AVANÇOS E DESAFIOS EM PACIENTES VETERINÁRIOS

João Gabriel Oliveira Nunes

E-mail: joaogbiomed@gmail.com

Resumo

Este artigo revisa a literatura sobre o uso de terapia com células CAR-T em animais, especialmente em cães e gatos, explorando os avanços e desafios dessa abordagem na medicina veterinária. A revisão da literatura foi conduzida utilizando os termos "CAR-T Cell and Veterinary" em bancos de dados acadêmicos, com critérios de inclusão específicos para terapias CAR-T em cães e gatos. Sete artigos foram identificados, destacando a segurança e a eficácia relativa da terapia em cães com linfoma, bem como os desafios relacionados à produção das células, custos e gerenciamento de efeitos colaterais. Embora promissora, a terapia com células CAR-T enfrenta desafios significativos em sua implementação na medicina veterinária, incluindo custos elevados e complexidade técnica. No entanto, os estudos em andamento oferecem esperança para o desenvolvimento de tratamentos revolucionários para câncer em animais.

Palavras-chave: Car-t Cells, Pacientes caninos, Pacientes felinos, Oncohematologia, Patologia Veterinária

Abstract

This article reviews the literature on the use of CAR-T cell therapy in animals, especially in dogs and cats, exploring the advances and challenges of this approach in veterinary medicine. The literature review was conducted using the terms "CAR-T Cell and Veterinary" in academic databases, with specific inclusion criteria for CAR-T therapies in dogs and cats. Seven articles were identified, highlighting the relative safety and efficacy of the therapy in dogs with lymphoma, as well as challenges related to cell production, costs, and management of side effects. Although promising, CAR-T cell therapy faces significant challenges in its implementation in veterinary medicine, including high costs and technical complexity. However, ongoing studies offer hope for developing revolutionary treatments for cancer in animals.

Keywords: Car-t Cells, Canine patients, Feline patients, Oncohematology, Veterinary Pathology

Introdução

Na resolução n.º154/2008 do Conselho Federal de Biomedicina, uma das atividades que o biomédico pode atuar é na análise clínica veterinária. O profissional realizará análises de materiais biológicos de animais pequenos e grandes porte [1].

Nos conhecimentos da Onco-Hematologia clínica, disciplina de tratamentos de leucemias e linfomas [2], uma das terapias recentes são os receptores do antígeno quimérico das células T (CAR-T Cells), que vem trazendo bons resultados no

tratamento de células B tumorais malignas, como mieloma múltiplo, leucemia linfoblástica aguda (LLA) e linfoma célula B, do mesmo modo, leucemias de séries mielóides, como leucemia mielóide aguda (LMA) [3].

Simplificando, é selecionado um antígeno para um receptor quimérico do próprio linfócito T se ligar. Assim que o receptor se liga ao antígeno selecionado, ativa o linfócito T para a liberação de citocinas, a fim de degradar a célula [4].

Embora esses produtos mostraram resultados satisfatórios em ensaios clínicos, e já foram aprovados alguns modelos para serem usados comercialmente, a terapia de CAR-T Cells ainda carece de eficácia em outros tumores, como tumores sólidos, além de ser um tratamento altamente custoso. Para tal, ainda são necessários mais estudos sobre essa terapia, como uso de células alogênicas, pois atualmente somente são produzidos células autólogas, do mesmo paciente [5, 6].

Objetivo

Portanto, como ambas das áreas são papel de atuação do biomédico, reconhecendo ser possível utilizar a Onco-Hematologia clínica na Patologia clínica veterinária, e os efeitos da terapia da CAR-T Cell se consolidando e discutido, o objetivo deste artigo é conduzir uma revisão de literatura, a fim de definir os avanços e desafios encontrados.

Metodologia

No presente artigo foram realizadas pesquisas de artigos em bancos de dados como Pubmed, Scielo e Google Acadêmico utilizando os seguintes termos de busca: *CAR-T Cell and Veterinary*.

Critérios de inclusão	Critérios de exclusão
Terapia CAR-T Cells para uso veterinário	Terapia CAR-T Cells em animais de biotério para uso humano
Pacientes caninos e felinos	Terapia CAR-Nk
Artigos finalizados	Pacientes convencionais de uso em laboratórios
	Pacientes não domésticos
	Artigos inacabados
	Artigos incompletos
	Artigos sem desfecho clínico
	Estudos *in vitro* apenas

Tabela 1- Critérios de inclusão e Critérios de exclusão utilizadas para formulação dessa revisão de literatura

Os critérios de inclusão foram terapias de CAR-T Cells voltados a paciente caninos e felinos. Critérios de exclusão são artigos que abordam o uso de animais não domésticos, ou, animais convencionais de laboratório como alvo da terapia, artigos inacabados, ou sem resultado clínico significativo.

