

Imunoterapia por Receptores de Antígenos Quiméricos (CARs) para células Assassinas Naturais (NK), abordagens terapêuticas e perspectivas futuras na área oncológica: uma revisão sistemática de Síntese Sem Metanálise (SWIM)

Chimeric Antigen Receptor (CAR) Immunotherapy for Natural Killer (NK) cells, therapeutic approaches and future perspectives in the oncological field: a systematic review of Synthesis Without Meta-analysis (SWIM)

Inmunoterapia con Receptores de Antígenos Quiméricos (CAR) para células Asesinas Naturales (NK), enfoques terapéuticos y perspectivas futuras en el área oncológica: una revisión sistemática de Síntesis Sin Metaanálisis (SWIM)

Recebido: 28/07/2025 | Revisado: 01/08/2025 | Aceitado: 01/08/2025 | Publicado: 02/08/2025

Leandro Maia Leão

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8393-687X>

Centro Universitário CESMAC, Brasil

E-mail: leandro-maia@hotmail.com

Josemir de Almeida Lima

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3295-1006>

Centro Universitário CESMAC, Brasil

E-mail: josemir.lima@cesmac.edu.br

Karina Brandão Menezes Lima

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5915-5689>

Centro Universitário de Maceió UNIMA, Brasil

E-mail: karinabml@hotmail.com

Geórgia Maria Ricardo Félix dos Santos

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0154-597X>

Universidade Estadual de Ciências da Saúde de Alagoas, Brasil

E-mail: georgia.felix@uncisal.edu.br

Katharina Jucá de Moraes Fernandes

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0002-3133>

Universidade Estadual de Ciências da Saúde de Alagoas, Brasil

E-mail: katharinajuca@yahoo.com.br

Bernardo do Rego Belmonte

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5225-5417>

Centro Universitário Uninovo, Brasil

E-mail: bernardo.belmonte@prof.uninovo.edu.br

Jackelyne Oliveira Costa Tenório

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0788-0552>

Centro Universitário de Maceió UNIMA, Brasil

E-mail: jackeoct@gmail.com

Maurício Thiago Gonçalves de Almeida

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8765-1804>

Hospital Sírio Libanês, Brasil

E-mail: mauriciothiago_almeida@hotmail.com

Roberta Lima

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8289-5669>

Universidade Estadual de Ciências da Saúde de Alagoas, Brasil

E-mail: beta.lima@uncisal.edu.br

Pollyanna Maria Neves de Melo

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7007-429X>

Centro Universitário CESMAC, Brasil

E-mail: pollyanna.melo@cesmac.edu.br

Luciana da Silva Viana

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2957-138X>

Centro Universitário CESMAC, Brasil

E-mail: luciana.viana@cesmac.edu.br

Ryvane Chrystine Lopes de Barros

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8484-4523>

Instituição Grau Técnico, Brasil

E-mail: enf.ryvane@hotmail.com

Resumo

A imunoterapia com células CAR-T, apesar de seu sucesso em malignidades hematológicas, é limitada por toxicidades significativas e altos custos de produção. A imunoterapia CAR-NK surge como alternativa, com potencial para produtos alogênicos "off-the-shelf" mais seguros e acessíveis. Objetivou-se analisar criticamente as evidências sobre a produção, eficácia, desafios e perspectivas futuras da imunoterapia CAR-NK. Realizou-se uma revisão sistemática por meio do protocolo SWIM (Synthesis Without Meta-analysis), com análise de 83 documentos (após aplicados critérios de inclusão e exclusão) analisados via Análise de Conteúdo de Bardin. Demonstrou-se alta eficácia em malignidades hematológicas, mas sucesso limitado em tumores sólidos devido à baixa persistência e à supressão pelo Microambiente Tumoral (TME). A transição estratégica para Células-Tronco Pluripotentes Induzidas (iPSCs) é a base para a produção de imunoterapias CAR-NK universais. A superação das barreiras em tumores sólidos depende da engenharia de células CAR-NK "blindadas" multifuncionais. Isso inclui o desenvolvimento de construções "NK-cêntricas" (como o domínio NKG2D), a co-expressão de Interleucinas de suporte (IL-15/IL-21) para aumentar a persistência, e a edição genética (via CRISPR-Cas9) para resistir à supressão pelo TME e ao estresse metabólico (ex: ablação de DRP1). A integração dessas estratégias avançadas em plataformas de iPSC é fundamental para consolidar a terapia CAR-NK como um pilar acessível e eficaz no tratamento do câncer e de doenças autoimunes. Para isso, é de suma importância a realização de mais estudos que possuam maior robustez, a fim de aprimorar a evidência científica acerca dessa terapia.

Palavras-chave: Imunoterapia Celular Adotiva; Células Assassinas Naturais; Terapia por Receptor Antigênico Quimérico; Receptores de Antígenos Quiméricos; Oncologia.

Abstract

CAR-T cell immunotherapy, despite its success in hematological malignancies, is limited by significant toxicities and high production costs. CAR-NK immunotherapy emerges as an alternative, with the potential for safer and more accessible "off-the-shelf" allogeneic products. The objective was to critically analyze the evidence on the production, efficacy, challenges, and future perspectives of CAR-NK immunotherapy. A systematic review was conducted using the SWIM (Synthesis Without Meta-analysis) protocol, with the analysis of 83 documents (after applying inclusion and exclusion criteria) analyzed via Bardin's Content Analysis. High efficacy was demonstrated in hematological malignancies, but limited success in solid tumors due to low persistence and suppression by the Tumor Microenvironment (TME). The strategic transition to Induced Pluripotent Stem Cells (iPSCs) is the foundation for producing universal CAR-NK immunotherapies. Overcoming barriers in solid tumors depends on the engineering of multifunctional "armored" CAR-NK cells. This includes the development of "NK-centric" constructs (such as the NKG2D domain), the co-expression of supportive Interleukins (IL-15/IL-21) to increase persistence, and gene editing (via CRISPR-Cas9) to resist TME suppression and metabolic stress (e.g., DRP1 ablation). The integration of these advanced strategies into iPSC platforms is fundamental to consolidating CAR-NK therapy as an accessible and effective pillar in the treatment of cancer and autoimmune diseases. For this, conducting more robust studies is of utmost importance in order to improve the scientific evidence regarding this therapy.

Keywords: Adoptive Cell Therapy; Natural Killer Cells; Chimeric Antigen Receptor Therapy; Chimeric Antigen Receptors; Oncology.

Resumen

La inmunoterapia con células CAR-T, a pesar de su éxito en neoplasias hematológicas, está limitada por toxicidades significativas y altos costos de producción. La inmunoterapia CAR-NK surge como una alternativa, con potencial para productos alogénicos "off-the-shelf" más seguros y accesibles. El objetivo fue analizar críticamente la evidencia sobre la producción, eficacia, desafíos y perspectivas futuras de la inmunoterapia CAR-NK. Se realizó una revisión sistemática mediante el protocolo SWIM (Synthesis Without Meta-analysis), con el análisis de 83 documentos (tras aplicar criterios de inclusión y exclusión) analizados a través del Análisis de Contenido de Bardin. Se demostró una alta eficacia en neoplasias hematológicas, pero un éxito limitado en tumores sólidos debido a la baja persistencia y la supresión por el Microambiente Tumoral (TME). La transición estratégica hacia Células Madre Pluripotentes Inducidas (iPSCs) es la base para la producción de inmunoterapias CAR-NK universales. La superación de las barreras en tumores sólidos depende de la ingeniería de células CAR-NK "blindadas" multifuncionales. Esto incluye el desarrollo de construcciones "NK-céntricas" (como el dominio NKG2D), la coexpresión de Interleucinas de soporte (IL-15/IL-21) para aumentar la persistencia, y la edición genética (vía CRISPR-Cas9) para resistir la supresión del TME y el estrés metabólico (ej: ablación de DRP1). La integración de estas estrategias avanzadas en plataformas de iPSC es fundamental para consolidar la terapia CAR-NK como un pilar accesible y eficaz en el tratamiento del cáncer y de enfermedades autoinmunes. Para ello, es de suma importancia la realización de más estudios con mayor robustez, con el fin de mejorar la evidencia científica sobre esta terapia.

Palabras clave: Inmunoterapia Celular Adoptiva; Células Asesinas Naturales; Terapia con Receptores de Antígenos Quiméricos; Receptores de Antígenos Quiméricos; Oncología.

1. Introdução

Essa revisão sistemática teve como objeto de estudo e análise a imunoterapia com células Assassinas Naturais (*NK*) geneticamente modificadas por meio de Receptores de Antígenos Quiméricos (*CARs*), como uma alternativa terapêutica para o tratamento de malignidades oncológicas, em contraponto às limitações da imunoterapia *CAR-T*; onde a análise realizada abrangeu os diferentes métodos de produção e fontes celulares, como as Células-Tronco Pluripotentes Induzidas (*iPSCs*), a otimização e evolução do design dos receptores *CAR*, a eficácia clínica da terapia em malignidades hematológicas e os desafios em tumores sólidos, como a baixa persistência e a supressão pelo Microambiente Tumoral (*TME*), além das perspectivas futuras e inovações em engenharia genética, como as células 'blindadas'; a justificativa deste estudo ocorreu pela necessidade de sintetizar o crescente corpo de evidências sobre a imunoterapia *CAR-NK*, que surge como uma alternativa mais segura e acessível no arsenal da imunoterapia contra o câncer.

A imunoterapia celular adotiva, especificamente a terapia com células T geneticamente modificadas para expressar Receptores de Antígenos Quiméricos (*CAR-T*), representa uma das mais notáveis revoluções na oncologia contemporânea. Ao reprogramar as células T de um paciente para reconhecer e eliminar células tumorais com alta especificidade, esta tecnologia alcançou taxas de remissão completas sem precedentes em pacientes com malignidades hematológicas de células B, como Leucemia Linfoblástica Aguda (LLA) e Linfomas Não-Hodgkin (LNH), que eram anteriormente refratários a múltiplas linhas de tratamento (Basar, Daher & Rezvani, 2020; Li, H. *et al.*, 2022; Lamers-Kok *et al.*, 2022; Yang *et al.*, 2024). O sucesso clínico da terapia *CAR-T* validou de forma inequívoca o princípio de que a engenharia do sistema imune pode superar os sofisticados mecanismos de evasão do câncer (Zanfagnin & Mathur, 2022; Li, T. *et al.*, 2024).

Apesar de seu impacto transformador, a ampla aplicação da imunoterapia *CAR-T* é restringida por desafios intrínsecos de natureza biológica, logística e econômica. As toxicidades agudas e potencialmente fatais, como a Síndrome de Liberação de Citocinas (*CRS*) e a Síndrome de Neurotoxicidade Associada a Células Efetoras Imunes (*ICANS*), são uma consequência direta da potente ativação das células T e da subsequente liberação massiva de citocinas pró-inflamatórias, como a Interleucina-6 (IL-6) e a Interleucina-1 (IL-1) (Rafei, Daher & Rezvani, 2021; Zanfagnin & Mathur, 2022; Khan *et al.*, 2025; Pang *et al.*, 2022). Essas complicações exigem um manejo clínico especializado e frequentemente internação em unidades de terapia intensiva, o que aumenta a complexidade e o custo do tratamento (Rafei, Daher & Rezvani, 2021; Zanfagnin & Mathur, 2022).

Adicionalmente, o modelo de produção da maioria das imunoterapias *CAR-T* aprovadas é autólogo, dependendo da coleta de linfócitos do próprio paciente (leucaférese), sua modificação genética *ex vivo* e posterior reinfusão. Este processo é logisticamente complexo, demorado (podendo levar várias semanas) e extremamente caro, com custos que podem ultrapassar centenas de milhares de dólares por paciente (Kilgour *et al.*, 2023; Wrona, Borowiec & Potemski, 2021; Daher & Rezvani, 2018). Para pacientes com doenças de progressão rápida, o tempo de espera pela fabricação do produto pode ser proibitivo. Além disso, a eficácia da imunoterapia *CAR-T* contra tumores sólidos tem sido, até o momento, decepcionante. Este insucesso é atribuído a uma combinação de fatores, incluindo a dificuldade de as células T traficarem para o sítio tumoral, a sua incapacidade de se infiltrarem na matriz densa do tumor e a sua exaustão funcional dentro do Microambiente Tumoral (*TME*), que é ativamente imunossupressor (Peng *et al.*, 2024; Balkhi *et al.*, 2025; Wittling *et al.*, 2024). Essas limitações não são falhas isoladas, mas sim consequências diretas da biologia da célula T e do modelo de produção autólogo. Esta constatação gerou uma necessidade científica e comercial urgente pela busca de plataformas celulares alternativas que possam reter a potência do direcionamento por *CAR*, mas com um perfil de segurança aprimorado e uma logística de produção mais eficiente e escalável (Daher & Rezvani, 2018; Zhong & Liu, 2024).

Neste cenário, as células Assassinas Naturais (*NK*) emergiram como uma plataforma celular excepcionalmente promissora para a engenharia de *CARs*. Como linfócitos citotóxicos do sistema imune inato, as células *NK* possuem um

conjunto de vantagens biológicas que as posicionam de forma ideal para superar as principais limitações da terapia CAR-T (Xie *et al.*, 2020; Rafei, Daher & Rezvani, 2021; Zhang *et al.*, 2023; Włodarczyk & Pyrzynska, 2022).

Primeiramente, a atividade antitumoral das células NK é inata e não requer sensibilização prévia. Sua função é regulada por um balanço de sinais provenientes de receptores ativadores e inibitórios. Crucialmente, as células NK podem reconhecer e eliminar células-alvo de maneira independente do Complexo Principal de Histocompatibilidade (MHC), um mecanismo que lhes permite atacar células tumorais que frequentemente diminuem a expressão de moléculas de MHC para evadir a vigilância das células T, um dos mecanismos de escape imunológico mais comuns no câncer (Li & Feng, 2024; Kong *et al.*, 2024; Li, T. *et al.*, 2024).

Em segundo lugar, e talvez mais importante, as células NK exibem um perfil de segurança intrinsecamente superior. O espectro de citocinas que elas produzem após a ativação é diferente daquele das células T, com níveis notavelmente mais baixos de IL-1 e IL-6, os principais mediadores da CRS grave. Consequentemente, o risco de indução de CRS e ICANS severas é drasticamente reduzido, como observado nos primeiros ensaios clínicos (Liu *et al.*, 2020; Basar, Daher & Rezvani, 2020; Jørgensen *et al.*, 2025). A vantagem mais definitiva, no entanto, é que as células NK alogênicas (derivadas de um doador saudável e infundidas em um paciente não aparentado) não medeiam a Doença do Enxerto Contra o Hospedeiro (GvHD), uma complicação grave e frequentemente fatal associada ao uso de células T alogênicas (Rafei, Daher & Rezvani, 2021; Li, H. *et al.*, 2022; Wrona, Borowiec & Potemski, 2021).

A ausência da GvHD é a característica biológica que destrava um paradigma terapêutico transformador: o desenvolvimento de produtos celulares alogênicos "off-the-shelf" (prontos para uso). Esta abordagem permite que as células CAR-NK sejam fabricadas em larga escala a partir de doadores saudáveis (ou outras fontes renováveis), criopreservadas em lotes, e disponibilizadas imediatamente para múltiplos pacientes como um produto farmacêutico padronizado (Lu & Feng, 2021; Senti Bio, 2025). Isso elimina os atrasos, a complexidade logística e os custos proibitivos associados à fabricação autóloga, com o potencial de democratizar o acesso à imunoterapia celular avançada (Khan *et al.*, 2025; Kilgour *et al.*, 2023; Xia, Minamino & Kuwabara, 2020). Esta mudança de um "procedimento médico" para um "produto farmacêutico" tem implicações profundas não apenas para a prática clínica, mas também para os modelos de negócios, regulamentação e logística da cadeia de suprimentos da indústria de biotecnologia (Guo, Zhang & Cui, 2024; Uhlig *et al.*, 2025).

A engenharia de células NK com CARs (imunoterapia CAR-NK) busca combinar a especificidade de direcionamento de um antígeno tumoral, conferida pelo CAR, com as vantagens biológicas e de segurança inerentes às células NK (Park *et al.*, 2025; Gierschek *et al.*, 2024). O campo está evoluindo rapidamente, com um corpo crescente de evidências de estudos pré-clínicos e ensaios clínicos de fase inicial (Yang *et al.*, 2024; Jørgensen *et al.*, 2025).

Apesar do enorme potencial, a translação da imunoterapia CAR-NK para a prática clínica enfrenta seus próprios obstáculos. Estudos iniciais revelaram que, embora altamente eficazes contra malignidades hematológicas, as células CAR-NK demonstram uma eficácia limitada contra tumores sólidos. Os principais desafios incluem a baixa persistência das células infundidas *in vivo*, o tráfego ineficiente para os sítios tumorais e a supressão funcional imposta pelo TME (Khorasani, Yousefi & Bashash, 2022; Valeri *et al.*, 2022; Xue, 2023).

Face ao exposto, denota grande relevância responder à questão norteadora da pesquisa "Quais são as abordagens de produção, terapêuticas, os desfechos de eficácia e segurança, os principais desafios limítrofes e as perspectivas futuras da imunoterapia com células CAR-NK quando aplicada na área oncológica, tanto para malignidades hematológicas quanto para tumores sólidos?"

