

EVOLUÇÃO DAS GERAÇÕES DA TERAPIA CAR-T: AVANÇOS, DESAFIOS E PERSPECTIVAS FUTURAS

EVOLUTION OF CAR-T THERAPY GENERATIONS: ADVANCES, CHALLENGES, AND FUTURE PERSPECTIVES

¹ROSA, Marcely Diner dos Reis; ²GATTI, Luciano Lobo; ³SILVA, Douglas Fernandes

^{1a3}Departamento de Biomedicina – Centro Universitário das Faculdades Integradas de Ourinhos – Unifio/FEMM Ourinhos, SP, Brasil

RESUMO

A imunoterapia está revolucionando o tratamento do câncer, com avanços notáveis alcançados ao longo do tempo, especialmente na terapia com células CAR-T. Esta técnica inovadora reprograma as células do sistema imunológico para atacar diretamente as células cancerígenas, emergindo como uma abordagem promissora e transformadora no combate contra o câncer. Sua relevância é destacada pela capacidade de oferecer uma resposta altamente direcionada contra uma variedade de tipos de câncer, incluindo aqueles que são resistentes aos tratamentos tradicionais. Cada nova geração de células CAR-T trouxe inovações que visam superar as limitações das gerações anteriores, incluindo maior persistência, eficácia aprimorada e redução de efeitos adversos. Essa evolução tem contribuído para o tratamento mais eficaz de diferentes tipos de câncer, com promissora expansão para novas indicações e aperfeiçoamento das estratégias terapêuticas.

Palavras-chave: CAR- T; Terapia; Imunoterapia; Gerações CAR T.

ABSTRACT

Immunotherapy is revolutionizing cancer treatment, with notable advancements achieved over time, especially in CAR-T cell therapy. This innovative technique reprograms immune system cells to directly target cancer cells, emerging as a promising and transformative approach in the fight against cancer. Its relevance is highlighted by its ability to provide a highly targeted response against various types of cancer, including those resistant to traditional treatments. Each new generation of CAR-T cells has introduced innovations aimed at overcoming the limitations of previous generations, including enhanced persistence, improved efficacy, and reduced adverse effects. This evolution has contributed to more effective treatment of different cancer types, with promising expansion into new indications and refinement of therapeutic strategies.

Keywords: CAR-T; Therapy; Immunotherapy; CAR-T Generations.

INTRODUÇÃO

A imunoterapia é uma conquista médica muito recente, originada há algumas décadas. No entanto, desde o antigo Egito, há cerca de 3.000 anos, até ao início do século XIX, houve vários relatos anedóticos de tumores que desapareceram espontaneamente ou após uma infecção com febre alta concomitante. As primeiras incursões científicas na modulação do sistema imunológico de pacientes com o objetivo de combater o câncer podem ser atribuídas a dois médicos alemães, Fehleisen e Busch, que independentemente observaram uma notável regressão tumoral após uma infecção por erisipela. (Dobosz; Dzieciatkowski, 2019).

No prosseguimento de seus estudos, o médico Fehleisen identificou corretamente a cepa bacteriana responsável pela erisipela e pela regressão tumoral como *Streptococcus pyogenes*. Avanços subsequentes foram impulsionados por William Bradley Coley, conhecido como o "Pai da Imunoterapia", que, em 1891, realizou a primeira tentativa de utilizar o sistema imunológico para tratar câncer ósseo (Dobosz; Dzieciatkowski, 2019).

O sistema imunológico desempenha papel crucial na defesa contra invasores como vírus e bactérias, sendo composto por diversas células especializadas, cada uma com funções específicas (Otoni, 2022). Segundo os mesmos autores, os leucócitos, que incluem linfócitos, neutrófilos e macrófagos, são essenciais na identificação e eliminação de agentes invasores. Por exemplo, os linfócitos produzem anticorpos capazes de reconhecer e neutralizar patógenos, enquanto macrófagos e neutrófilos atuam diretamente na resposta imune celular.

