar os benefícios da técnica em comparação aos métodos de tratamentos convencionais.

## MÉTODO

Foi realizado o levantamento da literatura disponível sobre imunoterapia com Células T-CAR aplicadas no tratamento da LLA de linhagem B, através do PubMed e do Portal Capes no período de 2011 a 2017, bem como livros e periódicos de base científica ou acadêmica.

### Cenário terapêutico atual contra a leucemia linfoblástica aguda

A LLA é um tipo de câncer que acomete células hematológicas, levando a disfunção de precursores linfoides e consequente proliferação clonal desordenada<sup>9,10</sup>. A doença pode acometer linhagens linfocitárias distintas, sendo elas do tipo T ou B, e são diferenciadas com base em marcadores específicos expressos nas membranas celulares, conhecidos como *Clusters* de diferenciação (CD). Apenas 15% dos casos de LLA correspondem à linhagem dos linfócitos T, enquanto que a maioria acomete a linhagem B, equivalendo a 85% dos casos. Devido à grande incidência, marcadores específicos de linhagem B constituem grandes alvos de estudos para abordagens terapêuticas. Um exemplo de marcador de linhagem B é o CD19, expresso durante todo o processo de maturação celular<sup>11,12</sup>.

Os tratamentos contra as leucemias visam reduzir a quantidade de células tumorais, podendo ter objetivo curativo ou paliativo<sup>3,6</sup>. O método mais utilizado atualmente é a quimioterapia, que consiste na administração de fármacos com ação tóxica ao ciclo celular, inibindo a síntese de DNA<sup>13</sup>. Todavia, além de agir sobre células tumorais, os quimioterápicos também atingem tecidos normais com alto índice de renovação por divisão mitótica, como medula óssea, folículos pilosos, mucosa do sistema digestivo e células germinativas<sup>13,14</sup>.

Em associação com a quimioterapia, pode ser utilizada a radioterapia, visando a eliminação de células leucêmicas na medula óssea ou em órgãos infiltrados. O método consiste na aplicação de raios X e raios Gama sobre a região afetada, danificando a estrutura do DNA, o que leva a morte celular. Contudo, a radiação pode atingir células saudáveis presentes nas proximidades da região irradiada<sup>13</sup>.

Ao atingir células normais, os métodos se

caracterizam por serem altamente inespecíficos e acarretam diversos efeitos colaterais indesejados ao paciente, desde imediatos, como pancitopenia, náuseas, queda de cabelos e mal-estar, até efeitos tardios como infertilidade, sequelas no sistema nervoso central e mutagênese<sup>6,13</sup>.

Os tratamentos com quimioterápicos também podem incluir depressão de função e hipoplasia da medula óssea, o que resulta em leucopenia e debilidade imunológica, tornando o paciente severamente susceptível a infecções. Além disso, podem afetar a capacidade do organismo de eliminar células neoplásicas, o que facilita a disseminação do câncer<sup>15</sup>. Ainda, as lesões no DNA causadas pelos tratamentos podem levar ao desenvolvimento de uma neoplasia secundária<sup>6</sup>.

### **A imunoterapia com células T-CAR**

Com base no cenário atual do tratamento contra o câncer, pesquisas foram desenvolvidas em busca de novas abordagens terapêuticas significativamente efetivas e com reações de menor agressividade ao paciente. Dentre elas, a imunoterapia foi escolhida por muitos grupos de pesquisadores, em decorrência da descoberta de que o sistema imune pode ser ativado por estímulos externos para destruir células tumorais de forma eficaz. A metodologia se embasa na modificação da resposta imunológica natural para combater a patologia<sup>16-18</sup>.

A imunoterapia tem sido considerada uma forma de tratamento promissora contra o câncer, apresentando alta seletividade, alto potencial curativo e baixa toxicidade. Em 2013, a técnica ganhou o prêmio *Breakthrough of the Year* pela revista *Science*<sup>19</sup> destacando, entre outras técnicas, a imunoterapia celular através da modificação genética de células T com receptores antigênicos quiméricos, conhecidas como células T-CAR, do inglês *Chimeric Antigen Receptor T Cells*, método que tem apresentado resultados significativos.