Considerando o rápido acúmulo de dados heterogêneos provenientes de publicações científicas, ensaios clínicos em andamento, registros de patentes e pré-publicações, torna-se essencial uma síntese sistemática, abrangente e crítica da literatura. Portanto, o objetivo desta revisão sistemática, conduzida utilizando o protocolo SWIM é analisar criticamente as

evidências sobre a produção, eficácia, desafios e perspectivas futuras da imunoterapia *CAR-NK*. Serão abordados de forma abrangente os métodos de produção e engenharia, os resultados clínicos e pré-clínicos, os desafios a serem superados e as estratégias inovadoras que moldarão o futuro desta modalidade terapêutica.

2. Métodos

Essa revisão sistemática é de natureza qualitativa (Pereira *et al.*, 2018), e possui caráter bibliográfico (Snyder, 2019). Foi conduzida e relatada em conformidade com as diretrizes do *Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses (PRISMA2020)*. Devido à alta heterogeneidade esperada nos desenhos dos estudos (pré-clínicos, clínicos de fase inicial), fontes de células *NK* (sangue periférico, cordão umbilical, *iPSCs*, linhagens), construções diferentes de *CARs*, populações de pacientes e métricas de desfecho, uma meta-análise quantitativa tradicional não foi considerada apropriada ou viável. Portanto, a síntese dos resultados foi guiada pelo protocolo *Synthesis Without Meta-analysis (SWIM)*, que promove uma abordagem transparente e estruturada para a síntese narrativa de evidências (Campbell *et al.*, 2020).

O protocolo *SWIM* foi desenvolvido para ser utilizado em estudos onde uma meta-análise seja inviável, principalmente pelo fato da heterogeneidade de resultados, desenhos dos estudos, intervenções e demais nuances acerca das pesquisas selecionadas para a composição desse estudo, sendo assim, o protocolo *SWIM* é de suma relevância para o propósito do mesmo (Campbell *et al.*, 2020). O protocolo *SWIM* foi encontrado e acessado por meio da Rede EQUATOR.

A aplicação detalhada de cada um dos nove itens do protocolo *SWIM* serviu como base para erigir a estrutura desta revisão sistemática, objetivando uma seleção e síntese subsequente das evidências científicas acerca da imunoterapia *CAR-NK* e garantindo uma abordagem transparente e metodologicamente sólida para esse tipo de revisão. A visualização completa do protocolo *SWIM* está descrita e pode ser visualizada no Quadro 1.

Quadro 1 - Itens do protocolo SWIM aplicados nesta revisão sistemática.

ITEM SWIM	DESCRIÇÃO DA APLICAÇÃO DO ITEM NESTA REVISÃO SISTEMÁTICA SOBRE IMUNOTERAPIA CAR-NK
ITEM 1: Agrupamento dos Estudos	Os 83 documentos selecionados foram agrupados em quatro categorias temáticas para a síntese narrativa: 1) Produção e Engenharia de Células <i>CAR-NK</i> ; 2) Eficácia e Segurança Clínica; 3) Limitações e Desafios Fundamentais; e 4) Inovações e Perspectivas Futuras.
ITEM 2: Métrica Padronizada	As métricas chave identificadas nos estudos clínicos incluíram: Taxa de Resposta Objetiva (ORR), Taxa de Resposta Completa (CR), e incidência de eventos adversos (CRS, ICANS, GvHD). Em estudos pré-clínicos, as métricas incluíram redução do volume tumoral e sobrevida em modelos animais. Não foram aplicados métodos de transformação estatística; a síntese focou na sumarização descritiva dos valores e da direção dos efeitos observados.
ITEM 3: Métodos de Síntese	A síntese foi realizada por meio de uma abordagem narrativa e descritiva, informada pela Análise de Conteúdo (Bardin, 2016). Os achados de cada categoria temático foram resumidos, analisados criticamente e integrados para identificar tendências. Para estudos pré-clínicos e patentes, o foco foi na prova de conceito e nos mecanismos de inovação. Para ensaios clínicos, a síntese concentrou-se nos resultados de segurança e eficácia relatados.
ITEM 4: Critérios de Priorização	Os critérios de priorização incluíram: Robustez da evidência (dados de ensaios clínicos priorizados sobre pré-clínicos para eficácia), recência da publicação (ênfase em dados dos últimos 5 anos, apesar de não ser aplicado um recorte temporal propriamente dito), relevância para a inovação (patentes e preprints para perspectivas futuras) e impacto da fonte (publicações em periódicos de alto impacto).
ITEM 5: Investigação da Heterogeneidade	A heterogeneidade foi analisada criticamente e explorada qualitativamente na seção 'Discussão', comparando diretamente os resultados de diferentes fontes de células (ex: <i>iPSC</i> vs. cordão umbilical), desenhos de <i>CAR</i> (ex: domínios 2B4 vs. 4-1BB) e alvos tumorais (hematológicos vs. sólidos). As diferenças nos resultados foram atribuídas a variações na persistência, tráfego e resistência ao TME.

ITEM 6: Certeza da Evidência	A certeza da evidência geral é atualmente baixa a moderada. Embora os resultados em malignidades hematológicas sejam consistentes e promissores, eles se baseiam em um número limitado de ensaios clínicos de fase inicial. A evidência para tumores sólidos é majoritariamente pré-clínica ou de ensaios de fase I, necessitando de validação clínica de maior robustez.
ITEM 7: Apresentação dos Dados	Os dados foram estruturados em Quadros para detalhar as estratégias de busca e caracterizar os 83 documentos incluídos (Quadro 10) nessa revisão sistemática, oferecendo uma base de evidências transparente. A análise e interpretação foram apresentadas de forma narrativa na Discussão.
ITEM 8: Forma do Relato	Os resultados foram relatados de forma objetiva na seção 'Resultados', primariamente através de um quadro detalhado (Quadro 10) que resume as características e os principais achados de cada um dos 83 documentos incluídos. Uma análise aprofundada e interpretativa desses resultados foi fornecida na 'Discussão'.
ITEM 9: Limitações da Síntese	As principais limitações da síntese incluíram a alta heterogeneidade das fontes, o que impede comparações diretas e a realização de metanálises. A maior parte dos dados clínicos ainda é de fase inicial, e houve uma forte dependência de modelos pré-clínicos, preprints e literatura cinzenta para avaliar novas estratégias, o que limita a generalização dos achados para a prática clínica e conota cautela na interpretação dos dados.

Fonte: Autores (2025).

Para orientar a estratégia de busca e assegurar a relevância dos estudos incluídos, a pergunta de pesquisa foi estruturada com base no acrônimo PICO (População/Paciente, Intervenção, Comparação, Desfecho/*Outcome*) (Hosseini *et al.*, 2024). A aplicação dessa abordagem sistemática contribui para garantir que todos os elementos essenciais da pergunta orientadora sejam devidamente considerados na seleção da literatura. A estrutura PICO utilizada nesta revisão está detalhada no Quadro 2.

Quadro 2 - Estratégia PICO para desenvolvimento da questão norteadora.

COMPONENTE PICO	DESCRIÇÃO DO COMPONENTE
P (População/Paciente)	Pacientes com malignidades oncológicas (hematológicas e tumores sólidos) ou modelos de estudo relevantes <i>in vitro</i> e <i>in vivo</i> (ex: modelos de xenoinxerto).
I (Intervenção)	Uso terapêutico de células NK geneticamente modificadas para expressar pelo menos um Receptor de Antígeno Quimérico (CAR-NK).
C (Comparação)	Terapias padrão (ex: quimioterapia), outras imunoterapias celulares (ex: CAR-T), células NK não modificadas, ou grupo controle/placebo, quando disponível. Estudos sem um grupo comparador direto foram incluídos se relatassem desfechos primários de interesse.
O (Desfecho/ <i>Outcome</i>)	Eficácia terapêutica (taxas de resposta objetiva, resposta completa, sobrevida), perfil de segurança (incidência de CRS, ICANS, GvHD), persistência celular <i>in vivo</i> , métodos de produção e engenharia, superação das limitações (tráfego tumoral, resistência ao TME) e perspectivas futuras da terapia.

Fonte: Autores (2025).

Foi realizada uma busca sistemática e abrangente em múltiplas fontes de informação, com o objetivo de captar a totalidade da produção científica relevante incluindo literatura publicada, literatura cinzenta e fontes de inovação tecnológica. As buscas foram conduzidas entre fevereiro e junho de 2025, sem restrição de idiomas e sem limitação de data inicial, de modo a contemplar a evolução histórica do campo. As estratégias de busca foram adaptadas para cada base de dados e plataforma, empregando combinações de descritores controlados (*DeCS* e/ou *MeSH*) e termos livres, estruturados conforme os objetivos específicos desta revisão.

O estabelecimento de critérios de elegibilidade rigorosos, detalhados no Quadro 3, foi um passo mandatório para garantir a validade e a qualidade dos estudos incluídos. Esta abordagem estruturada serve como um mecanismo de filtragem para assegurar que a síntese de evidências seja construída unicamente a partir de fontes diretamente alinhadas à pergunta de pesquisa.

Quadro 3 - Critérios de inclusão e exclusão aplicados aos estudos.

CRITÉRIOS DE INCLUSÃO	CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO
<ul style="list-style-type: none"> • Artigos de pesquisa originais (estudos pré-clínicos <i>in vitro</i> e <i>in vivo</i>, ensaios clínicos de todas as fases); • Revisões sistemáticas e narrativas com metanálise de alta qualidade; • Revisões sistemáticas sem metanálise de alta qualidade; • Patentes relevantes detalhando inovações em construção ou manufatura das células CAR-NK; • Registros de ensaios clínicos com resultados prévios de qualidade; • Pré-publicações de qualidade dos servidores bioRxiv e medRxiv; • Artigos que abordem produção, engenharia, eficácia, segurança, limitações e/ou estratégias futuras da terapia CAR-NK em oncologia; • Artigos publicados em quaisquer idiomas. 	<ul style="list-style-type: none"> • Artigos de opinião, editoriais, cartas ao editor sem dados originais; • Resumos de conferências sem texto completo ou dados suficientes para extração; • Estudos não focados primariamente na imunoterapia CAR-NK (exemplo: exclusivamente em CAR-T); • Fontes não científicas (blogs, artigos do tipo Wikipédia); • Estudos com dados insuficientes ou irrelevantes para a questão de pesquisa; • Artigos duplicados.

Fonte: Autores (2025).

A seleção dos estudos esteve a cargo de uma dupla de pesquisadores, que atuaram de forma independente para garantir a reprodutibilidade do processo e minimizar vieses no processo. A etapa inicial consistiu na triagem de títulos e resumos, sendo esta sucedida pela análise criteriosa do texto integral dos artigos pré-selecionados como potencialmente elegíveis. Eventuais divergências de parecer entre os revisores foram dirimidas por consenso ou, na impossibilidade deste, pela deliberação de um terceiro pesquisador sênior. O detalhamento esquemático de todo o percurso seletivo foi apresentado na seção dos Métodos, por meio de um fluxograma em conformidade com a diretriz *PRISMA*.

Os Quadros 4 a 8 expõem as estratégias de busca pormenorizadas que foram aplicadas às diversas fontes de informação consultadas. Tais quadros objetivam demonstrar a amplitude e a sistemática do levantamento bibliográfico exaustivo que alicerça a presente revisão. O Quadro 4 expõe as estratégias de busca utilizadas nas bases de dados sólidas, sendo elas: *PubMed*, *Scopus*, *Embase*, *Web of Science*, *SciELO*, *LILACS* e Google Acadêmico, sendo melhor visualizadas a seguir.

Quadro 4 - Estratégias de busca e resultados nas bases de dados na pesquisa principal.

BASES DE DADOS	ESTRATÉGIAS DE BUSCA	QUANTIDADE DE ARTIGOS
PubMed	((("Receptors, Chimeric Antigen"[Mesh] OR "CAR-NK"[tiab] OR "Chimeric Antigen Receptor NK"[tiab]) AND ("Killer Cells, Natural"[Mesh] OR "NK Cells"[tiab])) AND ("Neoplasms"[Mesh] OR "Cancer"[tiab] OR "Tumor"[tiab]))	853
Scopus	("CAR-NK" OR "Chimeric Antigen Receptor Natural Killer") AND (Cancer OR Tumor OR Neoplasm OR Malignancy) AND (Immunotherapy OR "Cell Therapy")	1009
Embase	('Chimeric Antigen Receptor Natural Killer Cell'/exp OR 'CAR NK':ti,ab,kw) AND ('Cancer'/exp OR 'Neoplasm'/exp OR 'Tumor':ti,ab,kw) AND ('Adoptive Immunotherapy'/exp)	210

Web of Science	("CAR-NK" OR "Chimeric Antigen Receptor Natural Killer") AND ("Immunotherapy OR "Cell Therapy")	846
SciELO	(ti:("CAR-NK" OR "Receptor de Antígeno Quimérico")) AND (ab:(Cancer OR Neoplasia OR Tumor))	3
LILACS	(tw:("CAR-NK" OR "Receptor de Antígeno Quimérico")) AND (tw:(Cancer OR Neoplasia))	97
Google Acadêmico	Allintitle: "CAR-NK" OR "Chimeric Antigen Receptor NK" "Cancer" OR "Tumor" "Immunotherapy"	75

Fonte: Autores (2025).

Como complemento à busca sistemática principal, foi conduzida uma prospecção suplementar nas plataformas *Nature*, *The Lancet* e *ScienceDirect* (*Elsevier*). Esta etapa visou resgatar publicações pertinentes que pudessem não ter sido identificadas pela estratégia de busca primária. Os estudos recuperados por meio desta via foram subsequentemente submetidos ao processo de triagem. As sintaxes de busca empregadas nesta fase complementar encontram-se detalhadas e sistematizadas no Quadro 5.

Quadro 5 - Estratégias de busca e resultados nas plataformas complementares.

PLATAFORMAS	ESTRATÉGIAS DE BUSCA	QUANTIDADE DE ARTIGOS
Nature	("CAR-NK" OR "Chimeric Antigen Receptor Natural Killer") AND (Cancer OR Tumor OR Oncology)	326
The Lancet	("CAR-NK" OR "chimeric antigen receptor natural killer") AND (Cancer OR Oncology)	36
ScienceDirect	("CAR-NK" OR "Chimeric Antigen Receptor NK") AND (Cancer OR Neoplasm) AND "Immunotherapy"	1395

Fonte: Autores (2025).

Adicionalmente, buscas adicionais foram conduzidas em plataformas para registros de ensaios clínicos, objetivando identificar estudos que possuam resultados parciais/preliminares que ainda não tenham sido publicados em bases de dados científicas. As estratégias de busca empregadas podem ser totalmente visualizadas no Quadro 6.

Quadro 6 - Estratégias de busca e resultados nos registros de ensaios clínicos.

PLATAFORMAS	ESTRATÉGIAS DE BUSCA	ENSAIOS ENCONTRADOS
ClinicalTrials.gov	"CAR-NK Cells" OR "Chimeric Antigen Receptor in NK Cells" AND "Cancer" OR "Hematologic Malignancy" OR "Solid Tumor"	34558
ICTRP (OMS)	"CAR-NK" OR "Chimeric Antigen Receptor Natural Killer" AND "Cancer" OR "Malignancy"	2164
EU Clinical Trials Register	Condition: "Cancer" AND "CAR-NK" OR "Chimeric Antigen Receptor NK"	5

Fonte: Autores (2025).

Com o objetivo de mapear de forma abrangente do estado da arte tecnológico, foram conduzidas buscas sistemáticas em bases de dados de patentes de relevância internacional. As estratégias de busca, delineadas com base em classificações internacionais de patentes e palavras-chave específicas do domínio técnico, foram aplicadas às plataformas: *Google Patents*; *Espacenet (EPO)*; *WIPO Patentscope* e *USPTO*. O Quadro 7 detalha a sintaxe e a lógica combinatória empregada em cada base, garantindo a transparência e a reprodutibilidade do levantamento de anterioridade.

Quadro 7 - Estratégias de busca e resultados nas bases de dados de patentes.

BASES DE DADOS	ESTRATÉGIAS DE BUSCA	PATENTES IDENTIFICADAS
Google Patents	("CAR-NK" OR "Chimeric Antigen Receptor NK" OR "CAR NK") AND (construct OR expansion OR manufacturing OR immunotherapy)	15806
Espacenet (EPO)	“CAR-NK” OR “Chimeric Antigen Receptor Natural Killer Cell”	32572
WIPO Patentscope	EN_ALL:("CAR-NK" OR "Chimeric Antigen Receptor NK")	5503
USPTO	“CAR-NK” AND “Cancer” in PPUBS (Patent Public Basic Search)	1348

Fonte: Autores (2025).

A fim de garantir a incorporação das evidências mais contemporâneas e mitigar o viés de publicação, as estratégias de busca também foram estendidas aos principais repositórios de pré-publicações (*preprints*). A prospecção concentrou-se nas plataformas *bioRxiv* e *medRxiv*, dada a sua proeminência e especialização temática nas ciências da vida e da saúde. Esta abordagem permitiu a identificação de manuscritos relevantes que ainda não haviam sido submetidos à revisão por pares, mas que poderiam conter dados pertinentes à questão de pesquisa do presente estudo. O Quadro 8 elucida as estratégias de busca específicas empregadas, evidenciando o compromisso com uma cobertura bibliográfica atualizada e abrangente.