O câncer, caracterizado por tumores malignos devido à rápida multiplicação celular anômala, é uma das principais causas de morte globalmente, com aproximadamente 10 milhões de óbitos em 2020 (Atty Jeane Tomazelli, 2020). Na terapêutica de 1949, a imunoterapia emergiu como uma abordagem eficaz, abrangendo modalidades como inibidores de checkpoints imunológicos, anticorpos monoclonais, vacinas anticâncer, transferência celular adotiva e uso de citocinas (Falçoni Júnior, 2020).

A imunoterapia estimula uma resposta imune específica contra células tumorais, visando inibir e destruir o câncer de forma direcionada, minimizando danos ao organismo. Ao contrário de tratamentos convencionais, mobiliza o sistema imunológico para reconhecer e combater tumores, resultando em menos efeitos colaterais e perfil de segurança satisfatório. Com o avanço na compreensão da imunologia tumoral e desenvolvimento tecnológico contínuo, a imunoterapia tem potencial para ser fundamental no tratamento do câncer, oferecendo novas perspectivas para o manejo eficaz dessa doença devastadora. (Dobosz; Dzieciatkowski, 2019).

Em 2010, dois pacientes diagnosticados com leucemia linfoblástica crônica avançada participaram voluntariamente do pioneiro ensaio clínico de terapia CAR-T na Faculdade de Medicina da Universidade da Pensilvânia (Kalos et al., 2011). Para tanto, a terapia com células CAR-T transformou significativamente a abordagem terapêutica da imunoterapia no combate a cânceres do sangue e do sistema linfático,

mostrando-se eficaz ao modificar geneticamente os linfócitos T para reconhecer e eliminar células tumorais independentemente do Complexo Principal de Histocompatibilidade (MHC) (Huang et al., 2023).

O objetivo deste estudo foi investigar, por meio da literatura atualizada, a eficácia das células CAR-T no tratamento de pacientes com câncer e avaliar o papel do profissional biomédico na implementação e monitoramento dessa terapia inovadora, destacando sua importância no avanço da medicina e na melhoria da saúde da população.

METODOLOGIA

Este estudo foi realizado através de uma revisão da literatura entre os meses janeiro de 2024 e julho de 2024, na qual foram meticulosamente escolhidos estudos após uma pesquisa abrangente realizada em várias bases de dados eletrônicas, incluindo *PubMed* (Biblioteca Nacional de Medicina), *Lilacs* (literatura latino-americana e do Caribe em Ciências da Saúde), *Scielo* (Scientific Electronic Library Online) e Google Acadêmico.

A pesquisa nos bancos de dados foi realizada entre dezembro de 2023 e maio de 2024 e com o tema central: “Evolução das Gerações da Terapia CAR-T: Avanços, Desafios e Perspectivas Futuras”. Os termos-chave utilizados para a busca incluíram: “terapia com células CAR-T”, “imunoterapia”, “Células CAR-T”. As palavras-chave mencionadas foram combinadas com termos relevantes, tais como aplicação clínica, diagnóstico molecular, tratamento de doenças genéticas e genômicas, a fim de fornecer uma visão abrangente das inovações em tecnologias genéticas na área da saúde e sua relação com o campo biomédico.

Para o desenvolvimento da pesquisa foram utilizados artigos selecionados de revistas de acordo com o tema citado anteriormente, publicados em inglês, português e espanhol, de 2018 a 2024. Artigos não relevantes ao tema proposto que abordassem novas tecnologias na área de genética, foram rejeitados.

DESENVOLVIMENTO

A terapia CAR-T surgiu como uma inovação no tratamento de cânceres como leucemias e linfomas refratários. Este estudo explorou os fundamentos científicos, os avanços tecnológicos e os progressos clínicos que moldaram essa abordagem. No

entanto, desafios significativos persistem, incluindo toxicidades associadas ao tratamento, custos elevados e a necessidade de melhorar a eficácia e a durabilidade das respostas terapêuticas. Esta pesquisa destacou a importância contínua de investigar e desenvolver novas estratégias para superar esses desafios e ampliar o potencial terapêutico da terapia CAR-T (Khan et al., 2024; Uscanga-Palomeque et al., 2023). Isso inclui avanços na tecnologia CAR-T, exploração de novos alvos antigênicos, otimização dos regimes de tratamento e identificação de estratégias para mitigar as toxicidades. Além disso, segundo Daltro et al. 2024 (Daltro Amanda, 2024) a implementação bem-sucedida da terapia CAR-T requer uma abordagem multidisciplinar, envolvendo profissionais biomédicos e colaborações entre pesquisadores, profissionais de saúde, órgãos reguladores e a indústria farmacêutica. Também é essencial considerar questões éticas, sociais e econômicas relacionadas ao acesso equitativo a essas terapias inovadoras.

