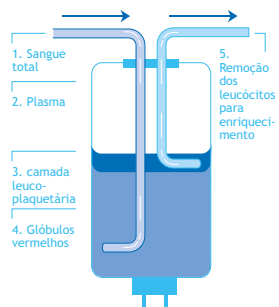


O PERCURSO DAS CÉLULAS CAR-T

1. AFÉRESE

As células mononucleares constituem a resposta imunitária do doente. São colhidas a partir do sangue periférico.¹

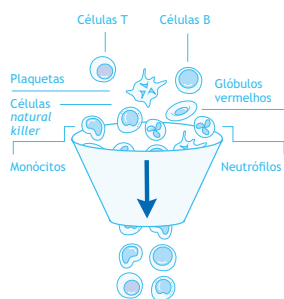
O material de aférese poderá ser criopreservado antes do transporte para as instalações de produção.



2. ENRIQUECIMENTO DAS CÉLULAS T

Nas instalações de produção, as células do doente serão sujeitas a uma etapa de enriquecimento, que poderá ser realizada através de vários métodos, tais como a centrifugação, fracionamento e utilização de esferas imunomagnéticas.^{2,3} As populações de células específicas, tais como as células T CD4+ e CD8+ podem ser subsequentemente selecionadas.³ O método utilizado também poderá depender da necessidade de remover células tumorais circulantes (blastos) da amostra.⁴

As células T podem ser utilizadas diretamente ou criopreservadas para utilização futura.²



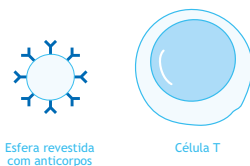
3. ATIVAÇÃO DAS CÉLULAS T

Em seguida, as células T enriquecidas têm de ser ativadas para aumentar a eficiência do processo de transdução, o que introduz o CAR no interior das células T isoladas. Tal exige a ativação sustentada e suficiente, que pode ser obtida através de diferentes processos, incluindo:²

- A ativação de base celular através das células dendríticas do doente, que processam o antígeno tumoral e o apresentam às células T para estimular uma forte resposta imunitária

- As esferas revestidas com anticorpos para estimular as células T

- Os anticorpos monoclonais anti-CD3/CD28 que apoiam a ativação das células T na presença da interleucina-2 (IL-2)

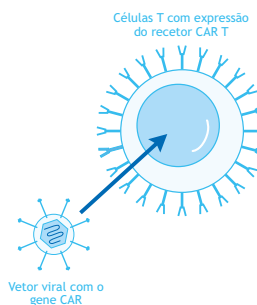


4. TRANSDUÇÃO GENÉTICA

O gene CAR que ataca as células tumorais do doente pode ser introduzido nas células T ativadas através de diferentes abordagens:²

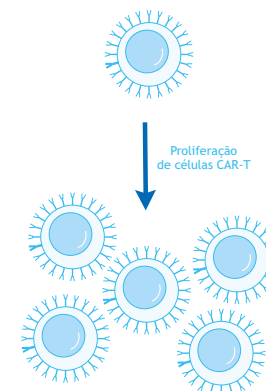
- vetores retrovirais, estáveis e que resultam numa elevada expressão genética

- vetores lentivirais, estáveis com uma elevada expressão genética e que poderão apoiar a transdução de células que não se dividam



5. EXPANSÃO DAS CÉLULAS T

As recém-criadas células CAR-T passam pela sua primeira expansão *ex vivo*, geralmente na presença de fatores de crescimento, como a IL-2, até se obter um número suficiente de células CAR-T.²



6. FORMULAÇÃO E CONTROLO DE QUALIDADE

As células CAR-T são lavadas, concentradas, formuladas em termos de dosagem e criopreservadas.^{2,3} Os ensaios de controlo de qualidade do medicamento controlo células CAR-T avaliam:²

- O aspeto e a identidade do medicamento
- Dose e potência
- Pureza

O medicamento é autorizado após a conclusão com êxito de todos os ensaios e verificações de garantia de qualidade. O medicamento fica então pronto para o transporte de regresso ao hospital.

É administrada a quimioterapia de depleção linfocitária aos doentes para os preparar para a perfusão de células CAR-T. Isto permite a expansão e a atividade antitumoral das células CAR-T após a infusão.¹⁴ Após alguns dias, as células CAR-T são descongeladas e administradas ao doente.



1. McGuirk J, et al. *Cytotherapy* 2017; 19:1015-1024. 2. Wang X & Rivière I. *Mol Ther Oncolytics* 2016; 3:16015. 3. Levine BL, et al. *Mol Ther Methods Clin Dev* 2017; 4:92-101. 4. Stronck DF, et al. *J Transl Med* 2017; 15:59. 5. Gattinoni L, et al. *J Exp Med* 2005; 202:907-912. 6. Klebanoff CA, et al. *Trends Immunol* 2005; 26:111-117. CAR: recetor de antígeno quimérico