Receptores antigênicos quiméricos (CAR) são composições sintéticas capazes de captar sinais para otimizar a capacidade destrutiva dos linfócitos utilizando os mecanismos do Receptor de Célula T (TCR)<sup>7,20</sup>. Desta forma, a molécula é capaz de atuar como um TCR específico, reconhecendo antígenos de superfície presentes em células neoplásicas. O CAR é manipulado *in vitro* e, posteriormente, expresso na superfície de linfócitos

T CD8+ autólogos. Com o reconhecimento do antígeno-alvo, a cascata de ataque celular é ativada e redirecionada exclusivamente contra a célula leucêmica, o que garante grande especificidade no tratamento independentemente da restrição do MHC<sup>21-24</sup>.

O alvo ideal para o ataque das células T-CAR seria um antígeno produzido por células tumorais e ausente em células saudáveis. Estes marcadores são altamente raros, mas existem alternativas viáveis, como a utilização de um antígeno que, além de ser expresso pela célula cancerígena, seja expresso por uma linhagem de células com função dispensável, como é o caso das Células B<sup>7</sup>. Desta forma, a terapia T-CAR contra LLA visa antígenos presentes em células de linhagem B, considerando que a maioria dos casos corresponde a este grupo. As pesquisas desenvolvidas incluem como o principal alvo o CD19, que é encontrado em quase todas as patologias de células B, tais como a LLA, a leucemia linfóide crônica e linfomas não-Hodgkin<sup>7,22,25</sup>.

### **Bioengenharia na manipulação do CAR**

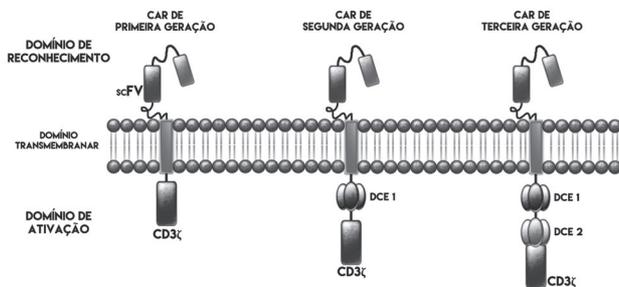
As moléculas CAR são receptores membranares híbridos formados por diferentes sítios responsáveis por funções específicas no tratamento, sendo eles um domínio citoplasmático, um transmembranário e um extracelular. A complexidade estrutural da molécula manipulada confere ao linfócito o sistema de sinalização necessário para a reprogramação do ataque citolítico<sup>26</sup>.

O domínio extracelular é proveniente de uma cadeia simples do fragmento variável (scFv) de anticorpos monoclonais específicos e tem como função o reconhecimento do antígeno-alvo. Neste contexto, o domínio corresponde ao anti-CD19. A variação de domínios extracelulares é responsável pela especificidade do tratamento, modificando a afinidade dos Linfócitos T para o reconhecimento de um antígeno específico na superfície de uma célula<sup>21,22,25</sup>. O domínio intracelular provém de cadeias de CD3 $\zeta$  constituintes do TCR natural com a função de receber sinais de ativação, o que o caracteriza como domínio de sinalização ou ativação do ataque. As duas regiões estão interligadas por um domínio transmembranar intermediário composto por CD8, responsável por transduzir os sinais do anticorpo externo para o CD3 $\zeta$  no interior da célula<sup>21,22,25</sup>.

Durante as pesquisas no desenvolvimento do

CAR, a molécula foi reestruturada por três gerações de acordo com a presença de domínios de coestimulação (DCE) na região intracelular. A adição de DCE amplia a capacidade replicativa da célula T-CAR e intensifica a ação de regressão tumoral. Os CARs construídos na primeira geração não incluem DCE, apresentando a cadeia CD3 $\zeta$  como única sinalização. Na segunda geração foi incorporado um DCE derivado de moléculas como CD28 ou CD137. A combinação de dois ou mais DCE constitui o CAR de terceira geração<sup>7,22,23,27</sup>. A composição da molécula em suas diferentes gerações está representada na Figura 1.

**Figura 1** - Representação da molécula CAR na superfície celular em diferentes gerações. Os CARs apresentam um domínio extracelular de reconhecimento, um transmembranar de transdução e um intracelular de ativação. Na primeira geração, a molécula não dispõe de sítios de coestimulação; na segunda geração, apresenta apenas um sítio coestimulatório, enquanto na terceira pode apresentar dois ou mais. Adaptado de Maude et al.<sup>7</sup>.