Quadro 8 - Estratégia de busca e resultados nas plataformas de pré-publicações.

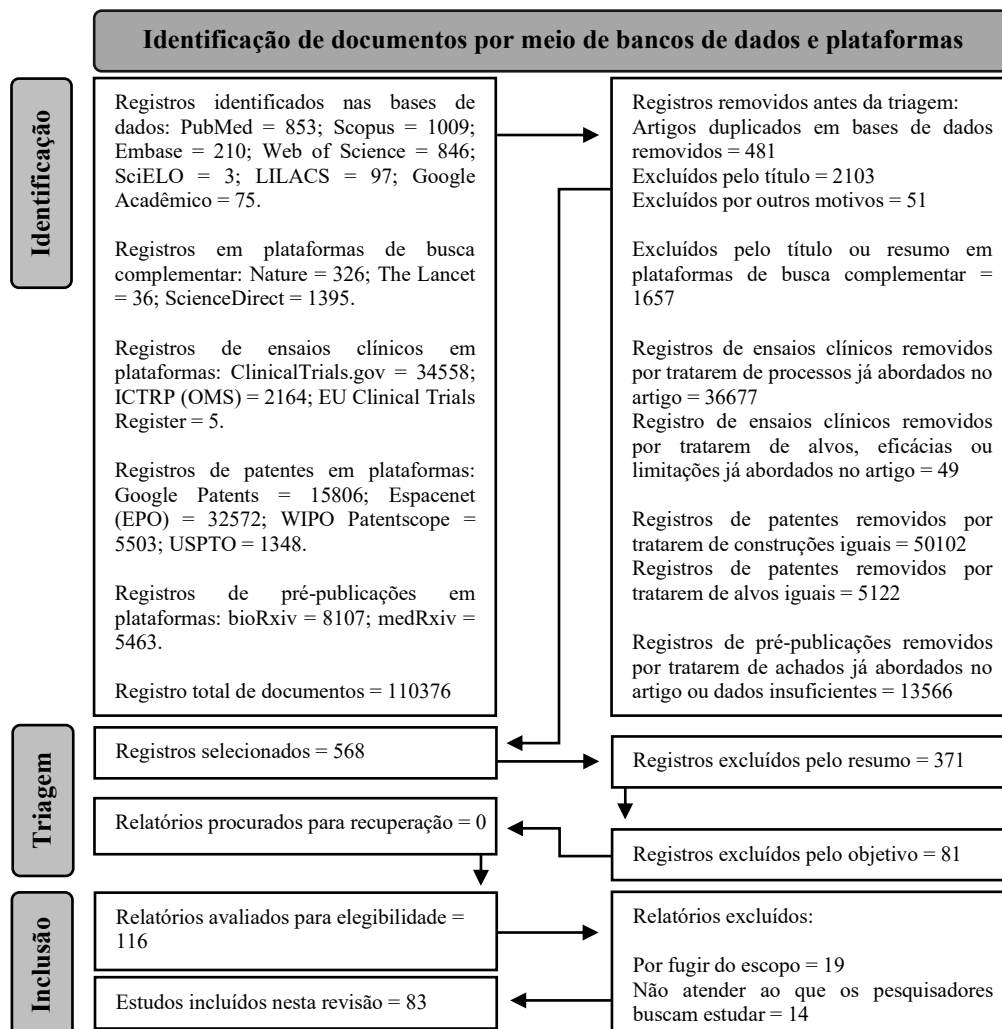
PLATAFORMAS	ESTRATÉGIAS DE BUSCA	PRÉ-PUBLICAÇÕES ENCONTRADAS
bioRxiv	("CAR-NK" OR "CAR NK") AND (efficacy OR "solid tumor" OR "preclinical" OR safety OR construct)	8107
medRxiv	("CAR-NK" OR "CAR NK") AND ("clinical trial" OR "hematologic malignancy" OR safety)	5463

Fonte: Autores (2025).

A constituição do *corpus* de análise procedeu de um rigoroso processo seletivo conduzido com rigor metodológico. A etapa inicial consistiu na triagem criteriosa dos documentos, fundamentada na avaliação de seus títulos, resumos e descritores. Apenas esses avançaram para a fase subsequente de análise aprofundada. Nesta segunda etapa, realizou-se a leitura integral dos documentos completos, permitindo a aplicação estrita dos critérios de elegibilidade previamente definidos. A coorte final de publicações selecionadas foi, assim, formada com base em critérios consistentes e reprodutíveis. O percurso completo do

processo de seleção está sistematizado na Figura 1, por meio de um fluxograma construído segundo as diretrizes do *PRISMA2020*.

Figura 1 - Fluxograma PRISMA de seleção da amostra de documentos.



Fonte: Autores (2025).

O processo de extração de dados foi realizado pelos pesquisadores de forma independente, com base em um protocolo de pesquisa estabelecido a priori. Durante a extração das informações qualitativas para análise, procedeu-se à compilação sistemática dos seguintes dados de cada artigo incluído: referência dos autores, periódico e ano da publicação, tipo de desenho do estudo, perfil da população amostral, critérios de inclusão e exclusão aplicados, instrumento utilizado para a coleta de dados, possíveis variáveis analisadas e os principais resultados e conclusões dos estudos.

Para a análise qualitativa dos dados extraídos dos 83 documentos selecionados, foi empregado o método de Análise de Conteúdo (Bardin, 2016). Este método permite uma exploração sistemática e objetiva do conteúdo textual, visando a inferência de conhecimentos relativos às condições de produção/recepção dessas mensagens. A aplicação do método foi organizada em três fases cronológicas, garantindo o rigor na codificação, categorização e interpretação dos dados.

O Quadro 9 a seguir descreve as fases da Análise de Conteúdo, método fundamental para a interpretação qualitativa e a categorização dos dados extraídos da literatura selecionada.

Quadro 9 - Fases da Análise de Conteúdo de Laurence Bardin que foram aplicadas.

FASE	ETAPA	DESCRIÇÃO DA APLICABILIDADE
1. Pré-análise	Leitura Flutuante	Realização de uma leitura exaustiva e aprofundada dos 83 documentos selecionados para obter uma impregnação do conteúdo e identificar as ideias centrais.
	Formulação de Hipóteses e Objetivos	Definição de que os principais focos da literatura seriam a produção, a eficácia clínica, as limitações e as inovações futuras, orientando a busca por categorias.
	Definição das Unidades de Análise	Estabelecimento de que as unidades de registro seriam temas/conceitos (ex: "iPSC", "persistência", "TME", "armored CAR-NK") e as unidades de contexto seriam os parágrafos ou seções onde esses temas apareciam.
2. Exploração do Material	Codificação	Os dados extraídos foram segmentados e codificados. Por exemplo, trechos sobre "sangue de cordão umbilical" ou "iPSCs" foram codificados sob a categoria "Fontes Celulares".
	Categorização (Criação dos Eixos Temáticos)	Os códigos foram agrupados por semelhança em categorias mais amplas, resultando na criação dos quatro eixos temáticos centrais que estruturam a discussão: 1) Produção e Engenharia; 2) Eficácia e Segurança Clínica; 3) Limitações e Desafios; 4) Perspectivas Futuras e Inovações.
3. Tratamento dos Resultados, Inferência e Interpretação	Síntese e Análise Crítica	Os dados categorizados foram sintetizados de forma narrativa na seção 'Discussão'. A frequência e a co-ocorrência de temas permitiram inferir tendências, como a transição para fontes de iPSC e a ênfase na engenharia para superar o TME.
	Interpretação	Os resultados da análise foram interpretados à luz do problema de pesquisa, conectando os achados para construir uma argumentação coesa sobre o estado da arte e o futuro da terapia CAR-NK.

Fonte: Autores (2025).

Os dados dos estudos incluídos foram extraídos por meio de um formulário padronizado, capturando informações sobre autoria, ano de publicação, fonte do documento, tipo de estudo, alvo do *CAR*, fonte das células *NK*, e principais achados relacionados aos desfechos de interesse. Conforme o protocolo *SWIM*, foi realizada uma síntese narrativa e qualitativa dos dados. Os achados foram agrupados nos eixos temáticos definidos na Análise de Conteúdo para facilitar a análise e a apresentação.

As figuras apresentadas nessa revisão foram criadas exclusivamente pelos autores, por meio de inteligência artificial generativa via comando textual, o software utilizado para criação das imagens foi o Gemini 2.5 Pro. Os *prompts* de comando podem ser identificados de maneira idêntica à forma como foram criados e utilizados, escritos em sua forma completa nas notas que foram alocadas abaixo das legendas das figuras, garantindo transparência quanto ao processo de criação visual.

3. Resultado

A busca sistemática abrangente nas bases de dados científicas, plataformas complementares, registros de ensaios clínicos, bancos de patentes e servidores de pré-publicações identificou uma quantidade massiva de documentos. Após aplicados os critérios de inclusão e exclusão seguindo todos os parâmetros do fluxograma de seleção de documentos. Ao final, 83 fontes foram selecionadas para inclusão nesta revisão sistemática, compreendendo artigos científicos, patentes chave, pré-publicações e documentos. Um fluxograma detalhado, seguindo o modelo *PRISMA2020*, ilustrou este processo de seleção (Figura 1). As 83 fontes selecionadas para esta revisão fornecem uma visão multifacetada e atualizada do campo da terapia *CAR-NK*. A análise de conteúdo (Bardin, 2016) do *corpus* documental permitiu a identificação de categorias temáticas centrais. Os alvos de *CAR* mais frequentemente investigados nos estudos clínicos e pré-clínicos foram *CD19*, *BCMA* e *CD33*

para malignidades hematológicas, e *HER2*, *ROR1*, ligantes de *NKG2D* e Mesotelina para tumores sólidos. Uma tendência clara observada na análise temporal dos documentos é a transição das fontes celulares: estudos mais antigos dependiam predominantemente de Sangue Periférico (*PB*) e da linhagem *NK-92*, enquanto publicações, patentes e ensaios clínicos mais recentes demonstram um foco crescente no uso de Sangue de Cordão Umbilical (*UCB*) e, principalmente, de Células-Tronco Pluripotentes Induzidas (*iPSCs*) como a plataforma preferencial para o desenvolvimento de produtos "off-the-shelf".

O Quadro 10 apresenta as características detalhadas de cada uma das 83 fontes incluídas, servindo como base de evidências científicas para a análise subsequente.

Quadro 10 - Características dos estudos, patentes e pré-publicações incluídos nesta revisão sistemática.

PRIMEIRO AUTOR/ ANO	TÍTULO DO ARTIGO/PATENTE	REVISTA/ FONTE	RESUMO DO MOTIVO DA INCLUSÃO	TIPO DE ESTUDO/ FONTE
Liu et al. (2020)	Use of CAR-Transduced Natural Killer Cells in CD19-Positive Lymphoid Tumors	New England Journal of Medicine	Relato pioneiro do primeiro ensaio clínico em humanos com CAR-NK de sangue de cordão, estabelecendo a prova de conceito clínica com altas taxas de resposta (73%) e segurança excepcional (sem CRS grave ou GvHD).	Ensaio Clínico Fase I/IIa
Marin et al. (2024)	Safety, efficacy and determinants of response of allogeneic CD19-specific CAR-NK cells in CD19 B cell tumors: a phase 1/2 trial	Nature Medicine	Apresenta os resultados de um ensaio clínico de fase 1/2 com células CAR-NK (CAR19/IL-15) derivadas de sangue de cordão umbilical para malignidades de células B. O estudo demonstrou uma taxa de resposta global de 48,6% e um perfil de segurança favorável, sem toxicidades notáveis como Síndrome de Liberação de Citocinas (CRS) grave, neurotoxicidade ou Doença do Enxerto Contra o Hospedeiro (GvHD). O motivo fundamental para a inclusão é a identificação de que a qualidade da unidade de sangue do cordão umbilical (CBU) é o preditor mais significativo para o sucesso clínico, com "CBUs ótimas" (baixo conteúdo de células vermelhas nucleadas e curto tempo de criopreservação) resultando em resultados superiores. Esta descoberta reforça a importância da seleção do doador para o sucesso de terapias alogênicas "off-the-shelf".	Ensaio Clínico Fase I/II
He et al. (2025)	Interleukin-21 engineering enhances CD19-specific CAR-NK cell activity against B-cell lymphoma via enriched metabolic pathways	Experimental Hematology & Oncology	O estudo compara células CAR-NK engenheiradas para expressar IL-21 versus IL-15. Demonstrou que a engenharia com IL-21 resultou em citotoxicidade, persistência e atividade antitumoral superiores contra o linfoma de células B, tanto <i>in vitro</i> quanto <i>in vivo</i> , devido à melhoria das vias metabólicas. É fundamental por apresentar uma estratégia de "blindagem" (armoring) superior para a terapia.	Estudo Pré-clínico
Huang et al. (2025)	Safety and efficacy of CD33-targeted CAR-NK cell therapy for relapsed/refractory AML	Experimental Hematology & Oncology	Detalha a avaliação pré-clínica e um ensaio de fase I de células CAR-NK anti-CD33 para LMA, demonstrando eficácia (60% RC MRD-negativa) com toxicidade limitada e perfil de segurança favorável em comparação com CAR-T.	Estudo pré-clínico e Ensaio Clínico Fase I
Burger et al. (2023)	Intracranial injection of natural killer cells engineered with a HER2-targeted chimeric antigen receptor in patients with recurrent glioblastoma	Neuro-Oncology	Primeiro ensaio clínico a explorar a injeção intracraniana de células CAR-NK (HER2) em glioblastoma, estabelecendo a segurança e viabilidade desta abordagem para tumores sólidos no SNC.	Ensaio Clínico Fase I
Jørgensen et	The clinical landscape of	Journal for	Fornecer uma análise abrangente de 120 ensaios	Revisão

al. (2025)	CAR NK cells	ImmunoTherapy of Cancer	clínicos de CAR-NK, detalhando alvos, doenças, fontes celulares e estratégias de fabricação, destacando a crescente aplicação em doenças autoimunes.	Sistemática de Ensaios Clínicos
Park, H. et al. (2024)	Efficacy and safety of natural killer cell therapy in patients with solid tumors: a systematic review and meta-analysis	Frontiers in Immunology	Realiza uma metanálise sobre a eficácia e segurança da terapia com células NK em tumores sólidos. Fundamental para suportar a conclusão de que as respostas clínicas neste cenário são, em sua maioria, modestas.	Revisão Sistemática e Metanálise
Karamivandishi et al. (2025)	Chimeric antigen receptor natural killer cell therapy: A systematic review of preclinical studies for hematologic and solid malignancies	Human Immunology	Fornece uma síntese exaustiva da evidência pré-clínica (71 estudos em animais) sobre a eficácia da terapia CAR-NK em malignidades hematológicas e tumores sólidos, detalhando o impacto de diferentes construções de CAR, fontes celulares e dosagens, sendo fundamental para contextualizar os desafios translacionais.	Revisão Sistemática
Hastings (2022)	CAR NK Cell Therapies Show Preliminary Safety and Efficacy in AML, Non-Hodgkin Lymphoma	OncoLive	Reporta resultados preliminares dos ensaios com NKX101 (anti-NKG2D) e NKX019 (anti-CD19), mostrando altas taxas de resposta (60% CR em LMA) e segurança em pacientes fortemente pré-tratados.	Reportagem de Ensaio Clínico
Senti Bio (2025)	Off-the-Shelf CAR-NK Therapy SENTI-202 Shows Potential for Complete Remission in R/R AML	Pharmacy Times	Reportagem sobre os resultados clínicos da terapia "off-the-shelf" SENTI-202 para LMA. Essencial por fornecer um exemplo concreto e nomeado do paradigma de produto farmacêutico padronizado e pronto para uso.	Reportagem de Ensaio Clínico
Yu et al. (2024)	Allogenic CD19 CAR NK Cells Therapy in Refractory Systemic Lupus Erythematosus: An Open-label, Single Arm, Prospective and Interventional Clinical Trial	ACR Convergence 2024	Apresenta dados de um ensaio clínico mostrando que a terapia CAR-NK é segura e eficaz para Lúpus Eritematoso Sistêmico (LES), com 4 de 8 pacientes alcançando remissão DORIS, expandindo a aplicação para doenças autoimunes.	Relato de Ensaio Clínico
ClinicalTrials.gov (2024)	NKX101, Intravenous Allogeneic CAR NK Cells, in Adults With AML or MDS	NCT04623944	Descreve o protocolo e status de um ensaio clínico de fase 1 com CAR-NK alogênico (NKX101) contra ligantes de NKG2D em LMA e SMD, uma fonte importante de dados sobre alvos e segurança.	Protocolo de Ensaio Clínico
Li, L. et al. (2023)	Loss of metabolic fitness drives tumor resistance after CAR-NK cell therapy and can be overcome by cytokine engineering	Science Advances	Investiga a exaustão metabólica como um mecanismo de resistência à imunoterapia com células CAR-NK. Usando análises de célula única, demonstra que a interação com tumores metabolicamente ativos leva à perda de "fitness" metabólico das células NK, resultando em disfunção e recidiva do tumor. O estudo prova que a co-expressão de IL-15 pode restaurar parcialmente essa aptidão metabólica e prolongar a persistência das células. É fundamental para elucidar um mecanismo de falha terapêutica e propor uma solução clínica (uma segunda infusão) para superá-lo.	Estudo pré-clínico
Bexte et al. (2024)	Engineering of potent CAR NK cells using non-viral Sleeping Beauty transposition from minimalist DNA vectors	Molecular Therapy	Apresenta uma abordagem de engenharia genética não viral, o sistema de transposon 'Sleeping Beauty', para a modificação estável de células CAR-NK. Crucial por exemplificar uma solução para a baixa eficiência da transdução viral em células NK primárias.	Estudo Pré-clínico
Wang et al. (2024)	Precision Enhancement of CAR-NK Cells through Non-Viral Engineering and Highly	bioRxiv (Preprint)	Apresenta uma abordagem inovadora de engenharia não viral (transposon TcBuster) combinada com edição de base multiplex para	Pré-publicação (Estudo pré-clínico)