Resultados e Discussão

Os artigos utilizados estão representados na Tabela 2. Foram utilizados 7 artigos que atendessem os critérios de inclusão e exclusão com os termos de busca definidos. Embora, o número amostral não seja relativamente grande, é suficiente para o objetivo desse artigo

Autores	Título	Animal
Motchel *et al.*	CAR T Cell Immunotherapy in Human and Veterinary Oncology: Changing the Odds Against Hematological Malignancies	Caninos
Cockey *et al.*	Racing CARs to veterinary immuno-oncology	Caninos
Sakai *et al.*	Optimization of canine CD20 chimeric antigen receptor T cell manufacturing and in vitro cytotoxic activity against B cell lymphoma	Caninos
Panjwani *et al.*	Establishing a model system for evaluating CAR T cell therapy using dogs with spontaneous diffuse large B cell lymphoma	Caninos
Zhang *et al.*	B7-H3 Specific CAR T Cells for the Naturally Occurring, Spontaneous Canine Sarcoma Model	Caninos
Atherton *et al.*	Case Report: Clinical and Serological Hallmarks of Cytokine Release Syndrome in a Canine B Cell Lymphoma Patient Treated With Autologous CAR-T Cells	Caninos
Panjwani *et al.*	Feasibility and Safety of RNA-transfected CD20-specific Chimeric Antigen Receptor T Cells in Dogs with Spontaneous B Cell Lymphoma	Caninos

Tabela 2- Artigos utilizados na revisão

Estima-se que mais de 4,2 milhões de cães nos EUA são diagnosticados com câncer a cada ano. A epidemiologia do câncer canino, no entanto, não está bem definida na literatura. O linfoma, com uma taxa de incidência alta, é um dos cânceres caninos mais amplamente tratados, devido à sua ocorrência frequente e resposta tipicamente robusta aos quimioterápicos [7].

Receptores quiméricos (CAR) são frequentemente adicionados às células T primárias do paciente usando um lentivírus ou γ-retrovírus para replicação. No entanto, para evitar a carga viral aos animais, foi utilizado um CAR com RNA

mensageiro do próprio animal. Porém, a expressão de CAR pela entrega de mRNA possui um efeito transitório e reduz após 14 dias. A expressão transitória de CAR pode ser uma vantagem para a terapia veterinária, pois limitará a reação imunológica. Independentemente de qual CAR seja desenvolvido, as sequências devem ser correspondentes à espécie o máximo possível para reduzir as respostas imunes anti-CAR do hospedeiro [8].

Um desafio comumente encontrado é a produção de células para uso clínico, ao requerer validação de procedimentos operacionais padrão e reagentes e materiais em todas as etapas de fabricação, com certificados individuais de análise. Pode não haver soro específico para a espécie disponível comercialmente para aplicações veterinárias, como também, suplementos de citocinas para espécies veterinárias são limitados [7,8].

Portanto, reagentes validados com reatividade cruzada podem ser necessários. Por exemplo, células podem ser modificadas para expressar tanto marcador humano e canino. A co-cultura de células T caninas com esses marcadores resultou em uma expansão de quase seis vezes e conseguiu estimular a proliferação em células T, uma etapa importante na terapia. As semelhanças biológicas entre o câncer canino e humano fornecem um impulso para o estudo de novos terapêuticos em ensaios clínicos em paciente caninos [7,8].

O primeiro ensaio clínico da CAR-T em pacientes caninos entregou um CAR-T cell RNA mensageiro CD20. O CAR continha um domínio anti-CD20 canino, e domínio de sinalização humana. Um paciente canino com linfoma de células B espontâneo recidivado foi infundido em três doses separadas e teve uma redução no número de células CD20+ sem eventos adversos. Outro estudo de acompanhamento tratou o linfoma com o mesmo CAR anti-CD20, mas com domínios de sinalização caninos, e não houve nenhum evento adverso documentado, mas essa terapia teve menor eficácia e a persistência in vivo das células foi pobre, com desenvolvimento de anticorpos ao CAR [7,8,9,10].

Dois cães saudáveis foram então infundidos com outros marcadores em células autólogas. A infusão fresca induziu uma toxicidade de grau 2, mas nenhum outro evento adverso foi observado, enquanto o receptor de células congeladas teve uma reação alérgica 67 dias depois, provavelmente não relacionada à infusão. Juntos, esses resultados mostram que as células T CAR caninas são seguras e bem toleradas[8,11].

O alto custo dos tratamentos humanos atuais, sem incluir hospitalização e outros custos, levanta um importante desafio potencial para a acessibilidade dessa tecnologia para uso em paciente caninos [7].