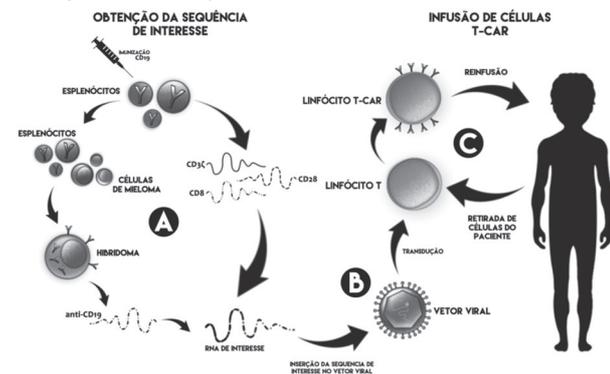


Para a produção do CAR, são utilizados métodos de manipulação genética *in vitro*. Os componentes moleculares são obtidos a partir de esplenócitos previamente imunizados contra o antígeno-alvo, dos quais são isoladas as regiões do mRNA que codificam as proteínas de interesse para a engenharia da molécula, como o CD3 $\zeta$ , o CD8 e o CD28. O domínio extracelular do CAR é obtido através da criação de um hibridoma, do qual são isoladas as regiões que codificam o fragmento de anticorpo contra o *cluster*-alvo. Em seguida, são realizadas sucessivas reações de PCR, a fim de amplificar e fundir os mRNAs, formando a sequência codificante de interesse<sup>1</sup>.

A construção genética é, então, incorporada a vetores virais do tipo lentivirus, responsáveis pela tecnologia de transferência gênica. Os vetores são produzidos em células de empacotamento, onde incorporam a sequência de interesse que, posteriormente, podem ser inseridas através de transdução viral em linfócitos T CD8+ obtidos por aférese do paciente. O RNA é transcrito na forma de DNA devido à atividade da enzima viral transcriptase reversa, integrando-se no genoma da célula hospedeira de maneira estável, o que permite que

os efeitos terapêuticos perdurem por longo prazo<sup>7,27,28</sup>. A Figura 2 esquematiza o processo de bioengenharia da molécula CAR, sua incorporação no linfócito T *ex vivo* e o processo de reinfusão da célula modificada.

**Figura 2** - Processo de manipulação do Receptor Antígeno Quimérico. A) Obtenção da sequência gênica de interesse: A partir de esplenócitos imunizados contra o CD19, são obtidas as regiões codificantes dos componentes moleculares do CAR. Ainda, esplenócitos e células de mieloma são utilizados na formação de um hibridoma, do qual é isolada a região codificante do anticorpo contra o CD19. Os fragmentos obtidos são amplificados e fundidos através de PCR, formando um RNA de interesse. B) O RNA de interesse é incorporado a um vetor lentiviral. C) Linfócitos T CD8+ são coletados do paciente via aférese. *In vitro*, o lentivirus entra em contato com a célula, transduzindo sua sequência gênica. Com a ação da transcriptase reversa, o RNA é transcrito em DNA, integrando-se ao genoma da célula hospedeira, que passa a produzir o receptor sobre sua membrana, podendo ser chamado agora Linfócito T-CAR. O Linfócito T-CAR é reinfundido na circulação sistêmica do paciente



### Efeitos adversos da terapia com células T-CAR

Ocasionalmente, pacientes tratados com células T-CAR podem apresentar sintomas adversos que, todavia, são reversíveis e mais brandos quando comparados com os efeitos das terapias convencionais. Os principais efeitos constatados foram aplasia de células B, síndrome de liberação de citocinas e toxicidade neurológica.

A Aplasia de Células B (ACB) consiste na ausência ou diminuição no número de células B circulantes. É um processo decorrente do ataque dos linfócitos T-CAR contra células normais que também expressam o CD19. Todavia, uma pequena população de células progenitoras de linhagem B é encontrada na medula óssea após o tratamento, garantindo que as células B normais possam ser renovadas após a morte das células T-CAR no organismo<sup>1</sup>. Ainda, o paciente pode receber infusões de imunoglobulinas isoladas por via intravenosa, evitando assim o comprometimento imunológico<sup>29</sup>.