	Multiplexed Base Editing		aprimorar a função das células CAR-NK, superando limitações de vetores virais.	
Shankar et al. (2023)	Preclinical assessment of CAR-NK cell-mediated killing efficacy and pharmacokinetics in a rapid zebrafish xenograft model	bioRxiv (Preprint)	Estabelece um modelo de xenotransplante em larvas de peixe-zebra para avaliação pré-clínica rápida da eficácia de células CAR-NK contra câncer de mama metastático, validando a citotoxicidade <i>in vivo</i> .	Pré-publicação (Estudo pré-clínico)
Krug, Martinez-Turtos & Verhoeven (2021)	Importance of T, NK, CAR T and CAR NK Cell Metabolic Fitness for Effective Anti-Cancer Therapy: A Continuous Learning Process Allowing the Optimization of T, NK and CAR-Based Anti-Cancer Therapies	Cancers	Revisão que destaca a importância do 'fitness' metabólico das células CAR-NK para uma terapia eficaz. Fundamental por estabelecer a conexão entre o TME hostil (hipóxico, com privação de nutrientes) e o prejuízo à função mitocondrial, justificando a necessidade de engenharia metabólica.	Revisão
Verhezen et al. (2025)	DRP1 depletion protects NK cells against hypoxia-induced dysfunction	bioRxiv (Preprint)	Aborda um desafio central para a terapia CAR-NK em tumores sólidos: a disfunção celular induzida pela hipóxia no microambiente tumoral (TME). A pesquisa demonstra que a inativação de DRP1, uma proteína chave na fissão mitocondrial, protege a função mitocondrial e a citotoxicidade das células NK em ambientes hipóxicos. A deleção de DRP1 via CRISPR-Cas9 em células CAR-NK "blindadas" com IL-15 permitiu que elas mantivessem sua eficácia, apresentando uma estratégia de engenharia metabólica para "proteger" as células NK da supressão tumoral.	Pré-publicação (Estudo pré-clínico)
Park et al. (2025)	Advancing Natural Killer Cell Therapy: Genetic Engineering Strategies for Enhanced Cancer Immunotherapy	Annals of Laboratory Medicine	Revisa as estratégias de engenharia genética para células NK, incluindo métodos virais e não virais (como eletroporação e nanopartículas), e o uso de CARs para superar as limitações das células NK não modificadas, sendo fundamental para a discussão sobre os métodos de produção e engenharia.	Revisão
Khorasani, Yousefi & Bashash (2022)	CAR NK cell therapy in hematologic malignancies and solid tumors; obstacles and strategies to overcome the challenges	International Immunopharmacology	Analisa os desafios da terapia CAR-NK, especialmente em tumores sólidos (TME, tráfego), e discute estratégias para melhorar a eficácia, como a engenharia genética e terapias combinadas.	Revisão
Li & Feng (2024)	Chimeric antigen receptor-natural killer (CAR-NK) cell immunotherapy: A bibliometric analysis from 2004 to 2023	Human Vaccines & Immunotherapeutics	Realiza uma análise quantitativa da literatura sobre a terapia CAR-NK (1.259 publicações) para identificar tendências, os principais países (EUA e China), instituições e autores, além de prever os futuros pontos de interesse na área, fornecendo um panorama geral do campo de pesquisa.	Análise Bibliométrica
Huang et al. (2023)	CAR-NK cell therapy for hematological malignancies: recent updates from ASH 2022	Journal of Hematology & Oncology	Fornecer uma revisão das atualizações recentes sobre a terapia CAR-NK para malignidades hematológicas (ASH 2022). Relevante por discutir avanços no design de receptores, como a incorporação de domínios coestimulatórios específicos de NK para otimizar a citotoxicidade.	Revisão
Li, J. et al. (2024)	CAR-NK cells in combination therapy against cancer: A potential paradigm	Heliyon	Discute as vantagens das células CAR-NK 'off-the-shelf' e as estratégias de engenharia para melhorar a persistência e a função, abordando a principal limitação da terapia, a baixa eficácia contra tumores sólidos devido ao TME, destacando estratégias como TRUCKs/CARs blindados, sendo uma abordagem chave para a próxima geração de terapias.	Revisão

Rafiq (2024)	Keynote Presentation: Engineering Metabolically Fit, Memory-Rich CAR T cells for Treatment of Cancer	Labroots	Apresentação que discute a engenharia de células CAR-T para melhorar a durabilidade ('fitness' metabólico e memória). Relevante por destacar o desafio de "desacoplar a durabilidade da toxicidade", um conceito central para a próxima geração de terapias celulares, incluindo CAR-NK.	Apresentação em Conferência
Guedan et al. (2019)	Engineering and Design of Chimeric Antigen Receptors	Molecular Therapy - Methods & Clinical Development	Revisão fundamental sobre a engenharia de CARs que detalha como a otimização de componentes, como a afinidade do scFv, é crucial, estabelecendo o princípio de que afinidades muito altas podem levar a sinalização técnica e exaustão celular.	Revisão
Cifaldi et al. (2023)	DNAM-1 chimeric receptor-engineered NK cells: a new frontier for CAR-NK cell-based immunotherapy	Frontiers in Immunology	Artigo de perspectiva que explora o uso do receptor ativador DNAM-1 como um componente de sinalização para construções de CAR-NK. Relevante por detalhar o potencial do DNAM-1 para potencializar a citotoxicidade e servir como uma estratégia "NK-cêntrica" promissora.	Perspectiva/Revisão
Daher & Rezvani (2018)	Next generation natural killer cells for cancer immunotherapy: the promise of genetic engineering	Current Opinion in Immunology	detalha as limitações da terapia com células NK (baixa persistência, tráfego deficiente e supressão pelo TME) e cataloga as estratégias de engenharia genética para superar cada um desses desafios. Fornece um "mapa" conceitual que justifica a necessidade da engenharia de próxima geração, explicando como a modificação de citocinas (IL-15), receptores de quimiocinas (CXCR4) e a resistência ao TME (bloqueio de TGF- β) são essenciais para o futuro da imunoterapia CAR-NK.	Revisão
Biederstädt & Rezvani (2021)	Engineering the next generation of CAR-NK immunotherapies	International Journal of Hematology	Detalha as abordagens de engenharia para células CAR-NK, focando na otimização da construção do CAR (incluindo domínios de dobradiça, transmembrana e abordagens de engenharia multiplexada, incluindo CRISPR/Cas9), fontes celulares e estratégias para aumentar a persistência e a atividade antitumoral com base na biologia NK-cêntrica.	Revisão
Valeri et al. (2022)	Overcoming tumor resistance mechanisms in CAR-NK cell therapy	Frontiers in Immunology	Foca nos mecanismos de resistência à terapia CAR-NK, incluindo exaustão celular, tráfego tumoral deficiente e a curta persistência <i>in vivo</i> , e propõe o uso de engenharia genética (CRISPR/Cas9) para superá-los.	Revisão
Burga et al. (2019)	Engineering the TGF β receptor to Enhance the Therapeutic Potential of Natural Killer Cells as an Immunotherapy for Neuroblastoma	Clinical Cancer Research	Demonstra uma estratégia de "blindagem" (<i>armoring</i>) para superar a imunossupressão causada pelo TGF β no microambiente tumoral do neuroblastoma. Células NK foram modificadas com um receptor de TGF β dominante-negativo para converter o sinal inibitório em ativador, resultando em maior citotoxicidade e sobrevida em modelos pré-clínicos.	Estudo Pré-clínico
Xie et al. (2020)	CAR-NK cells: A promising cellular immunotherapy for cancer	EBioMedicine	Revisa as fontes de células NK, o design de CARs e os resultados pré-clínicos e clínicos da terapia CAR-NK, destacando seu potencial como uma imunoterapia celular segura e eficaz.	Revisão
Yang et al. (2024)	Advances in CAR-NK cell therapy for hematological malignancies	Frontiers in Immunology	Foca nos avanços da terapia CAR-NK para malignidades hematológicas, detalhando o progresso terapêutico, as construções de CAR utilizadas e os desafios remanescentes.	Revisão
Li, T. et al. (2024)	CAR-NK cells for cancer immunotherapy: Recent	Frontiers in Immunology	Artigo de revisão fundamental que mapeia o cenário atual da terapia CAR-NK. Essencial por	Revisão

	advances and future directions		sintetizar os "avanços recentes" e as "direções futuras", servindo como base para a análise da trajetória do campo.	
Balkhi et al. (2025)	CAR-NK cell therapy: promise and challenges in solid tumors	Frontiers in Immunology	Detalha as tendências e conceitos emergentes na engenharia de CAR-NK de próxima geração, com foco na aplicação e desafios em tumores sólidos.	Revisão
Li, H. et al. (2022)	Preclinical and clinical studies of CAR-NK-cell therapies for malignancies	Frontiers in Immunology	Oferece uma visão geral abrangente das fontes de células NK (PB, UCB, iPSC, NK-92), métodos de transdução e alvos pré-clínicos para malignidades hematológicas e tumores sólidos.	Revisão
Rafei, Daher & Rezvani (2021)	Chimeric antigen receptor (CAR) natural killer (NK)-cell therapy: leveraging the power of innate immunity	British Journal of Haematology	Detalha as vantagens biológicas das células NK, os desafios de persistência e do TME, e as estratégias de engenharia para superá-los, como a expressão de citocinas.	Revisão
Kilgour et al. (2023)	Advancements in CAR-NK therapy: lessons to be learned from CAR-T therapy	Frontiers in Immunology	Analisa criticamente os desafios da terapia CAR-NK (persistência, tráfico, fitness metabólica) à luz da experiência com CAR-T, propondo soluções de engenharia.	Revisão
Guo, Zhang & Cui (2024)	Manufacturing CAR-NK against tumors: Who is the ideal supplier?	Chinese Journal of Cancer Research	Compara criticamente as diferentes fontes de células NK (PB, UCB, NK-92, iPSC) para a fabricação de produtos CAR-NK, analisando vantagens e desvantagens de cada uma.	Revisão
Basar, Daher & Rezvani (2020)	Next-generation cell therapies: the emerging role of CAR-NK cells	Blood Advances	Apresenta uma visão geral do papel emergente das células CAR-NK como uma alternativa mais segura e acessível à terapia CAR-T, destacando os resultados de ensaios clínicos iniciais.	Revisão
Zanfagnin & Mathur (2022)	CAR T-Cell Therapies: Opportunities and Challenges	CAP Today (Comunicado de Imprensa)	Embora focada em CAR-T, a revisão detalha desafios como toxicidades e acesso, que são o principal motivador para o desenvolvimento de alternativas como a CAR-NK.	Reportagem e Revisão
Lamers-Kok et al. (2022)	Natural killer cells in clinical development as non-engineered, engineered, and combination therapies	Journal of Hematology & Oncology	Apresenta o status clínico das terapias com células NK, abordando produtos não engenheirados, engenheirados (incluindo CAR-NK) e terapias de combinação. É fundamental por analisar as fontes celulares, métodos de produção e os resultados de ensaios clínicos para tumores sólidos e hematológicos.	Revisão
Khan et al. (2025)	Advances in CAR T cell therapy: antigen selection, modifications, and current trials for solid tumors	Frontiers in Immunology	Analisa os obstáculos da terapia CAR-T (custo, toxicidade) e introduz a CAR-NK como uma alternativa "off-the-shelf" com potencial para superar essas limitações.	Revisão
Peng et al. (2024)	CAR-T and CAR-NK as cellular cancer immunotherapy for solid tumors	Cellular & Molecular Immunology	Discute os avanços e desafios das imunoterapias com células CAR-T e CAR-NK, com foco nos obstáculos para aplicação em tumores sólidos. Compara as vantagens e desvantagens da CAR-NK em relação à CAR-T, sendo fundamental para a contextualização e análise comparativa das duas plataformas.	Revisão
Wrona, Borowiec & Potemski (2021)	CAR-NK Cells in the Treatment of Solid Tumors	International Journal of Molecular Sciences	Revisa as diferenças, vantagens e desvantagens das terapias CAR-T e CAR-NK, destacando a maior facilidade de manipulação e o perfil de segurança superior das CAR-NK.	Revisão
Zhang et al. (2023)	Chimeric antigen receptor engineered natural killer cells for cancer therapy	Experimental Hematology & Oncology	Fornecer uma visão geral das melhorias no design de CAR-NK, fontes celulares, métodos de transdução e alvos em estudos pré-clínicos e	Revisão

			clínicos atualizados, avaliando também os desafios remanescentes e as soluções futuras.	
Kong et al. (2024)	Chimeric antigen receptor-natural killer cell therapy: current advancements and strategies to overcome challenges	Frontiers in Immunology	Explora os avanços e limitações da terapia CAR-NK, discutindo estratégias para superar desafios como o TME hipóxico e imunossupressor.	Revisão
Guo et al. (2025)	Novel strategies to overcome tumor immunotherapy resistance using CAR NK cells	Frontiers in Immunology	Apresenta uma revisão sobre as novas estratégias para superar a resistência à imunoterapia com células CAR-NK. Relevante por focar na engenharia genética para "blindar" as células e permitir a sua função em tumores sólidos.	Revisão
Lu & Feng (2021)	CAR-NK cells from engineered pluripotent stem cells: Off-the-shelf therapeutics for all patients	STEM CELLS Translational Medicine	Argumenta a favor das iPSCs como a fonte ideal para produtos CAR-NK "off-the-shelf", destacando a capacidade de criar bancos de células mestre clonais e homogêneos.	Revisão
Immunomedics Inc. (2016)	Disease therapy with chimeric antigen receptor (car) constructs and t cells (car-t) or nk cells (car-nk) expressing car constructs	WO2016201300A1	Patente que descreve construções de CAR (ex: anti-Trop-2) para uso em células T ou NK, indicando o interesse precoce em aplicar a tecnologia CAR a células NK para diversas doenças.	Patente
UCL Business Ltd. (2017)	Chimeric antigen receptor (CAR)	US20170066838A1	Patente descrevendo uma construção de CAR anti-GD2, um alvo importante em neuroblastoma, com aplicabilidade para células T e NK, mostrando a exploração de alvos de tumores sólidos.	Patente
Fate Therapeutics, Inc. (2024)	Anti-ROR1 chimeric antigen receptors (cars), car-nk cells and related methods	WO2024073583A1	Patente recente focada em CARs anti-ROR1 para células NK, destacando o ROR1 como um alvo comercialmente relevante para tumores sólidos e o foco da indústria em plataformas CAR-NK.	Patente
Miltenyi Biotec B.V. & Co. KG (2024)	Method for expansion and maintenance of nk cells for immunotherapy	US20240415892A1	Patente que descreve um método inovador para expansão de células NK usando MSCs com MHC deletado, abordando um gargalo chave na produção em larga escala de terapias celulares.	Patente
Shanghai Gene-Optimal Biotech (2024)	Chimeric antigen receptor and use thereof	WO2024250865A1	Patente descrevendo uma construção de CAR universal que incorpora a sequência completa de NKG2D e DAP10, permitindo o reconhecimento de múltiplos ligantes e o tratamento de diversos tumores com um único produto.	Patente
Curio, Jonsson & Marinović (2021)	A summary of current NKG2D-based CAR clinical trials	Immunotherapy Advances	Fornecer uma revisão focada nos ensaios clínicos que utilizam a plataforma CAR baseada em NKG2D. Essencial para contextualizar a importância clínica e o avanço de uma das construções de CAR mais inovadoras para a biologia NK.	Revisão
Huyghe et al. (2024)	Comparative analysis of iPSC-derived NK cells from two differentiation strategies reveals distinct signatures and cytotoxic activities	Frontiers in Immunology	Compara duas estratégias de diferenciação de células NK a partir de iPSCs, revelando perfis distintos de maturação e atividade citotóxica, crucial para a otimização da manufatura.	Estudo Pré-clínico
Park, E. et al. (2024)	CAR NK92 Cells Targeting BCMA Can Effectively Kill Multiple Myeloma Cells Both In Vitro and In Vivo	Biomedicine s	Demonstra a eficácia de células CAR-NK da linhagem NK-92 direcionadas ao BCMA contra mieloma múltiplo em modelos pré-clínicos, validando o alvo para a plataforma NK.	Estudo Pré-clínico
Bergman et al. (2020)	Human NK-92 Cells Function as Target Cells for	Anticancer Research	Estudo que investiga a citotoxicidade contra a linhagem celular NK-92. Relevante por fornecer	Estudo Pré-clínico