A REVOLUÇÃO DA TERAPIA CAR-T NO TRATAMENTO DE CÂNCER

A terapia CAR-T (Células T com Receptor de Antígeno Quimérico) representa um avanço revolucionário no tratamento do câncer. Essa técnica possibilita a reprogramação das células imunológicas do próprio paciente para identificar e atacar seletivamente as células cancerosas (Kufel; Lewandowski, 2023).

De acordo com Zhang *et al.* (Zhang et al., 2017), em um estudo publicado no Biomarker Research (2017), a relevância da terapia CAR-T reside na sua capacidade de oferecer uma abordagem altamente específica e eficaz contra diversos tipos de câncer, especialmente aqueles que não respondem aos tratamentos convencionais como quimioterapia e radioterapia. Além disso, essa terapia apresenta potencial para tratamentos de longo prazo com menor incidência de efeitos colaterais em comparação com as opções tradicionais.

Resultados promissores têm sido observados em pacientes com leucemia e linfomas refratários, com taxas significativas de resposta e, em alguns casos, alcançando remissão completa da doença. A seguir, será apresentada uma revisão detalhada sobre esta tecnologia avançada e inovadora (Kufel; Lewandowski, 2023).

CÉLULAS CAR-T: A NOVA ABORDAGEM NO TRATAMENTO DE CÂNCER

Segundo Roberto C. Sterner (Roberto C Sterner, 2021), a terapia CAR-T é eficaz contra diferentes tipos de câncer, incluindo Leucemia Linfoblástica Aguda, Linfoma Difuso de Grandes Células B (LDGCB) e Mieloma Múltiplo (MM). Inicialmente desenvolvida para tratar LLA, um câncer das células brancas do sangue que afeta principalmente crianças e jovens adultos, essa tecnologia também se mostrou promissora no tratamento do LDGCB, uma forma agressiva de linfoma não-Hodgkin, especialmente em pacientes não responsivos a tratamentos convencionais. O MM, um câncer de células plasmáticas na medula óssea, também é um alvo emergente para a terapia CAR-T.

O antígeno CD19 é frequentemente utilizado como alvo para terapia CAR-T na LLA, enquanto o BCMA é investigado como alvo para o MM. A Leucemia Mieloide Aguda (LMA), embora menos comum que a LLA, também está sendo explorada como um potencial alvo para terapia CAR-T em estudos clínicos (Roberto C Sterner, 2021).

Pesquisas recentes por Li *et al.* (Li et al., 2023), resultaram na criação de células CAR-T direcionadas ao CD38 para combater o MM, mostrando alta citotoxicidade contra células cancerígenas em testes *in vitro* e *in vivo*. Os autores Magnani et al. (Magnani et al., 2023) investigaram técnicas não virais para controlar as células CAR-T e evitar a rejeição do enxerto em pacientes com LMA. Além disso, já em 2014 o autores Philip B *et al.* (2014) desenvolveram um gene marcador/suicida, RQR8, que pode ser usado para seleção e eliminação seletiva de células T modificadas.

A busca por novos alvos moleculares como CD38, CD138, SLAMF7 e GPRC5D é crucial para o desenvolvimento de terapias eficazes contra o MM refratário/recidivante usando células CAR-T. Esses alvos específicos em células cancerígenas, mas não em células normais, oferecem potencial para tratamentos mais eficazes. Estratégias como células CAR-T multivalentes e combinações terapêuticas estão sendo exploradas para melhorar a eficácia e superar desafios de resistência à terapia (Yang et al., 2019).