A síndrome da liberação de citocinas (SLC) é um efeito decorrente da ativação de linfócitos T caracterizado pela produção excessiva de citocinas, como interferon- $\gamma$  e interleucina-6, que podem levar a ativação de macrófagos, causando quadros inflamatórios e febris. Por outro lado,

a SLC pode ser um marcador de qualidade do tratamento, indicando que o linfócito T foi ativado corretamente. Além disso, este efeito pode ser controlado através de imunossupressão com corticoides como Tocilizumab, sem que haja prejuízo na expansão das células T-CAR ou redução de sua ação no organismo<sup>30,31</sup>.

Por sua vez, a toxicidade neurológica é um efeito relatado em cerca de 40% dos pacientes nas primeiras semanas após o tratamento, com manifestações através de afasia, alucinações e delírios. O mecanismo de desenvolvimento dos sintomas ainda não foi claramente definido e carece de pesquisas aprofundadas, a fim de determinar meios de prevenção e contenção do quadro. No entanto, após a redução dos sintomas, os pacientes analisados não apresentaram prejuízo neurológico permanente<sup>32,33</sup>.

### Ensaios clínicos: eficácia e perspectivas

A tecnologia de Células T-CAR contra a LLA se mostrou eficaz nos estudos publicados. As pesquisas tiveram início com testes pré-clínicos *in vitro* e em modelos animais e, posteriormente, foram registradas as primeiras fases dos ensaios clínicos com humanos voluntários<sup>34</sup>.

A eficácia do tratamento com células T-CAR contra a LLA em humanos vem se mostrando positiva nos ensaios clínicos, com taxas de quase 95% de remissão completa (RC) da doença. De acordo com Wei et al.<sup>29</sup>, a transferência celular adotiva com T-CAR apresentou taxas de 94,7% de RC em pacientes tratados por um mês nos ensaios clínicos de fase II. Maude et al.<sup>7</sup> registraram taxas de 90% de RC em pacientes adultos e pediátricos, com respostas duradouras que dispensam a necessidade de terapias adicionais. Ainda, outros autores relatam considerável incidência de RC em ensaios clínicos, como Davila et al.<sup>35</sup> com uma taxa de 88% em um grupo de 16 adultos com LLA, bem como Lee et al.<sup>8</sup> que obtiveram 70% de RC em um grupo de 20 crianças e jovens adultos com a doença.

A terapia contra o CD19 também apresentou efeitos benéficos quando aplicada em outros fenótipos leucêmicos, como a leucemia linfóide crônica (LLC), na qual foram registradas taxas de 45% de RC por pelo menos quatro anos<sup>7,36</sup>.

As terapias celulares adotivas através do CAR ainda estão em processo de pesquisa, tanto para avaliar

sua eficácia quanto analisar a possibilidade de efeitos inesperados tardios. É preciso estabelecer um protocolo padrão para o condicionamento e a infusão celular, bem como métodos de controle de toxicidade<sup>29</sup>.

### CONCLUSÃO

As complicações decorrentes dos tratamentos convencionais e a incidência da leucemia linfoblástica aguda, especialmente em crianças, constituíram influências importantes para as pesquisas de novas abordagens terapêuticas antitumorais, dentre as quais a imunoterapia com Células T-CAR apresentou grande destaque nos últimos anos. A atuação do método sobre as células leucêmicas mostrou resultados significativos nos ensaios clínicos abordados neste estudo, com altas taxas de remissão completa da doença, o que indica uma oportunidade de avanço no tratamento desta e de várias outras neoplasias.

Os avanços na engenharia genética foram bastante trabalhados para a manipulação do CAR, levando em consideração que diversos ramos de pesquisa atualmente visam à engenharia de células como forma de expandir as perspectivas na área da saúde. O desenvolvimento de terapias que possibilitam um tratamento mais efetivo contra células cancerígenas é um assunto inovador, que visa substituir ou reduzir o uso de quimioterápicos e radiações. Os estudos estão em andamento até o presente momento.