	Human NK Cells – Implications for CAR NK-92 Therapies		contexto sobre as características e limitações da plataforma NK-92, como a necessidade de irradiação, que impacta a sua persistência e eficácia na sua variação em CAR NK	
Salehi-Shadkami et al. (2024)	Effective targeting of CD19 positive primary B-ALL cells using CAR-NK cells generated with mRNA-LNPs	bioRxiv (Preprint)	Descreve o uso de nanopartículas lipídicas (LNPs) para entregar mRNA de CAR em células NK, uma abordagem não viral promissora para a geração de terapias "off-the-shelf".	Pré-publicação (Estudo pré-clínico)
Włodarczyk & Pyrzynska (2022)	CAR-NK as a Rapidly Developed and Efficient Immunotherapeutic Strategy against Cancer	Cancers	Revisa a produção de células CAR-NK como um produto "off-the-shelf", detalhando métodos de transdução e a dupla capacidade de morte das células NK.	Revisão
Raftery, Franzén & Pecher (2023)	CAR NK Cells: The Future Is Now	Annual Review of Cancer Biology	Discute a fabricação de células CAR-NK para aplicação clínica, com foco em fontes celulares e métodos de transferência de genes, e aborda problemas e perspectivas futuras para superar limitações e ampliar sua eficácia.	Revisão
Li, W. et al. (2024)	CAR-NK Cell Therapy: A Transformative Approach to Overcoming Oncological Challenges	Biomolecules	Explora o design inovador de CAR-NK, o uso de novas citocinas e receptores para melhorar a eficácia e a capacidade única de combater a heterogeneidade tumoral.	Revisão
Zhong & Liu (2024)	Emerging roles of CAR-NK cell therapies in tumor immunotherapy: current status and future directions	Cell Death Discovery	Sintetiza as pesquisas recentes e avanços clínicos, focando nos benefícios terapêuticos e nos gargalos de desenvolvimento, especialmente em tumores sólidos.	Revisão
Carfagnini et al. (2024)	The Efficacy and Safety of CD-19 Directed CAR-NK Therapy in Adults with B-Cell Malignancies: A Meta-Analysis	Blood	Fornecer uma síntese quantitativa dos dados de eficácia e segurança de quatro estudos prospectivos, confirmando o perfil de segurança favorável da terapia CAR-NK CD19.	Meta-Análise
Lei et al. (2025)	Safety and Feasibility of a 41BB Co-Stimulated CD19 CAR-NK Cell Therapy in Refractory/Relapsed Large B-Cell Lymphoma	Nature Cancer	Demonstra a viabilidade e segurança de células CAR-NK CD19 com coestimulação 4-1BB, induzindo remissões duráveis em pacientes com linfoma de grandes células B R/R.	Ensaio Clínico Fase I
Kanner (2022)	Caribou Biosciences Selects ROR1 as the Target for CB-020, an iPSC-derived Allogeneic CAR-NK Cell Therapy	Comunicado de Imprensa	Descreve a seleção do alvo ROR1 e estratégias de "armoring" para uma plataforma CAR-NK derivada de iPSC, visando tumores sólidos e superando o TME.	Pré-clínico
Qihan Biotech (2024)	iPSC-CAR-NK Cell Therapy Clinical Result Published in Cell, Marking a Global Breakthrough in Autoimmune Disease Treatment	BioSpace (Comunicado de Imprensa)	Comunicado de imprensa da indústria que anuncia um avanço clínico com terapia CAR-NK derivada de iPSC. Relevante por validar o conceito de banco de células mestre de iPSCs para gerar produtos padronizados e por expandir a aplicação para doenças autoimunes.	Pré-clínico
Lee et al. (2024)	Preclinical Evaluation of an Allogeneic CD22 CAR-NK to Target B-Cell Hematologic Malignancies	Blood	Apresenta dados pré-clínicos para células CAR-NK CD22, uma estratégia chave para superar a recidiva por perda de antígeno CD19 após terapia direcionada.	Pré-clínico
Yu et al. (2018)	Development of GPC3-Specific Chimeric Antigen Receptor-Engineered Natural Killer Cells for the Treatment of Hepatocellular Carcinoma	Molecular Therapy	Demonstra a eficácia de células CAR-NK direcionadas a GPC3 contra o carcinoma hepatocelular in vitro e in vivo, validando um novo alvo para tumores sólidos.	Estudo Pré-clínico

Lin et al. (2024)	Efficacy of MUC1-targeted CAR-NK cells against human tongue squamous cell carcinoma	Frontiers in Immunology	Valida um novo alvo, MUC1, para a imunoterapia com células CAR-NK em um tumor sólido agressivo, o carcinoma espinocelular de língua (OTSCC). A pesquisa demonstra que células CAR-NK anti-MUC1 derivadas de Células-Tronco Pluripotentes Induzidas (iPSCs) exibem citotoxicidade significativa in vitro e inibem o crescimento do tumor in vivo em um modelo de xenoenxerto, com um perfil de segurança favorável. É fundamental por ser o primeiro a explorar essa abordagem para o OTSCC, fornecendo uma prova de conceito para uma nova indicação terapêutica em tumores sólidos.	Estudo Pré-clínico
Hung et al. (2018)	Development of Anti-Human Mesothelin-Targeted Chimeric Antigen Receptor Messenger RNA-Transfected Peripheral Blood Lymphocytes for Ovarian Cancer Therapy	Human Gene Therapy	Foca no desenvolvimento de uma imunoterapia para câncer de ovário, explorando o uso de eletroporação de RNA para expressão transitória de CAR em células T e NK, uma abordagem mais segura para mitigar toxicidades on-target/off-tumor.	Estudo Pré-clínico
Huang et al. (2022)	A Novel Platform to Manufacture High-Efficient "Off-the-Shelf" CAR-NK Products from Peripheral Blood Mononuclear Cells (PBMC)	Blood	Descreve uma plataforma inovadora para fabricação em larga escala de produtos CAR-NK a partir de PBMC sem a necessidade de células alimentadoras, superando um gargalo de produção.	Estudo Pré-clínico
Ghobadi et al. (2025)	Induced pluripotent stem-cell-derived CD19-directed chimeric antigen receptor natural killer cells in B-cell lymphoma: a phase 1, first-in-human trial	The Lancet	Apresenta resultados do primeiro ensaio clínico de fase 1 em humanos, tendo como alvo linfomas de células B, por meio da imunoterapia CAR-NK derivada de iPSC produzida como "off-the-shelf", confirmando o potencial da plataforma para desenvolver terapias eficazes, toleráveis e acessíveis, destacando a baixa toxicidade e a viabilidade da produção.	Ensaio Clínico Fase I
Fabbricatore, R. (2025)	FT596 Shows Favorable Tolerability, Response Rate in B-Cell Lymphoma	Cancer Network (Comunicado de Imprensa)	Reporta os resultados de um ensaio clínico de fase 1 com FT596, uma terapia CAR-NK derivada de iPSC, mostrando alta tolerabilidade e respostas duradouras em linfoma de células B.	Reportagem de Ensaio Clínico
Lu et al. (2021)	From CAR-T Cells to CAR-NK Cells: A Developing Immunotherapy Method for Hematological Malignancies	Frontiers in Oncology	Apresenta uma revisão focada na transição da imunoterapia CAR-T para a CAR-NK no tratamento de malignidades hematológicas. É fundamental por comparar as duas abordagens, destacando as vantagens de segurança da CAR-NK, as fontes celulares disponíveis e os desafios e perspectivas para sua aplicação clínica, servindo como uma base conceitual importante.	Revisão
Gierschek et al. (2024)	Empowering Natural Killer Cells to Combat Acute Myeloid Leukemia: Perspective on CAR-NK Cell Therapy	Therapeutic Advances in Hematology	Foca na aplicação de células CAR-NK para leucemia mieloide aguda (LMA), discutindo alvos antigênicos, fontes celulares e a combinação com outras modalidades para superar a resistência.	Revisão
Xia, Minamino & Kuwabara (2020)	CAR-expressing NK cells for cancer therapy: a new hope	Bioscience Trends	Discute as vantagens das células CAR-NK, como o menor risco de toxicidades e a capacidade de produção "off-the-shelf", posicionando-as como uma nova esperança na imunoterapia contra o câncer.	Revisão
Wittling et al. (2024)	Strategies for Improving CAR T Cell Persistence in Solid Tumors	Cancers	Revisa estratégias para aumentar a persistência de células CAR-T, um desafio central também para a terapia CAR-NK, oferecendo insights sobre	Revisão

			engenharia de citocinas e modulação metabólica.	
Pang et al. (2022)	Current progress of CAR-NK therapy in cancer treatment	Cancers	Revisa o progresso da terapia CAR-NK, incluindo propriedades biológicas, construções de CAR, preparação e avanços clínicos, além de discutir questões de segurança.	Revisão
Uhlig et al. (2025)	Advances in the Manufacturing of CAR-NK Cells for Cancer Immunotherapy	Methods in Pharmacology and Toxicology (Springer Nature)	Detalha métodos otimizados para a manufatura em larga escala de células CAR-NK, abordando fontes celulares, engenharia genética e desafios de escalonamento.	Protocolo/Capítulo de Livro
Xue (2023)	Limitations and Overcomes of CAR-NK for Cancer Immunotherapy	Highlights in Science, Engineering and Technology	Foca nas principais limitações da terapia CAR-NK, como baixa persistência, dificuldade de tráfico e o TME, e discute estratégias para superá-las.	Revisão
Riedell (2024)	Unlocking the Potential of CAR Natural Killer Cell Therapy in Hematologic Malignancies While Overcoming Challenges	ASCO Daily News	Oferece uma perspectiva clínica atualizada sobre os dados emergentes e os desafios da terapia CAR-NK em malignidades hematológicas, com foco na durabilidade da resposta.	Artigo de Revisão/Comentário
Testa, Castelli & Pelosi (2025)	Emerging Role of Chimeric Antigen Receptor-Natural Killer Cells for the Treatment of Hematologic Malignancies	Cancers	Apresenta uma revisão abrangente sobre o papel emergente das células CAR-NK em malignidades hematológicas, detalhando vantagens e limitações atuais.	Revisão
Matosevic (2018)	Viral and Nonviral Engineering of Natural Killer Cells as Emerging Adoptive Cancer Immunotherapies	Journal of Immunology Research	Discute a engenharia genética de células NK para imunoterapia, focando nos desafios da baixa eficiência de transferência gênica. Detalha e compara os avanços recentes em métodos virais e não virais (eletroporação, nanopartículas), sendo fundamental para a seção de produção e engenharia.	Revisão

Fonte: Autores (2025).

4. Discussão

A análise de conteúdo aprofundada e a síntese das evidências selecionadas revelam que a terapia com células *CAR-NK* está em uma trajetória de rápido desenvolvimento, posicionando-se não apenas como uma alternativa, mas como uma evolução lógica e promissora da imunoterapia celular (Basar, Daher & Rezvani, 2020; Xie *et al.*, 2020; Li, T. *et al.*, 2024).

A discussão a seguir foi estruturada com base nas categorias temáticas emergentes da Análise de Conteúdo (Bardin, 2016), sintetiza e interpreta os resultados, abordando os eixos que definem o estado da arte e o futuro deste campo: a revolução na produção celular, a otimização do design de receptores, a eficácia clínica contrastante entre diferentes tipos de câncer, as barreiras críticas ao sucesso da terapia e as estratégias inovadoras para superá-las.

4.1 A revolução "Off-the-Shelf": análise da produção e fontes de células CAR-NK

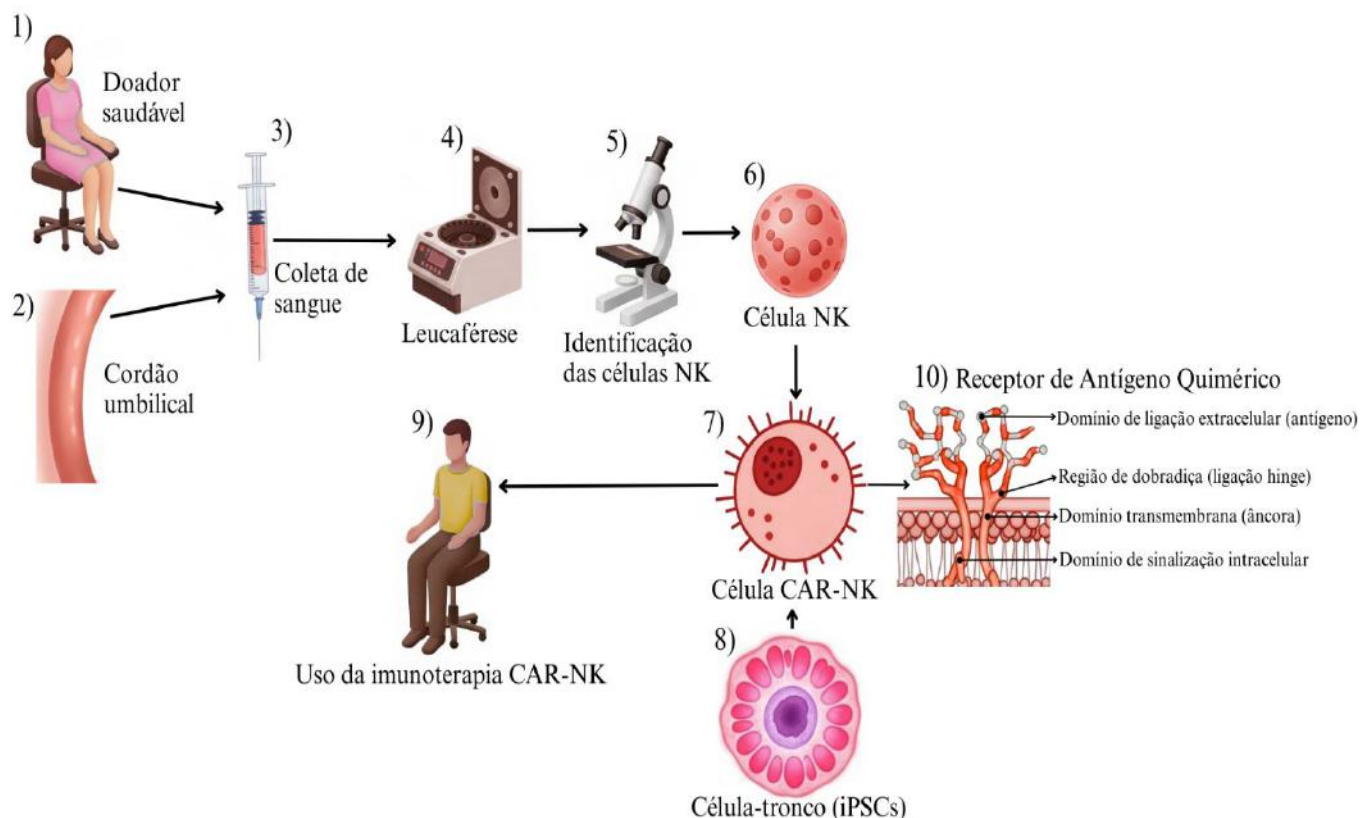
A categoria "Produção e Fontes de Células *CAR-NK*" é um tema central dessa abordagem terapêutica inovadora, refletindo a busca da indústria por um produto terapêutico ideal. A escolha da fonte de células *NK* não é apenas uma decisão logística, mas um fator determinante que molda o paradigma terapêutico, a escalabilidade e a acessibilidade do tratamento (Guo, Zhang & Cui, 2024; Li, H. *et al.*, 2022). As células *NK* de Sangue Periférico (*PB-NKs*) de doadores alogênicos, embora

acessíveis, apresentam unidades de significação recorrentes como "alta variabilidade" e "dificuldade de expansão", limitando sua padronização (Huang *et al.*, 2022). As células *NK* de Sangue do Cordão Umbilical (*UCB-NKs*) foram cruciais para a prova de conceito clínica (Liu *et al.*, 2020), sendo uma fonte alogênica com maior capacidade proliferativa. Contudo, a variabilidade entre doadores ainda é um desafio, com a qualidade da unidade de cordão impactando diretamente os resultados (Marin *et al.*, 2024). A linhagem celular *NK-92*, por sua vez, é excelente para pesquisa, mas sua origem tumoral exige irradiação pré-infusão, o que compromete severamente a persistência *in vivo* e, consequentemente, a eficácia a longo prazo (Wrona, Borowiec & Potemski, 2021; Park, E. *et al.*, 2024; Bergman *et al.*, 2020).