GERAÇÕES DE CÉLULAS: CAR-T

As células CAR-T, derivadas de linfócitos T CD8+ do próprio paciente e geneticamente modificadas para reconhecer antígenos tumorais, têm evoluído ao longo de cinco gerações (Uscanga-Palomeque et al., 2023).

GERAÇÃO 1

A primeira geração de células CAR-T foi inicialmente bem-sucedida, demonstrando eficácia contra antígenos específicos como o CD19 em linfomas e leucemias. No entanto, logo se revelaram limitadas: essas células T frequentemente sofriam exaustão rápida pós-ativação, resultando em respostas antitumorais de curta duração. Além disso, sua capacidade de expansão e persistência no corpo do paciente frequentemente não eram suficientes para manter uma resposta antitumoral eficaz ao longo do tempo (Kershaw et al., 2006).

GERAÇÃO 2

A segunda geração de células CAR-T representou um avanço significativo ao incorporar domínios coestimulatórios como CD28 ou 4-1BB. Esses domínios melhoraram consideravelmente a eficácia antitumoral e a persistência das células, prolongando sua sobrevivência, estimulando sua expansão e aprimorando sua capacidade de combater o tumor. Como resultado, as células CAR-T da segunda geração apresentaram resultados clínicos superiores, especialmente em termos de remissão sustentada em pacientes com leucemia e linfoma (Zhong et al., 2010)

GERAÇÃO 3

A terceira geração de células T CAR-T foi desenvolvida com a adição de ainda mais domínios coestimulatórios, além dos já presentes na segunda geração. O objetivo era intensificar ainda mais a ativação e a função efetora das células T CAR-T, visando respostas antitumorais mais robustas e duradouras. Embora algumas abordagens de terceira geração tenham mostrado benefícios promissores em estudos pré-clínicos, desafios persistem, como o potencial aumento da toxicidade relacionada à ativação excessiva das células T (Savoldo et al., 2011).

GERAÇÃO 4

As células da quarta geração, também conhecidas como células T "armadas", foram projetadas para aumentar ainda mais sua potência e especificidade contra o tumor. Além de expressar o CAR e os domínios coestimulatórios, essas células são modificadas para secretar moléculas imunomoduladoras, como IL-12 ou fatores de crescimento. Essas moléculas adicionais visam criar um ambiente tumoral mais favorável à ativação e expansão das células T CAR-T, além de recrutar outras células do sistema imunológico para combater o tumor (Tokarew et al., 2019).

GERAÇÃO 5

A quinta geração de células CAR-T representa a vanguarda da engenharia celular, buscando melhorar ainda mais a precisão, eficácia e segurança do tratamento. Estratégias incluem a incorporação de sensores para modular a atividade das células CAR-T em resposta a sinais específicos do microambiente tumoral, além do desenvolvimento de interruptores de segurança para controlar a atividade das células CAR-T e reduzir o risco de toxicidade sistêmica. Essas inovações estão sendo desenvolvidas com o objetivo de oferecer uma terapia altamente eficaz para pacientes com cânceres que resistem aos tratamentos convencionais (Glienke et al., 2022).

DESAFIOS, LIMITAÇÕES E O PAPEL DO BIOMÉDICO

A terapia CAR-T apresenta riscos e efeitos citotóxicos após a infusão, porém esses efeitos são gerenciáveis e aceitáveis dada a magnitude dos benefícios esperados. A determinação precisa da dose de infusão é crucial para minimizar os efeitos adversos. Avanços contínuos na pesquisa são essenciais para melhorar a segurança, reduzir custos e aumentar a acessibilidade dessa terapia. O desenvolvimento de novos vetores CAR-T pode melhorar ainda mais a viabilidade e os resultados do tratamento. A mortalidade associada aos estudos é baixa e não está relacionada diretamente à terapia, destacando a promissora viabilidade da imunoterapia CAR-T como uma intervenção terapêutica (Soares William, 2018). Para garantir a eficácia e segurança, é crucial selecionar cuidadosamente os alvos da terapia CAR-T, adaptando-a para enfrentar desafios específicos de tumores sólidos, como os de pulmão, mama e pâncreas. Pesquisas recentes exploram células CAR-T que visam múltiplos antígenos tumorais para superar a heterogeneidade tumoral e mitigar o risco de resistência. Estratégias adicionais incluem coestimulação,

modificação genética para prolongar a persistência celular e o desenvolvimento de interruptores de segurança para controlar a atividade das células CAR-T (Ajeje et al., 2023).