Apesar dos efeitos colaterais constatados, a Tecnologia de Células T-CAR apresenta maior benefício quando comparada com os métodos de tratamento convencionais, uma vez que os efeitos relatados são reversíveis. A qualidade de vida dos voluntários dos ensaios clínicos teve melhora significativa decorrente da baixa agressividade do tratamento e da alta especificidade contra a célula tumoral, o que torna o assunto instigante para pesquisadores das áreas de imunologia, oncologia e biotecnologia. Acredita-se que, em alguns anos, a terapia celular adotiva com Células T-CAR poderá favorecer um grande número de pacientes em decorrência de seu alto potencial curativo.

### AGRADECIMENTOS

As professoras Dra. Christiane Ap. B. Tarsitano e Dra. Giovanna R. Degasperri, pela orientação na elaboração

do presente trabalho, além da perseverança e confiança para tal. Ao Dr. Renato C. S. Branco, pela elaboração das imagens apresentadas neste trabalho, bem como força e

incentivo durante as pesquisas. Ao professor Dr. Stephen Hyslop pela revisão do conteúdo apresentado em língua inglesa.

## REFERÊNCIAS

1. Davila ML, Kloss CC, Gunset G, Sadelain M. CD19 CAR-targeted T cells induce long-term remission and B Cell Aplasia in an immunocompetent mouse model of B cell acute lymphoblastic leukemia. *PLoS one*. 2013;8(4):e61338.
2. Chen Y, Liu D. Chimeric antigen receptor (CAR)-directed adoptive immunotherapy: a new era in targeted cancer therapy. *Stem cell investigation*. 2014;1:2.
3. Hoffbrand AV, Moss P. Fundamentos em hematologia. Porto Alegre, RS: Artmed; 2012.
4. Ribeiro RC. Leucemia linfóide da criança e do adolescente. In: Zago MA, Falcão RP, Pasquini R. Tratado de hematologia. São Paulo: Atheneu; 2013. p. 391-401.
5. Simões BP. Leucemia linfóide aguda do adulto. In: Zago MA, Falcão RP, Pasquini R. Tratado de hematologia. São Paulo: Atheneu; 2013. p. 373-90.
6. Rapaport SI. Hematologia: introdução. São Paulo. Roca; 1990.
7. Maude SL, Teachey DT, Porter DL, Grupp SA. CD19-targeted chimeric antigen receptor T-cell therapy for acute lymphoblastic leukemia. *Blood*. 2015; 125(26):4017-23.
8. Lee DW, Kochenderfer JN, Stetler-Stevenson M, Cui YK, Delbrook C, Feldman SA, et al. T cells expressing CD19 chimeric antigen receptors for acute lymphoblastic leukaemia in children and young adults: a phase 1 dose-escalation trial. *Lancet*. 2015; 385(9967):517-28.
9. Dantas GKS, Silva LTA, Passos XS, Carneiro CC. Diagnóstico diferencial da leucemia linfóide aguda em pacientes infanto-juvenis. *Rev. da Univ. Vale do Rio Verde*. 2015; 13(2):3-18.
10. Melo JHL. Leucemia linfóide aguda [Monografia]. Recife: Universidade Paulista, 2011.
11. Chauffaille MLLF, Yamamoto M. Classificação das Leucemias Agudas: Citologia, citoquímica, imunofenotipagem, citogenética e genética molecular. In: Zago MA, Falcão RP, Pasquini R. Tratado de hematologia. São Paulo: Atheneu; 2013. Cap 38.
12. Falcão RP, Voltarelli JC, Malmegrim KCR. Ontogênese e Diferenciação do Sistema Linfóide: Dinâmica dos Linfócitos. Imunidade Humoral e Celular. In: Zago MA, Falcão RP, Pasquini R. Tratado de hematologia. São Paulo: Atheneu; 2013. Cap. 6.
13. Spector N. Quimioterapia e radioterapia: recaída, remissão e doença residual mínima. In: Zago MA, Falcão RP, Pasquini R. Tratado de hematologia. São Paulo: Atheneu; 2013. p. 303-12.
14. Chauffaille MLLF. Farmacologia e toxicidade das drogas antineoplásicas: uso terapêutico das citocinas. In: Figueiredo MS, Kerbauy J, Lourenço DM. Hematologia: guias de medicina ambulatorial e hospitalar da Unifesp. São Paulo: Manole; 2011. p. 373-81.