Nesse cenário, as células *NK* derivadas de Células-Tronco Pluripotentes Induzidas (*iPSC-NKs*) emergem como a plataforma definitiva para o futuro da terapia (Lu & Feng, 2021; Ghobadi *et al.*, 2025; Raftery, Franzén & Pecher, 2023). A análise de patentes e publicações recentes mostra um claro consenso em torno das *iPSCs*. Elas permitem a criação de um banco de células mestres clonais, que podem ser geneticamente modificadas com precisão para gerar lotes virtualmente ilimitados de células *CAR-NK* homogêneas e padronizadas (Huyghe *et al.*, 2024; Qihan Biotech, 2024). Esta abordagem representa a transição de uma "terapia" para um "produto farmacêutico" universal e de qualidade controlada (Lu & Feng, 2021). A otimização da produção, como o uso de células mesenquimais com *MHC* deletado como camada alimentadora (Miltenyi Biotec No. US20240415892A1, 2024), e a superação dos desafios de engenharia genética são cruciais. A resistência das células *NK* primárias à transdução viral (Matosevic, 2018) está sendo contornada por métodos não virais mais seguros e eficientes, como a eletroporação de *mRNA* em nanopartículas lipídicas (Salehi-Shadkani *et al.*, 2024; Hung *et al.*, 2018) e sistemas de transposons como o *TcBuster* e o *Sleeping Beauty*, que permitem engenharia multiplexada estável (Wang *et al.*, 2024; Bexte *et al.*, 2024). A convergência de *iPSCs* com engenharia não viral é, portanto, a estratégia mais robusta para industrializar a imunoterapia *CAR-NK*, tornando-a acessível e consistente (Park *et al.*, 2025; Uhlig *et al.*, 2025).

Uma representação geral das fontes celulares, do modo de produção e da estrutura do Receptor de Antígeno Quimérico (*CAR*) é apresentada a seguir na Figura 2.

Figura 2 - Visão geral das fontes celulares, produção e estrutura CAR da imunoterapia com células CAR-NK.



Legenda: Essa imagem ilustra os meios de produção da imunoterapia com células CAR-NK, sendo produzidas a partir de três fontes alogênicas distintas, além disso a figura mostra um detalhamento do Receptor de Antígeno Quimérico (CAR). (1) A primeira fonte advém de doadoras saudáveis, de onde se realiza a (3) coleta de sangue periférico, que passa pelo processo de (4) Leucaférese para o isolamento das células linfocitárias NK. (2) A segunda fonte é o sangue do cordão umbilical. De ambas as fontes, procede-se com a (5) identificação e isolamento das (6) células NK. Uma terceira e inovadora fonte são as (8) Células-Tronco Pluripotentes Induzidas (iPSCs), que podem ser diferenciadas em células NK. A seguir, as células NK (sejam primárias ou derivadas de iPSC) são geneticamente modificadas para expressar o (10) Receptor de Antígeno Quimérico. O receptor é composto por um domínio de ligação extracelular (que reconhece o antígeno alvo), uma região de dobradiça (chamada de hinge), um domínio transmembrana (que ancora o receptor na célula) e domínios de sinalização intracelular (que ativam a célula). A célula NK modificada dá origem à (7) Célula CAR-NK, o produto final que será administrado ao paciente para o (9) uso da imunoterapia CAR-NK no tratamento oncológico.

Nota: Imagem gerada com o software Gemini 2.5 Pro, em 12 de julho de 2025, com o *prompt* exato "Crie uma imagem em esquema que ilustra as etapas de produção da imunoterapia CAR-NK, o esquema precisa estar em fundo branco e a ilustração precisa ter a composição gráfica entre 2D a 2,5D; as etapas da imagem devem ser as seguintes: 1. Paciente doador (uma imagem simples de um paciente sentado em cadeira prestes a doar, detalhe somente o paciente e a cadeira); 2. Cordão umbilical (podendo ser somente o cordão umbilical, sem nenhum tipo de detalhamento adicional); 3. Coleta de sangue (seringa com sangue dentro, equipada com uma agulha); 4. Leucaférese (máquina que centrifuga o sangue coletado); 5. Identificação das células NK (microscópio sozinho ou em laboratório); 6. Célula NK sem receptores de membrana (imagem em formato grande da célula NK simples, sem possuir receptores de antígenos quiméricos em sua membrana, no caso, membrana lisa); 7. Célula CAR-NK (com receptores de antígenos quiméricos em sua membrana celular); 8. Uma célula-tronco pluripotente (também chamada de iPSCs, célula diferenciada, que pode dar origem a quaisquer células do organismo em sua diferenciação); 10. Detalhamento da membrana celular da célula CAR-NK (mostrando a dupla camada fosfolipídica e os receptores de antígenos quiméricos em zoom, essa imagem deve mostrar a ilustração externa e interna do CAR e seus domínios: de ligação; dobradiça; transmembrana e sinalização intracelular) e 9. Paciente que irá receber a imunoterapia CAR-NK (pode criar essa imagem da etapa 9 no mesmo estilo da imagem da etapa 1, como um paciente sentado em uma cadeira)".

Fonte: Autores (2025).

4.2 Otimização do "Hardware": a evolução do design do CAR para a biologia NK

A análise de conteúdo dos estudos sobre engenharia de receptores mostra uma clara evolução de uma abordagem "T-cêntrica" para uma "NK-cêntrica". O desenvolvimento inicial das células CAR-NK simplesmente adaptou construções otimizadas para células linfocitárias T, com domínios como *CD28* ou *4-1BB* (Zhang *et al.*, 2023; Lei *et al.*, 2025). O conceito de aplicar esta tecnologia a células NK já era previsto precocemente, com patentes de 2016 descrevendo construções de CAR para uso em ambas as plataformas celulares e indicando o interesse inicial do setor na versatilidade desta abordagem

(Immunomedics Inc. No. WO2016201300A1, 2016). Embora isso tenha validado o conceito, a pesquisa mais recente reconhece que as células *NK* possuem uma biologia de sinalização única que deve ser explorada para maximizar sua eficácia clínica (Biederstädt & Rezvani, 2021; Li & Feng, 2024; Li, W. *et al.*, 2024).

O verdadeiro avanço reside em criar *CARs* que se integram e potencializam as vias de sinalização citotóxica inatas da *NK*. Estudos pré-clínicos e patentes demonstram que a incorporação de domínios coestimulatórios específicos de *NK*, como *2B4* (*CD244*), ou adaptadores de sinalização como *DAP10* e *DAP12*, resulta em uma citotoxicidade superior em comparação com os *CARs* convencionais (Biederstädt & Rezvani, 2021; Huang *et al.*, 2023).

A otimização do "hardware" da célula *CAR-NK* transcende a simples escolha de domínios coestimulatórios, abrangendo uma reengenharia complexa de toda a estrutura modular do receptor para maximizar a sinergia com a biologia da célula *NK*. O domínio de ligação ao antígeno (*scFv*), por exemplo, requer um ajuste fino e preciso de sua afinidade. Uma afinidade excessivamente alta, embora intuitivamente desejável, pode induzir um estado de "Sinalização Tônica" (*Tonic Signaling*) independente do antígeno, que leva à exaustão funcional da célula *CAR-NK* e limita sua persistência (Guedan *et al.*, 2019). Adicionalmente, as regiões de dobradiça (*hinge*) e o Domínio Transmembrana (*TM*) não são meros espaçadores, mas componentes críticos que modulam a função do receptor final. O comprimento e a composição da dobradiça possuem a capacidade de determinar a distância entre a célula *NK* e seu antígeno alvo, influenciando diretamente na flexibilidade do receptor e na formação de uma ação imunológica eficaz. Da mesma forma, o domínio transmembrana impacta a estabilidade e o dimerismo do *CAR* na membrana celular, podendo influenciar sua integração com as vias de sinalização endógenas da célula *NK*, um fator crucial para uma resposta citotóxica robusta e sustentada (Biederstädt & Rezvani, 2021).

A busca por uma construção verdadeiramente "*NK-cêntrica*" impulsionou o desenvolvimento de *CARs* que incorporam domínios de sinalização de receptores ativadores nativos das células *NK*. Além do já validado *NKG2D*, outras vias de ativação potentes estão sendo exploradas, como a que envolve o receptor *DNAM-1* (*CD226*), crucial para o reconhecimento de múltiplos ligantes tumorais. A incorporação do domínio de sinalização do *DNAM-1* em construções de *CAR* demonstrou potencializar a citotoxicidade contra tumores que por meio de outras construções, seriam resistentes (Cifaldi *et al.*, 2023). Essa estratégia é vantajosa, pois acopla a especificidade do *scFv* a uma cascata de sinalização que a célula *NK* já utiliza com alta eficiência. A fronteira da inovação reside, portanto, não apenas na utilização de um único domínio, mas na combinação racional de múltiplos sinais coestimulatórios (como *2B4* e *4-1BB*) em uma única construção, mimetizando a complexa integração de sinais que governa a ativação natural das células *NK* e evitando a dependência de vias de sinalização primariamente otimizadas para células linfocitárias T (Biederstädt & Rezvani, 2021).

Para superar as barreiras impostas pelo Microambiente Tumoral (*TME*), o próprio "hardware" do *CAR* está sendo transformado em uma plataforma multifuncional, dando origem aos *CARs* de quarta geração, ou "*CARs* blindados" (*armored CARs*). A abordagem mais proeminente é a engenharia de *CARs* do tipo *TRUCK* (*T-cells/NK-cells redirected for universal cytokine-mediated killing*), que são modificados para produzir e secretar citocinas pró-sobrevivência, como a Interleucina-15 (*IL-15*). Ao ser liberada na sinapse imunológica, a *IL-15* atua de forma autócrina (liberando moléculas sinalizadoras que ligam-se na própria célula que as liberou) e parácrina (liberando moléculas sinalizadoras que afetam células vizinhas, mas, não afeta a própria célula que a liberou), promovendo a proliferação, a aptidão metabólica e a persistência das próprias células *CAR-NK*, além de recrutar e ativar outras células do sistema imune no local do tumor (Daher & Rezvani, 2018; Li, J. *et al.*, 2024). Essa estratégia transforma cada célula *CAR-NK* em uma fonte local de citocinas, modificando de forma ativa o microambiente tumoral de imunossupressor para inflamatório, ligando diretamente a engenharia do receptor à superação dos desafios de persistência e da hostilidade do *TME*.

Uma das abordagens mais inovadoras, identificada em uma patente recente, é o uso do receptor ativador *NKG2D* como base para a construção do *CAR*. Uma construção que incorpora a sequência completa de *NKG2D* e seu parceiro de

sinalização *DAP10* pode reconhecer múltiplos ligantes de estresse superexpressos em uma vasta gama de tumores (Shanghai Gene-Optimal Biotech No. WO2024250865A1, 2024). Esta estratégia cria um *CAR* "pan-câncer" que aproveita uma via de reconhecimento de tumor já existente nas células *NK*, representando um salto qualitativo no design de receptores. Esta otimização do "hardware" biológico é fundamental para desbloquear todo o potencial terapêutico da plataforma *NK* (Li, H. *et al.*, 2022; Curio, Jonsson & Marinović, 2021). A viabilidade desta abordagem já avança no cenário clínico, com ensaios de fase 1 em andamento para avaliar terapias *CAR-NK* alogênicas que utilizam receptores contra ligantes de *NKG2D* em malignidades hematológicas (ClinicalTrials.gov No. NCT04623944, 2024).

4.3 Eficácia clínica: o contraste entre malignidades hematológicas e tumores sólidos

Os resultados das análises clínicas revelaram uma dicotomia marcante. A categoria "Eficácia em Malignidades Hematológicas" está repleta de dados positivos de ensaios de fase inicial. O estudo pioneiro de Liu *et al.* (2020) com *CAR-NK* anti-*CD19* de cordão umbilical relatou uma taxa de resposta objetiva (*ORR*) de 73% e 64% de Resposta Completa (*CR*) em pacientes com linfoma e LLC, com um perfil de segurança excepcional. Dados de seguimento e outros ensaios corroboram esses achados, com *ORRs* entre 50-70% e *CRs* de até 60% (Hastings, 2022; Marin *et al.*, 2024; Carfagnini *et al.*, 2024). Reforçando essa tendência, ensaios clínicos de fase 1 mais recentes começam a validar o uso de plataformas de *iPSCs*, demonstrando não apenas baixa toxicidade, mas também a viabilidade da produção 'off-the-shelf' para o tratamento de linfomas de células B refratários (Ghobadi *et al.*, 2025). Contudo, um desafio conhecido com as terapias que visam o *CD19* é a possibilidade de recidiva devido à perda do antígeno-alvo pelas células tumorais. Para superar este mecanismo de resistência, a investigação de alvos alternativos é uma estratégia-chave, com a avaliação pré-clínica de células *CAR-NK* direcionadas ao antígeno *CD22* já demonstrando resultados promissores para o tratamento de malignidades de células B (Lee *et al.*, 2024). A eficácia também se estende a outras doenças, como *LMA*, onde *CARs* anti-*CD33* alcançaram 60% de *RC MRD*-negativa com toxicidade manejável (Gierschek *et al.*, 2024; Huang *et al.*, 2025), e até mesmo a doenças autoimunes como o lúpus, onde a terapia *CAR-NK* induziu remissão (Yu *et al.*, 2024; Riedell, 2024).

Em contrapartida, a análise da categoria "Eficácia em Tumores Sólidos" revela um cenário muito mais desafiador (Balkhi *et al.*, 2025; Peng *et al.*, 2024; Wittling *et al.*, 2024). Embora haja sinais de atividade, como no ensaio de injeção intracraniana de *CAR-NK* anti-*HER2* para glioblastoma, que demonstrou segurança e viabilidade (Burger *et al.*, 2023), as respostas clínicas são, na melhor das hipóteses, modestas, consistindo majoritariamente em doença estável (Jørgensen *et al.*, 2025; Park, H. *et al.*, 2024). Este esforço para transpor a barreira dos tumores sólidos não é recente, com o desenvolvimento de propriedade intelectual para alvos específicos, como o neuroblastoma, ocorrendo há vários anos. Patentes descrevendo construções de *CAR* aplicáveis a células *NK*, como as que visam o antígeno *GD2*, exemplificam essa busca contínua por soluções (UCL Business Ltd. No. US20170066838A1, 2017).

A análise de conteúdo aponta para uma "muralla do tumor sólido" como a causa, uma barreira multifacetada composta por três unidades de significação recorrentes: (1) tráfego ineficiente, (2) persistência limitada e (3) um Microambiente Tumoral (*TME*) hostil (Valeri *et al.*, 2022; Khorasani, Yousefi & Bashash, 2022). Essa barreira multifacetada foi corroborada por uma extensa revisão sistemática de estudos pré-clínicos, que analisou 71 modelos animais de terapias *CAR-NK*. A pesquisa concluiu que a eficácia antitumoral em modelos de tumores sólidos é altamente variável e dependente de múltiplos fatores, como a linhagem celular utilizada, a geração do receptor *CAR*, a dosagem de células e o modelo tumoral específico. Essa heterogeneidade nos resultados pré-clínicos destaca a complexidade intrínseca de se obter uma resposta consistente contra tumores sólidos, revelando que os desafios enfrentados na clínica já estão profundamente enraizados na biologia e na interação da imunoterapia *CAR-NK* com o *TME* desde os estágios mais iniciais de desenvolvimento

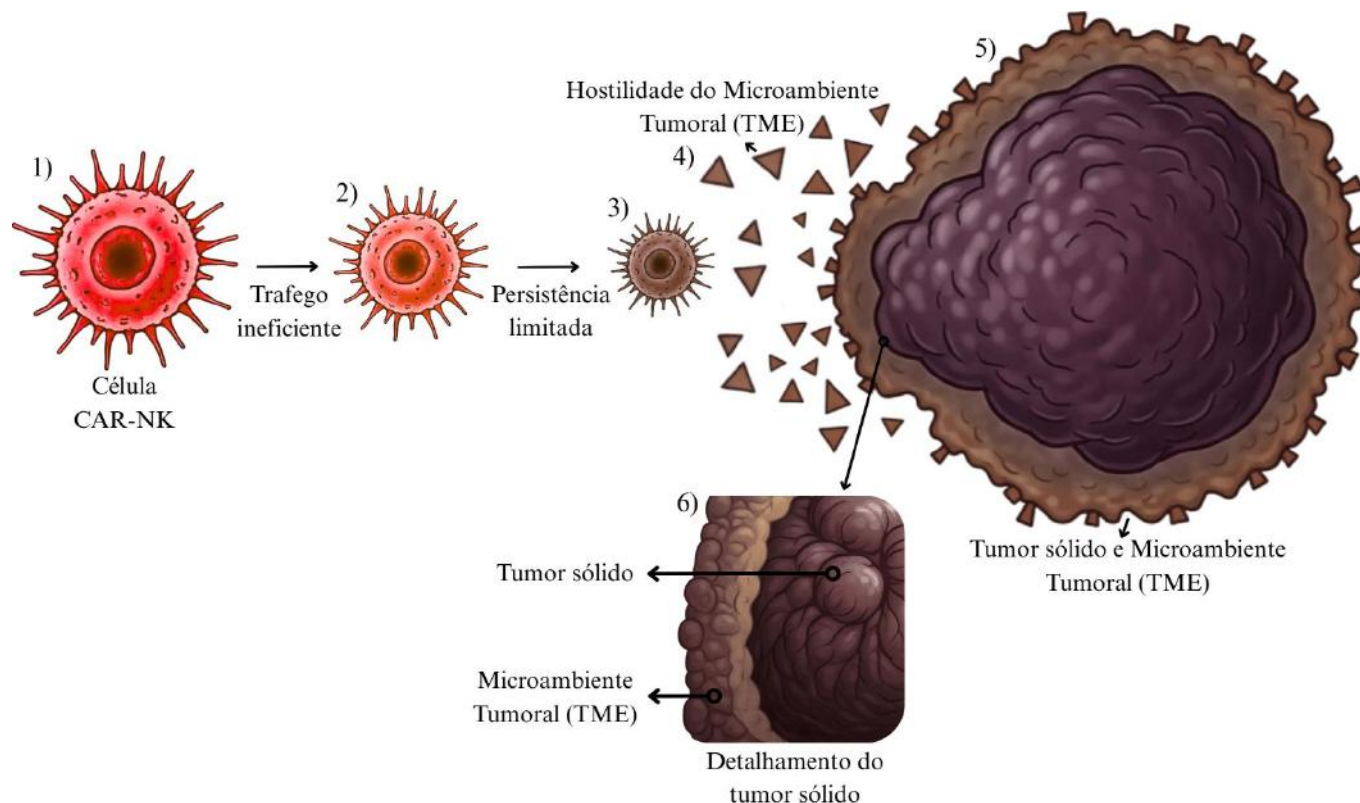
(Karamivandishi *et al.*, 2025). A mesma alogeneidade que confere segurança e o potencial "*off-the-shelf*" leva a uma rejeição mais rápida pelo sistema imune do hospedeiro, resultando em baixa persistência (Kilgour *et al.*, 2023).