O avanço contínuo da terapia CAR-T requer o desenvolvimento de novas estratégias terapêuticas para uma variedade de cânceres, tanto sólidos quanto hematológicos, com foco na personalização do tratamento para levar em conta as características individuais do tumor de cada paciente. Reduzir custos e aumentar a acessibilidade são objetivos adicionais para ampliar o alcance dessa terapia inovadora. Além disso, é fundamental realizar estudos de longo prazo para avaliar a eficácia a longo prazo e os efeitos na saúde dos pacientes (Enriquez-Rodriguez et al., 2024).

Os biomédicos desempenham um papel fundamental na pesquisa, desenvolvimento e aplicação clínica das tecnologias CAR-T, contribuindo para avanços em alvos moleculares, engenharia genética e estratégias de melhoria da eficácia e segurança. Além de participarem da produção laboratorial das células CAR-T, esses profissionais realizam testes para monitorar a resposta imunológica, identificar efeitos adversos e avaliar a eficácia do tratamento ao longo do tempo. Eles compartilham conhecimento com outros profissionais de saúde através de educação contínua e atualizações sobre os avanços na área (Carneiro, 2021).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A evolução das gerações da terapia CAR-T representa um progresso significativo no tratamento do câncer, com avanços notáveis em eficácia e segurança ao longo do tempo. Cada geração trouxe inovações que melhoraram a capacidade das células CAR-T de reconhecer e atacar células tumorais, mas também introduziu novos desafios, como toxicidade e custos elevados. As perspectivas futuras são promissoras, com a contínua evolução das gerações CAR-T buscando superar esses desafios e melhorar a eficácia do tratamento. A colaboração multidisciplinar, incluindo o papel crucial dos biomédicos, é essencial para o avanço da terapia CAR-T. A pesquisa contínua e o desenvolvimento de novas estratégias terapêuticas são fundamentais para ampliar o potencial da terapia CAR-T e torná-la uma opção de tratamento mais acessível e eficaz para pacientes com câncer.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à UNIFIO.

REFERÊNCIAS

AJEJE, P.; DE ALMEIDA, M. E.; FERNANDES, V. Terapia com células CAR-T em câncer hematológico: progressos recentes e perspectivas futuras. *In: Open Science Research XIII*. Editora Científica Digital, 2023. p. 112–113. Disponível em: <https://doi.org/10.37885/231014749>. Acesso em: 12/04/2024

ATTY JEANE TOMAZELLI, A. Ministério da Saúde Secretaria de Atenção à Saúde Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva. *Relatório do intervalo entre diagnóstico e início do tratamento do câncer no SUS: dados do PAINEL-Oncologia*. 2020. Disponível em: <https://rbc.inca.gov.br/revista/index.php/revista/article/view/827>. Acesso em: 12/04/2024

CARNEIRO, A. C. A importância da pesquisa em biomedicina: desenvolvimento científico, tecnológico e a indústria biomédica. 2021. Acesso em: 12/04/2024

DALTRO, A. Potencial para personalização do tratamento com CAR-T. 2024. Acesso em: 12/04/2024

DOBOSZ, P.; DZIECIAŃKOWSKI, T. The intriguing history of cancer immunotherapy. *Frontiers in Immunology*, v. 10, 2019b. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.02965>. Acesso em: 13/04/2024

ENRIQUEZ-RODRIGUEZ, L. et al. Expanding the horizon of transient CAR T therapeutics using virus-free technology. *Biotechnology Advances*, v. 72, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2024.108350>. Acesso em: 13/04/2024

FALÇONI JÚNIOR. Imunoterapia: uma revisão sobre os novos horizontes no combate ao câncer. *Imprensa Médica*, v. 24, n. 423, p. 76–78, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.11606/issn.1679-9836.v99i2p148-155>. Acesso em: 15/01/2024