15. Oliveira TM. Avaliação clínica e de citocinas séricas de pacientes submetidas à imunoterapia com células dendríticas em neoplasias pré-invasivas e invasivas [dissertação]. Uberaba, MG: Universidade Federal do Triângulo Mineiro; 2011.
16. Giacomini GMH. Técnicas e perspectivas em imunoterapia do câncer. *Saúde e Pesquisa*. 2012; 5(3):567-78.
17. McCarthy EF. The toxins of William B. Coley and the treatment of bone and soft-tissue sarcomas. *Iowa Orthop J*. 2006; 26:154-8.
18. Abbas AK, Lichtman AH, Pillai S. Imunologia celular e molecular. Rio de Janeiro: Elsevier; 2008.
19. Couzin-Frankel J. Cancer immunotherapy. *Science*. 2013; 342(6165):1432-3.
20. Kershaw MH, Westwood JA, Darcy PK. Gene-engineered T cells for cancer therapy. *Nature reviews Cancer*. 2013; 13(8):525-41.
21. Kalos M, Levine BL, Porter DL, Katz S, Grupp SA, Bagg A, et al. T cells with chimeric antigen receptors have potent antitumor effects and can establish memory in patients with advanced leukemia. *Sci Transl Med*. 2011 Aug 10; 3(95):95ra73.
22. Maus MV, Grupp SA, Porter DL, June CH. Antibody-modified T cells: CARs take the front seat for hematologic malignancies. *Blood*. 2014; 123(17):2625-35.
23. Srivastava S, Riddell SR. Engineering CAR-T cells: Design concepts. *Trends in immunology*. 2015; 36(8):494-502.
24. Wang Z, Guo Y, Han W. Current status and perspectives of chimeric antigen receptor modified T cells for cancer treatment. *Protein Cell*. 2017 Dec; 8(12):896-925.
25. Gamberale R. CAR T cells: Fundamentos de esta prometedora terapia imunológica. *Hematologia*. 2014; 18:28-31.
26. Davila ML, Brentjens R, Wang X, Riviere I, Sadelain M. How do CARs work? Early insights from recent clinical studies targeting CD19. *Oncoimmunology*. 2012;1(9):1577-83.
27. Jensen MC, Riddell SR. Designing chimeric antigen receptors to effectively and safely target tumors. *Curr Opin Immunol*. 2015 Apr; 33:9-15.
28. Lukashov AN, Zamyatnin AA, Jr. Viral vectors for gene therapy: current state and clinical perspectives. *Biochemistry Biokhimiia*. 2016; 81(7):700-8.
29. Wei G, Ding L, Wang J, Hu Y, Huang H. Advances of CD19-directed chimeric antigen receptor-modified T cells in refractory/relapsed acute lymphoblastic leukemia. *Exp Hematol Oncol*. 2017 Apr 14;6:10.
30. Grupp SA, Kalos M, Barrett D, Aplenc R, Porter DL, Rheingold SR, et al. Chimeric antigen receptor-modified T cells for acute lymphoid leukemia. *N Engl J Med*. 2013; 368(16):1509-18.
31. Lee DW, Gardner R, Porter DL, Louis CU, Ahmed N, Jensen M, et al. Current concepts in the diagnosis and management of cytokine release syndrome. *Blood*. 2014; 124(2):188-95.
32. Davila ML, Sadelain M. Biology and clinical application of CAR T cells for B cell malignancies. *Int J Hematol*. 2016 Jul; 104(1):6-17
33. Frey NV, Porter DL. CAR T-cells merge into the fast lane of cancer care. *Am J Hematol*. 2016; 91(1):146-50.
34. Barrett DM, Zhao Y, Liu X, Jiang S, Carpenito C, Kalos M, et al. Treatment of advanced leukemia in mice with mRNA engineered T cells. *Human Gene Therapy*. 2011; 22(12):1575-86.
35. Davila ML, Riviere I, Wang X, Bartido S, Park J, Curran K, et al. Efficacy and toxicity management of 19-28z CAR T cell therapy in B cell acute lymphoblastic leukemia. *Sci Transl Med*. 2014; 6(224):224ra25
36. Porter DL, Levine BL, Kalos M, Bagg A, June CH. Chimeric antigen receptor-modified T cells in chronic lymphoid leukemia. *N Engl J Med*. 2011; 365(8):725-33.

Recebido em: 25/05/2017

Aceito em: 22/09/2017