Outro desafio é a recorrência da Síndrome da Liberação de Citocinas (CRS, na sigla em inglês) após terapia autóloga com células CAR-T, como ocorreu em paciente canino diagnosticado com linfoma de células B de alto grau recidivante. A análise das citocinas séricas no paciente revelou muitas semelhanças com o perfil de CRS em humanos. Notavelmente, elevações rápidas em IL-6, MCP-1, IFNγ e IL-10, que foram implicadas na CRS após terapia autóloga com células CAR-T em pacientes humanos [12]

Quando o cão se tornar um modelo mais reconhecido para imunoterapia pré-clínica contra o câncer, o conhecimento dos subconjuntos de células T no cérebro, importantes para o tratamento, melhorará. Esse desenvolvimento, juntamente com a disponibilidade crescente de reagentes para elucidar os subconjuntos fenotípicos e funcionais das células imunológicas, avançará o campo para ambas as espécies[13].

Conclusão

A terapia com células CAR T mostra-se altamente promissora no tratamento de malignidades hematológicas. No entanto, desafios como complexidade, custos e o manejo das toxicidades após o tratamento representam obstáculos significativos para sua implementação em larga escala. Embora os estudos clínicos veterinários estejam em estágios iniciais, o potencial para terapias revolucionárias é alto, apesar dos desafios de infraestrutura e custo na medicina veterinária. Estratégias para desenvolver terapias mais toleráveis, juntamente com a pesquisa em modelos animais, oferecem perspectivas emocionantes tanto para a medicina humana quanto para a veterinária.

Referências Bibliográficas

1-**Resolução nº 154, de 04 de abril de 2008**. **Conselho Federal de Biomedicina**, [s.d.]. Disponível em: <https://cfbm.gov.br/resolucao-no-154-de-04-de-abril-de-2008-2/>. Acesso em: 26 maio. 2024

2-**Hemato-oncologia molecular**. Disponível em: <https://www.gov.br/inca/pt-br/assuntos/pesquisa/pesquisa-basica-e-experimental/hemato-oncologia-molecular/hemato-oncologia-molecular>. Acesso em: 26 maio. 2024.

3-SHAHZAD, M. et al. Outcomes with chimeric antigen receptor t-cell therapy in relapsed or refractory acute myeloid leukemia: a systematic review and meta-analysis. **Frontiers in Immunology**, v. 14, p. 1152457, 24 abr. 2023.

4-OKUMA, A. Generation of CAR-T Cells by Lentiviral Transduction. Em: KOJIMA, R. (Ed.). **Mammalian Cell Engineering**. New York, NY: Springer US, 2021. v. 2312p. 3–14.

5-BARROS, L. R. C. et al. Systematic Review of Available CAR-T Cell Trials around the World. **Cancers**, v. 14, n. 11, p. 2667, 27 maio 2022.

6-DEPIL, S. et al. 'Off-the-shelf' allogeneic CAR T cells: development and challenges. **Nature Reviews Drug Discovery**, v. 19, n. 3, p. 185–199, mar. 2020.

7-MOCHEL, J. P. et al. CAR T Cell Immunotherapy in Human and Veterinary Oncology: Changing the Odds Against Hematological Malignancies. **The AAPS Journal**, v. 21, n. 3, p. 50, maio 2019.

8-COCKEY, J. R.; LEIFER, C. A. Racing CARs to veterinary immuno-oncology. **Frontiers in Veterinary Science**, v. 10, p. 1130182, 17 fev. 2023.

9-SAKAI, O.; IGASE, M.; MIZUNO, T. Optimization of canine CD20 chimeric antigen receptor T cell manufacturing and in vitro cytotoxic activity against B- cell lymphoma. **Veterinary and Comparative Oncology**, v. 18, n. 4, p. 739–752, dez. 2020.

10-PANJWANI, M. K. et al. Feasibility and Safety of RNA-transfected CD20-specific Chimeric Antigen Receptor T Cells in Dogs with Spontaneous B Cell Lymphoma. **Molecular Therapy**, v. 24, n. 9, p. 1602–1614, set. 2016.

11-ZHANG, S. et al. B7-H3 Specific CAR T Cells for the Naturally Occurring, Spontaneous Canine Sarcoma Model. **Molecular Cancer Therapeutics**, v. 21, n. 6, p. 999–1009, 1 jun. 2022.

12-ATHERTON, M. J. et al. Case Report: Clinical and Serological Hallmarks of Cytokine Release Syndrome in a Canine B Cell Lymphoma Patient Treated With Autologous CAR-T Cells. **Frontiers in Veterinary Science**, v. 9, p. 824982, 11 jul. 2022.

13-PANJWANI, M. K. et al. Establishing a model system for evaluating CAR T cell therapy using dogs with spontaneous diffuse large B cell lymphoma. **Oncoimmunology**, v. 9, n. 1, p. 1676615, 23 out. 2019.