GLIENKE, W. et al. GMP-Compliant manufacturing of TRUCKs: CAR T cells targeting GD2 and releasing inducible IL-18. *Frontiers in Immunology*, v. 13, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.839783>. Acesso em: 13/04/2024

HUANG, S. et al. Deciphering and advancing CAR T-cell therapy with single-cell sequencing technologies. *Molecular Cancer*, v. 22, n. 1, p. 80, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s12943-023-01783-1>. Acesso em: 09/04/2024

KALOS, M. *et al.* **T cells with chimeric antigen receptors have potent antitumor effects and can establish memory in patients with advanced leukemia.** 2011. Disponível em: <https://www.science.org>. Acesso em: 15/02/2024

KERSHAW, M. H. *et al.* **A phase I study on adoptive immunotherapy using gene-modified T cells for ovarian cancer.** *Clinical Cancer Research*, v. 12, n. 20, p. 6106–6115, 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-06-1183>. Acesso em: 12/12/2023

KHAN, A. N. *et al.* **CAR-T cell therapy in hematological malignancies: where are we now and where are we heading for?** *European Journal of Haematology*, v. 112, n. 1, p. 6–18, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/ejh.14076>. Acesso em: 12/04/2024

KUFEL, J.; LEWANDOWSKI, P. **Nowoczesne techniki w diagnostyce i leczeniu chorób onkologicznych.** *Book, julho de 2023*. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/372647077>. Acesso em: 19/03/2024

LI, H. *et al.* **A second-generation CD38-CAR-T cell for the treatment of multiple myeloma.** *Cancer Medicine*, v. 12, n. 9, p. 10804–10815, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/cam4.5818>. Acesso em: 07/04/2024

MAGNANI, C. F. *et al.* **Anti-CD117 CAR T cells incorporating a safety switch eradicate human acute myeloid leukemia and hematopoietic stem cells.** *Molecular Therapy Oncolytics*, v. 30, p. 56–71, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.omto.2023.07.003>. Acesso em: 18/04/2024

OTONI, T. **Imunologia básica: uma revisão aplicada a estudantes Carla Pereira Fiuza Rodrigues.** 2022. Acesso em: 22/01/2024

ROBERTO C. STERNER, R. M. S. **Terapia com células CAR-T: limitações atuais e estratégias potenciais.** 2021. Acesso em: 10/03/2024

SAVOLDO, B. *et al.* **CD28 costimulation improves expansion and persistence of chimeric antigen receptor–modified T cells in lymphoma patients.** *Journal of Clinical Investigation*, v. 121, n. 5, p. 1822–1826, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1172/JCI46110>. Acesso em: 11/04/2024

SOARES, W. **Tratamento convencional e a imunoterapia de células CAR-T na remissão de neoplasias linfóide e mieloide.** *Centro Universitário de Brasília*, 2018. Acesso em: 12/04/2024

TOKAREW, N. *et al.* **Teaching an old dog new tricks: next-generation CAR T cells.** *British Journal of Cancer*, v. 120, n. 1, p. 26–37, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41416-018-0325-1>. Acesso em: 29/04/2024

USCANGA-PALOMEQUE, A. C. *et al.* **CAR-T cell therapy: from the shop to cancer therapy.** *International Journal of Molecular Sciences*, v. 24, n. 21, p. 15688, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/ijms242115688>. Acesso em: 16/04/2024

YANG, X.; WANG, G.; ZHOU, J. *et al.* **CAR T cell therapy for hematological malignancies.** *Current Medical Science*, v. 39, n. 6, p. 874–882, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11596-019-2118-z>. Acesso em: 12/12/2023

ZHANG, C. *et al.* **Engineering CAR-T cells.** *In: Biomarker Research*, v. 5, n. 1, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s40364-017-0102-y>. Acesso em: 13/04/2023 Acesso em: 12/04/2024

ZHONG, X.-S. *et al.* **Chimeric antigen receptors combining 4-1BB and CD28 signaling domains augment PI3kinase/AKT/Bcl-XL activation and CD8+ T cell-mediated tumor eradication.** *Molecular Therapy*, v. 18, n. 2, p. 413–420, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/mt.2009.210>. Acesso em: 10/02/2024