A baixa persistência das células *CAR-NK* alogênicas é um obstáculo imunológico previsível, mas significativo. O sistema imune do hospedeiro, especialmente suas próprias células T e *NK* residentes, é apto a reconhecer e eliminar as células infundidas. As células T do paciente podem identificar as moléculas do Complexo Principal de Histocompatibilidade (*MHC*) que são diferentes (não-próprias) na superfície das células *CAR-NK* do doador, desencadeando uma resposta de rejeição clássica. Adicionalmente, as próprias células *NK* do hospedeiro podem atacar as células *CAR-NK* infundidas por meio do mecanismo de "*missing-self*", onde a ausência de ligantes inibitórios específicos do hospedeiro nas células do doador sinaliza para a destruição. Esse duplo mecanismo de vigilância imunológica é a principal causa para a rápida eliminação das células terapêuticas, limitando a janela de sua atividade antitumoral (Kilgour *et al.*, 2023; Xue, 2023).

Portanto, o desafio central da engenharia de próxima geração é desacoplar a durabilidade da toxicidade, um tema recorrente na literatura, visando a melhoria da persistência com base em outras estratégias de engenharia genética (Li, J. *et al.*, 2024; Rafiq, 2024). No entanto, a validação de novos alvos em modelos pré-clínicos robustos continua a gerar otimismo. Esforços de pesquisa têm validado alvos como o *GPC3* para o carcinoma hepatocelular (Yu *et al.*, 2018) e o *MUC1* para o carcinoma espinocelular oral (Lin *et al.*, 2024), ilustrando a ampla gama de tumores sólidos que são alvos potenciais para esta abordagem.

Nas linhas seguintes, a Figura 3 apresenta a "Muralha do Tumor Sólido", ilustrando o tráfego ineficiente e a persistência limitada causada pela hostilidade do Microambiente Tumoral, que dificultam a eficácia das células *CAR-NK*.

Figura 3 - Representação conceitual e ilustrativa da "Muralha do Tumor Sólido" e os desafios enfrentados pela imunoterapia CAR-NK.



Legenda: A imagem detalha os desafios que a imunoterapia de (1) Células CAR-NK funcionais enfrenta ao tentar combater um tumor sólido. O primeiro obstáculo é o (2) Tráfego ineficiente, que representa a dificuldade da célula em migrar da circulação e se infiltrar no tecido tumoral. Em seguida, a célula sofre com a (3) Persistência limitada, um processo de exaustão ou eliminação que a torna enfraquecida e menos viável. Ao finalmente se aproximar do (5) Tumor sólido, a célula debilitada encontra a (4) Hostilidade do Microambiente Tumoral (TME), que ativamente a repele e suprime sua função. O (6) Detalhamento do tumor sólido mostra a composição dessa barreira: a massa de células tumorais em si e o microambiente que a envolve, funcionando como um escudo físico e químico que impede a ação terapêutica.

Nota: Imagem gerada com o software Gemini 2.5 Pro, em 13 de julho de 2025, com o *prompt* exato "Crie uma imagem científica e conceitual. A imagem deve ilustrar células CAR-NK tentando aproximar-se de um tumor sólido. O tumor deve ser representado como uma massa saliente e deformada, tendo uma barreira de células ao redor dele. Ilustre as três principais barreiras representadas: 1. O tráfego ineficiente (as células CAR-NK tentando aproximar-se do tumor, onde, quanto mais próximo, menor ela é e menor é sua eficácia, além disso, ilustre algo que dificulta a passagem da célula para o Microambiente Tumoral (TME), como uma barreira de células envolta do tumor); 2. Persistência Limitada (as células CAR-NK devem parecer gradualmente menores e com cores representativas dessa baixa persistência ao se aproximar do Microambiente Tumoral (TME)); 3. Tumor e Microambiente Tumoral (TME) Hostil (aqui, o tumor deve estar cercado por um estroma celular denso, representando o estroma tumoral, o que dificulta a passagem das células para o devido reconhecimento e eficácia da imunoterapia, o estroma tumoral deve estar expelindo substâncias que repelem as células CAR-NK além de diminuir sua persistência); 4. Imagem aproximada do Microambiente Tumoral (TME) Hostil (mostrando detalhes aproximados do tumor sólido). O estilo da imagem deve ser esquemático, com cores que diferenciem claramente as células, as barreiras, o tumor e a visão aproximada do TME. O fundo da imagem deve ser branco e a composição gráfica da imagem precisa ser entre 2D e 2,5D".

Fonte: Autores (2025).

4.4 A fronteira da inovação: engenharia de células CAR-NK "Blindadas" (Armored) e perspectivas futuras

A análise da literatura mais recente, incluindo *preprints* e patentes, revela que a fronteira da inovação está focada em desenvolver estratégias de engenharia genética para "blindar" as células NK, permitindo que superem a muralha imposta pelos tumores sólidos (Kong *et al.*, 2024; Guo *et al.*, 2025). O futuro não reside em um único avanço disruptivo, mas na integração de múltiplas estratégias de "blindagem" em uma única plataforma celular, provavelmente baseada em *iPSCs* (Lu & Feng, 2021; Daher & Rezvani, 2018).

Entre as abordagens mais validadas para combater a baixa persistência das células CAR-NK está a co-expressão de citocinas de suporte, como a *IL-15*. Ao projetar as células para produzir sua própria *IL-15*, elas tornam-se independentes do suporte exógeno, o que demonstrou aumentar substancialmente sua persistência e função antitumoral *in vivo* (Li, L. *et al.*,

2023; Li, J. *et al.*, 2024; Wang *et al.*, 2024; Lu *et al.*, 2021). Para superar a limitação do tráfego, outra estratégia ativa consiste na introdução de receptores de quimiocinas como o *CXCR4*, que atuam como um "GPS molecular", guiando as células ao *TME* (Valeri *et al.*, 2022).

Já no combate à capacidade imunossupressora do *TME*, a tecnologia de edição genética com *CRISPR-Cas9* tem sido empregada para nocautear geneticamente receptores inibitórios, como o *TGF-βRII* (permitindo resistência à sinalização supressora do *TGF-β*), ou genes reguladores negativos como o *CISH*, que limita a sinalização à *IL-15* (Valeri *et al.*, 2022; Burga *et al.*, 2019).

Uma alternativa promissora ao uso da *IL-15* é a engenharia de células *CAR-NK* para expressarem Interleucina-21 (*IL-21*), estratégia que resultou em persistência e atividade antitumoral superiores *in vivo*. Esse efeito foi atribuído à melhora da aptidão metabólica das células, promovendo enriquecimento das vias de citotoxicidade e de sinalização por citocinas, posicionando a *IL-21* como uma estratégia de "blindagem" (*armoring*) potencialmente mais eficaz para futuras imunoterapias *CAR-NK* (He *et al.*, 2025).

A engenharia metabólica também representa uma fronteira crítica. O *TME*, caracterizado como um ambiente hipóxico e depletor de nutrientes, compromete a função mitocondrial (Krug, Martinez-Turtos & Verhoeven, 2021). Um *preprint* recente demonstrou que a ablação do gene *DRP1*, que regula a fissão mitocondrial, pode proteger as células *CAR-NK* da disfunção induzida por hipóxia, preservando sua capacidade citotóxica (Verhezen *et al.*, 2025).

Buscando maximizar o potencial terapêutico, especialmente contra a barreira dos tumores sólidos, há um interesse crescente na combinação da imunoterapia *CAR-NK* com outras modalidades. A associação com inibidores de *checkpoint* imunológico, por exemplo, pode reverter a exaustão funcional induzida pelo *TME*, prolongando sua atividade antitumoral. Outra estratégia promissora é a combinação com radioterapia ou quimioterapia, capazes de induzir morte celular imunogênica, liberando antígenos tumorais e remodelando o *TME*, tornando-o mais receptivo à infiltração e ação das células *CAR-NK*. Tais sinergias transformam a abordagem terapêutica, utilizando estratégias complementares para enfraquecer as defesas tumorais enquanto intensificam o ataque das células imunomoduladas, sendo um caminho lógico para amplificar a eficácia clínica (Khorasani, Yousefi & Bashash, 2022; Li *et al.*, 2024; Gierschek *et al.*, 2024).

A combinação dessas abordagens, como descrito em patentes recentes (Fate Therapeutics No. WO2024073583A1, 2024) e *preprints* (Wang *et al.*, 2024), tem impulsionado o desenvolvimento de células *CAR-NK* "blindadas", multifuncionais e projetadas para não apenas matar, mas também para sobreviver, trafegar e resistir à supressão em ambientes hostis, representando a próxima geração da imunoterapia celular (Testa, Castelli & Pelosi, 2025). O foco da indústria no alvo *ROR1*, por exemplo, é um claro indicativo dessa tendência inovadora, sendo objeto não apenas de patentes (Fate Therapeutics No. WO2024073583A1, 2024), mas também de anúncios de desenvolvimento de novas terapias por empresas de biotecnologia (Kanner, 2022).

Além da engenharia das células propriamente ditas, a inovação nas ferramentas de avaliação pré-clínica surge como uma fronteira essencial para acelerar o progresso. Testar múltiplas estratégias de *armoring* em modelos animais tradicionais é complexo, caro e demorado, representando um gargalo significativo. Nesse cenário, o uso de plataformas mais rápidas e acessíveis, como modelos de xenoinxerto em larvas de peixe-zebra, tem ganhado destaque. Esses modelos permitem avaliar com agilidade a eficácia e a farmacocinética de células *CAR-NK* contra tumores sólidos metastáticos, representando um avanço metodológico relevante (Shankar *et al.*, 2023).

5. Conclusão

A presente revisão sistemática conclui que a imunoterapia com células *CAR-NK* deixou de ser concebida apenas como uma alternativa à terapia *CAR-T*, assumindo um papel próprio enquanto abordagem terapêutica com vantagens tecnológicas e

biológicas distintas. Seu principal alicerce reside na combinação de um perfil de segurança intrinsecamente favorável, com ausência de Doença do Enxerto Contra o Hospedeiro (*GvHD*) e menor risco de neurotoxicidades graves, com o potencial transformador de um modelo de produção “*off-the-shelf*”. Essa concepção representa um salto qualitativo ao contornar as limitações logísticas e econômicas inerentes aos modelos autólogos, propondo uma alternativa celular padronizada, escalável e com perspectiva de ampla acessibilidade.

As evidências clínicas atuais revelam uma dicotomia no que concerne à eficácia. Em malignidades hematológicas, os resultados são robustos e promissores, com ensaios clínicos demonstrando taxas de remissão de até 70% em linfomas e leucemias refratárias. Além disso, seu campo de aplicação está se expandindo para além da oncologia, com dados iniciais apontando para seu potencial terapêutico no tratamento de doenças autoimunes, como o lúpus eritematoso sistêmico (*LES*). Em contrapartida, o enfrentamento dos tumores sólidos permanece um desafio significativo. Essa resistência multifatorial é representada pela chamada “muralha do tumor sólido”, composta por baixa persistência *in vivo*, tráfego celular limitado e um microambiente tumoral (*TME*) fortemente imunossupressor, que impõe estresse metabólico severo e compromete a funcionalidade mitocondrial das células *CAR-NK*.

Superar essa muralha tornou-se o novo fronte de inovação, impulsionando a engenharia de células *CAR-NK* “blindadas” (*armored*), que integram múltiplas funcionalidades em uma única plataforma. Nesse contexto, o futuro desta terapia reside na sinergia de quatro pilares tecnológicos; (1) a plataforma de produção definitiva: as Células-Tronco Pluripotentes Induzidas (*iPSCs*) emergiram como a fonte celular ideal, permitindo a criação de bancos de células mestras clonais, geneticamente modificadas com precisão e capazes de gerar lotes virtualmente ilimitados de um produto homogêneo; (2) hardware “*NK*-cêntrico”: a evolução do design do *CAR* para além de construções “*T*-cênicas” é crucial, incorporando domínios de sinalização nativos da própria biologia *NK* (como *DAP10* ou *2B4*) ou utilizando receptores ativadores completos, como o *NKG2D*, para criar um *CAR* eficaz contra múltiplos tipos tumorais; (3) engenharia de autossuficiência e resistência funcionais: para aumentar a persistência celular, a co-expressão de citocinas de suporte, como a *IL-15* ou a mais potente *IL-21*, cria um ciclo de sobrevivência autônomo, simultaneamente, a tecnologia *CRISPR-Cas9* é usada para nocautear receptores inibitórios (como o *TGF-βRII*) e blindar as células contra a supressão do *TME*; (4) aptidão metabólica aprimorada: a engenharia metabólica, como a ablação de *DRP1* para proteger as mitocôndrias da disfunção induzida por hipoxia, é uma estratégia de vanguarda para garantir que as células *CAR-NK* permaneçam funcionais no cerne do tumor.

Infere-se, portanto, que a convergência dessas estratégias de engenharia avançada, especialmente quando aplicadas a modelos derivados de *iPSCs*, representa um caminho concreto para viabilizar o potencial clínico pleno da imunoterapia *CAR-NK*. A validação contínua de células “blindadas”, multifuncionais em ensaios clínicos será fundamental para que essa abordagem terapêutica transcenda o status experimental e se consolide como um recurso seguro, eficaz e acessível no enfrentamento do câncer e de doenças imunomediadas. Para isso, é imperativa a realização de estudos clínicos mais robustos, capazes de definir com precisão as melhores estratégias terapêuticas e fortalecer a base científica dessa nova geração de imunoterapias celulares.

Referências

- Balkhi, S., Zuccolotto, G., Di Spirito, A., Rosato, A., & Mortara, L. (2025). CAR-NK cell therapy: promise and challenges in solid tumors. *Frontiers in Immunology*, 16, Article 1574742. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2025.1574742>
- Bardin, L. (2016). *Análise de conteúdo*. Edições 70.
- Basar, R., Daher, M., & Rezvani, K. (2020). Next-generation cell therapies: the emerging role of CAR-NK cells. *Blood Advances*, 4(22), 5868–5876. <https://doi.org/10.1182/bloodadvances.2020002547>
- Bergman, H., Sissala, N., Hågerstrand, H., & Lindqvist, C. (2020). Human NK-92 cells function as target cells for human NK cells - implications for CAR NK-92 therapies. *Anticancer Research*, 40(10), 5355–5359. <https://doi.org/10.21873/anticancer.14543>

- Bexte, T., Botezatu, L., Miskey, C., Gierschek, F., Moter, A., Wendel, P., Reindl, L. M., Campe, J., Villena-Ossa, J. F., Gebel, V., Stein, K., Cathomen, T., Cremer, A., Wels, W. S., Hudecek, M., Ivics, Z., & Ullrich, E. (2024). Engineering of potent CAR NK cells using non-viral Sleeping Beauty transposition from minimalistic DNA vectors. *Molecular Therapy: The Journal of the American Society of Gene Therapy*, 32(7), 2357–2372. <https://doi.org/10.1016/j.ymthe.2024.05.022>
- Biederstädt, A., & Rezvani, K. (2021). Engineering the next generation of CAR-NK immunotherapies. *International Journal of Hematology*, 114(5), 554–571. <https://doi.org/10.1007/s12185-021-03209-4>
- Burga, R. A., Yvon, E., Chorvinsky, E., Fernandes, R., Cruz, C. R. Y., & Bollard, C. M. (2019). Engineering the TGFβ receptor to enhance the therapeutic potential of natural killer cells as an immunotherapy for neuroblastoma. *Clinical Cancer Research: An Official Journal of the American Association for Cancer Research*, 25(14), 4400–4412. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-18-3183>
- Burger, M. C., Forster, M.-T., Romanski, A., Straßheimer, F., Macas, J., Zeiner, P. S., Steidl, E., Herkt, S., Weber, K. J., Schupp, J., Lun, J. H., Strecker, M. I., Wlotzka, K., Cakmak, P., Opitz, C., George, R., Mildenerger, I. C., Nowakowska, P., Zhang, C., Wels, W. S. (2023). Intracranial injection of natural killer cells engineered with a HER2-targeted chimeric antigen receptor in patients with recurrent glioblastoma. *Neuro-Oncology*, 25(11), 2058–2071. <https://doi.org/10.1093/neuonc/noad087>
- Campbell, M., McKenzie, J. E., Sowden, A., Katikireddi, S. V., Brennan, S. E., Ellis, S., Hartmann-Boyce, J., Ryan, R., Shepperd, S., Thomas, J., Welch, V., & Thomson, H. (2020). Synthesis without meta-analysis (SWiM) in systematic reviews: Reporting guideline. *BMJ*, 368, Article l6890. <https://doi.org/10.1136/bmj.l6890>
- Carfagnini, C., Singh, R., Bechara, S.-B., & Kandula, M. (2024). The Efficacy and Safety of CD-19 Directed CAR-NK Therapy in Adults with B-Cell Malignancies: A Meta-Analysis. *Blood*, 144 (Supplement 1), 7180. <https://doi.org/10.1182/blood-2024-212016>
- Cifaldi, L., Melaiu, O., Giovannoni, R., Benvenuto, M., Focaccetti, C., Nardozi, D., Barillari, G., & Bei, R. (2023). DNAM-1 chimeric receptor-engineered NK cells: a new frontier for CAR-NK cell-based immunotherapy. *Frontiers in Immunology*, 14, 1197053. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2023.1197053>
- ClinicalTrials.gov. (2024). NKX101, Intravenous Allogeneic CAR NK Cells, in Adults With AML or MDS (NCT04623944). Nkarta, Inc. <https://clinicaltrials.gov/study/NCT04623944>
- Curio, S., Jonsson, G., & Marinović, S. (2021). A summary of current NKG2D-based CAR clinical trials. *Immunotherapy Advances*, 1(1), Article ltab018. <https://doi.org/10.1093/immadv/ltab018>
- Daher, M., & Rezvani, K. (2018). Next generation natural killer cells for cancer immunotherapy: the promise of genetic engineering. *Current Opinion in Immunology*, 51, 146–153. <https://doi.org/10.1016/j.coi.2018.03.013>
- Fabbricatore, R. (2025). *FT596 shows favorable tolerability, response rate in B-cell lymphoma*. Cancer Network. <https://www.cancernetwork.com/view/ft596-shows-favorable-tolerability-response-rate-in-b-cell-lymphoma>
- Fate Therapeutics, Inc. (2024). Anti-ROR1 chimeric antigen receptors (cars), car-nk cells and related methods (Patent No. WO2024073583A1). *World Intellectual Property Organization*. <https://patentscope.wipo.int/search/en/WO2024073583>
- Ghobadi, A., Bachanova, V., Patel, K., Park, J. H., Flinn, I., Riedell, P. A., Bachier, C., Diefenbach, C. S., Wong, C., Bickers, C., Wong, L., Patel, D., Goodridge, J., Denholt, M., Valamehr, B., Elstrom, R. L., & Strati, P. (2025). Induced pluripotent stem-cell-derived CD19-directed chimeric antigen receptor natural killer cells in B-cell lymphoma: a phase 1, first-in-human trial. *Lancet*, 405(10473), 127–136. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(24\)02462-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(24)02462-0)
- Gierschek, F., Schlueter, J., Kühnel, I., Feigl, F. F., Schmiedel, D., Prüfer, M., Buchinger, L., Cerwenka, A., Cappel, C., Huenecke, S., Köhl, U., Wels, W. S., & Ullrich, E. (2024). Empowering Natural Killer Cells to Combat Acute Myeloid Leukemia: Perspective on CAR-NK Cell Therapy. *Transfusion Medicine and Hemotherapy*, 1–19. <https://doi.org/10.1159/000540962>
- Guedan, S., Calderon, H., Posey, A. D., Jr, & Maus, M. V. (2019). Engineering and design of chimeric antigen receptors. *Molecular Therapy. Methods & Clinical Development*, 12, 145–156. <https://doi.org/10.1016/j.omtm.2018.12.009>
- Guo, F., Zhang, Y., & Cui, J. (2024). Manufacturing CAR-NK against tumors: Who is the ideal supplier? *Chung-Kuo Yen Cheng Yen Chiu [Chinese Journal of Cancer Research]*, 36(1), 1–16. <https://doi.org/10.21147/j.issn.1000-9604.2024.01.01>
- Guo, J.-H., Afzal, A., Ahmad, S., Saeed, G., Rehman, A., Saddozai, U. A. K., Liu, L., Guo, S.-H., Ji, X.-Y., & Khawar, M. B. (2025). Novel strategies to overcome tumor immunotherapy resistance using CAR NK cells. *Frontiers in Immunology*, 16, 1550652. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2025.1550652>
- Hastings, P. J. (2022). CAR NK cell therapies show preliminary safety and efficacy in AML, non-Hodgkin lymphoma. *OncoLive*. <https://www.onclive.com/view/car-nk-cell-therapies-show-preliminary-safety-and-efficacy-in-aml-non-hodgkin-lymphoma>
- He, B., Chen, H., Wu, J., Qiu, S., Mai, Q., Zeng, Q., Wang, C., Deng, S., Cai, Z., Liu, X., Xuan, L., Li, C., Zhou, H., Liu, Q., & Xu, N. (2025). Interleukin-21 engineering enhances CD19-specific CAR-NK cell activity against B-cell lymphoma via enriched metabolic pathways. *Experimental Hematology & Oncology*, 14(1), 51. <https://doi.org/10.1186/s40164-025-00639-2>
- Hosseini, M.-S., Jahanshahloo, F., Akbarzadeh, M. A., Zarei, M., & Vaez-Gharamaleki, Y. (2024). Formulating research questions for evidence-based studies. *Journal of Medicine, Surgery, and Public Health*, 2(100046), 100046. <https://doi.org/10.1016/j.glmedi.2023.100046>
- Huang, R., Wang, X., Yan, H., Tan, X., Ma, Y., Wang, M., Han, X., Liu, J., Gao, L., Gao, L., Jing, G., Zhang, C., Wen, Q., & Zhang, X. (2025). Safety and efficacy of CD33-targeted CAR-NK cell therapy for relapsed/refractory AML: preclinical evaluation and phase I trial. *Experimental Hematology & Oncology*, 14(1), 1. <https://doi.org/10.1186/s40164-024-00592-6>
- Huang, R., Wen, Q., & Zhang, X. (2023). CAR-NK cell therapy for hematological malignancies: recent updates from ASH 2022. *Journal of Hematology & Oncology*, 16(1), 35. <https://doi.org/10.1186/s13045-023-01435-3>

- Huang, Y., Chen, Y., Shen, J., Xu, Y., Qi, Y., Yang, Z., Zhang, Q., Chen, J., Zhao, W., Hong, J., Hu, J., Jiao, L., Zhu, Q., Wang, L., Zhao, Y., Huang, X., Qin, L., Yao, R., Dai, D., & Li, Y. (2022). A Novel Platform to Manufacture High-Efficient “Off-the-Shelf” CAR-NK Products from Peripheral Blood Mononuclear Cells (PBMNC). *Blood*, 140(Supplement 1), 7409–7410. <https://doi.org/10.1182/blood-2022-162937>
- Hung, C.-F., Xu, X., Li, L., Ma, Y., Jin, Q., Viley, A., Allen, C., Natarajan, P., Shivakumar, R., Peshwa, M. V., & Emens, L. A. (2018). Development of anti-human mesothelin-targeted chimeric antigen receptor messenger RNA-transfected peripheral blood lymphocytes for ovarian cancer therapy. *Human Gene Therapy*, 29(5), 614–625. <https://doi.org/10.1089/hum.2017.080>
- Huyghe, M., Desterke, C., Imeri, J., Belliard, N., Chaker, D., Oudriri, N., Bezerra, H., Turhan, A. G., Bennaceur-Griscelli, A., & Griscelli, F. (2024). Comparative analysis of iPSC-derived NK cells from two differentiation strategies reveals distinct signatures and cytotoxic activities. *Frontiers in Immunology*, 15, 1463736. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2024.1463736>
- Immunomedics Inc. Chang, C.-H., Liu, D., & Goldenberg, D. M. (2016). Disease therapy with chimeric antigen receptor (car) constructs and t cells (car-t) or nk cells (car-nk) expressing car constructs (Patent No. WO2016201300A1). *World Intellectual Property Organization*. <https://patentscope.wipo.int/search/en/WO2016201300>
- Jørgensen, L. V., Christensen, E. B., Barnkob, M. B., & Barington, T. (2025). The clinical landscape of CAR NK cells. *Experimental Hematology & Oncology*, 14(1), 46. <https://doi.org/10.1186/s40164-025-00633-8>
- Kanner, S. (2022, December 12). *Caribou Biosciences selects ROR1 as the target for CB-020, an iPSC-derived allogeneic CAR-NK cell therapy*. Caribou Biosciences, Inc. <https://investor.cariboubio.com/news-releases/news-release-details/caribou-biosciences-selects-ror1-target-cb-020-ipsc-derived/>
- Karamivandishi, A., Hatami, A., Eslami, M. M., Soleimani, M., & Izadi, N. (2025). Chimeric antigen receptor natural killer cell therapy: A systematic review of preclinical studies for hematologic and solid malignancies. *Human Immunology*, 86, 111207. <https://doi.org/10.1016/j.humimm.2024.111207>
- Khan, S. H., Choi, Y., Veena, M., Lee, J. K., & Shin, D. S. (2024). Advances in CAR T cell therapy: antigen selection, modifications, and current trials for solid tumors. *Frontiers in Immunology*, 15, 1489827. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2024.1489827>
- Khorasani, B. S., Yousefi, A., A.-M., & Bashash, D. (2022). CAR NK cell therapy in hematologic malignancies and solid tumors; obstacles and strategies to overcome the challenges. *International Immunopharmacology*, 110(109041), Article 109041. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2022.109041>
- Kilgour, M. K., Bastin, D. J., Lee, S.-H., Ardolino, M., McComb, S., & Visram, A. (2023). Advancements in CAR-NK therapy: lessons to be learned from CAR-T therapy. *Frontiers in Immunology*, 14, 1166038. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2023.1166038>
- Kong, J. C., Sa’ad, M. A., Vijayan, H. M., Ravichandran, M., Balakrishnan, V., Tham, S. K., & Tye, G. J. (2024). Chimeric antigen receptor-natural killer cell therapy: current advancements and strategies to overcome challenges. *Frontiers in Immunology*, 15, 1384039. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2024.1384039>
- Krug, A., Martinez-Turtos, A., & Verhoeven, E. (2021). Importance of T, NK, CAR T and CAR NK cell metabolic fitness for effective anti-cancer therapy: A continuous learning process allowing the optimization of T, NK and CAR-based anti-cancer therapies. *Cancers*, 14(1), 183. <https://doi.org/10.3390/cancers14010183>
- Lamers-Kok, N., Panella, D., Georgoudaki, A.-M., Liu, H., Özkazanc, D., Kučerová, L., Duru, A. D., Spanholtz, J., & Raimo, M. (2022). Natural killer cells in clinical development as non-engineered, engineered, and combination therapies. *Journal of Hematology & Oncology*, 15(1), 164. <https://doi.org/10.1186/s13045-022-01382-5>
- Lee, E., Kim, J., Kim, S., Jung, M., Kim, Y., Jeon, Y., & Won, S. (2024). Preclinical Evaluation of an Allogeneic CD22 CAR-NK to Target B-Cell Hematologic Malignancies. *Blood*, 144 (Supplement 1), 7187–7187. <https://doi.org/10.1182/blood-2024-198589>
- Lei, W., Liu, H., Deng, W., Chen, W., Liang, Y., Gao, W., Yuan, X., Guo, S., Li, P., Wang, J., Tong, X., Sun, Y. E., Liang, A., & Qian, W. (2025). Safety and feasibility of 4-1BB co-stimulated CD19-specific CAR-NK cell therapy in refractory/relapsed large B cell lymphoma: a phase 1 trial. *Nature Cancer*, 6(5), 786–800. <https://doi.org/10.1038/s43018-025-00940-3>
- Li, H., Song, W., Li, Z., & Zhang, M. (2022). Preclinical and clinical studies of CAR-NK-cell therapies for malignancies. *Frontiers in Immunology*, 13, 992232. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.992232>
- Li, J., Hu, H., Lian, K., Zhang, D., Hu, P., He, Z., Zhang, Z., & Wang, Y. (2024). CAR-NK cells in combination therapy against cancer: A potential paradigm. *Heliyon*, 10(5), e27196. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e27196>
- Li, L., Mohanty, V., Dou, J., Huang, Y., Banerjee, P. P., Miao, Q., Lohr, J. G., Vijaykumar, T., Frede, J., Knoechel, B., Muniz-Feliciano, L., Laskowski, T. J., Liang, S., Moyes, J. S., Nandivada, V., Basar, R., Kaplan, M., Daher, M., Liu, E., Rezvani, K. (2023). Loss of metabolic fitness drives tumor resistance after CAR-NK cell therapy and can be overcome by cytokine engineering. *Science Advances*, 9(30), eadd6997. <https://doi.org/10.1126/sciadv.add6997>
- Li, T., Niu, M., Zhang, W., Qin, S., Zhou, J., & Yi, M. (2024). CAR-NK cells for cancer immunotherapy: recent advances and future directions. *Frontiers in Immunology*, 15, 1361194. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2024.1361194>
- Li, W., Feng, J., Peng, J., Zhang, X., Aziz, A. U. R., & Wang, D. (2024). Chimeric antigen receptor-natural killer (CAR-NK) cell immunotherapy: A bibliometric analysis from 2004 to 2023. *Human Vaccines & Immunotherapeutics*, 20(1), 2415187. <https://doi.org/10.1080/21645515.2024.2415187>
- Li, W., Wang, X., Zhang, X., Aziz, A. U. R., & Wang, D. (2024). CAR-NK cell therapy: A transformative approach to overcoming oncological challenges. *Biomolecules*, 14(8), 1035. <https://doi.org/10.3390/biom14081035>
- Lin, X., Guan, T., Li, Y., Lin, Y., Huang, G., Lin, Y., Sun, P., Li, C., Gu, J., Zeng, H., & Ma, C. (2024). Efficacy of MUC1-targeted CAR-NK cells against human tongue squamous cell carcinoma. *Frontiers in Immunology*, 15, 1337557. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2024.1337557>
- Liu, E., Marin, D., Banerjee, P., Macapinlac, H. A., Thompson, P., Basar, R., Nassif Kerbaudy, L., Overman, B., Thall, P., Kaplan, M., Nandivada, V., Kaur, I., Nunez Cortes, A., Cao, K., Daher, M., Hosing, C., Cohen, E. N., Kebriaei, P., Mehta, R., Rezvani, K. (2020). Use of CAR-transduced natural killer cells in CD19-positive lymphoid tumors. *The New England Journal of Medicine*, 382(6), 545–553. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1910607>

- Lu, H., Zhao, X., Li, Z., Hu, Y., & Wang, H. (2021). From CAR-T cells to CAR-NK cells: A developing immunotherapy method for hematological malignancies. *Frontiers in Oncology*, 11, 720501. <https://doi.org/10.3389/fonc.2021.720501>
- Lu, S.-J., & Feng, Q. (2021). CAR-NK cells from engineered pluripotent stem cells: Off-the-shelf therapeutics for all patients. *Stem Cells Translational Medicine*, 10 Suppl 2(S2), S10–S17. <https://doi.org/10.1002/sctm.21-0135>
- Marin, D., Li, Y., Basar, R., Rafei, H., Daher, M., Dou, J., Mohanty, V., Dede, M., Nieto, Y., Upreti, N., Acharya, S., Liu, E., Wilson, J., Banerjee, P., Macapinlac, H. A., Ganesh, C., Thall, P. F., Bassett, R., Ammari, M., Rezvani, K. (2024). Safety, efficacy and determinants of response of allogeneic CD19-specific CAR-NK cells in CD19+ B cell tumors: a phase 1/2 trial. *Nature Medicine*, 30(3), 772–784. <https://doi.org/10.1038/s41591-023-02785-8>
- Matosevic, S. (2018). Viral and nonviral engineering of natural killer cells as emerging adoptive cancer immunotherapies. *Journal of Immunology Research*, 2018, 4054815. <https://doi.org/10.1155/2018/4054815>
- Miltenyi Biotec B.V. & Co. KG. Nkure Therapeutics Private Ltd. Roy, R., Shah, V. J., Battu, A. R., & Gopurappilly, R. (2024). Method for expansion and maintenance of nk cells for immunotherapy (Patent No. US20240415892A1). *United States Patent and Trademark Office* (20240415892A1). <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/patent/US-2024415892-A1>
- Pang, Z., Wang, Z., Li, F., Feng, C., & Mu, X. (2022). Current progress of CAR-NK therapy in cancer treatment. *Cancers*, 14(17), 4318. <https://doi.org/10.3390/cancers14174318>
- Park, E., et al. (2024). CAR NK92 cells targeting BCMA can effectively kill multiple myeloma cells both in vitro and in vivo. *Biomedicines*, 12(2), Article 273. <https://doi.org/10.3390/biomedicines12020273>
- Park, H., Kim, G., Kim, N., Ha, S., & Yim, H. (2024). Efficacy and safety of natural killer cell therapy in patients with solid tumors: a systematic review and meta-analysis. *Frontiers in Immunology*, 15, 1454427. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2024.1454427>
- Park, J. D., Shin, H. E., An, Y. S., Jang, H. J., Park, J., Kim, S.-N., Park, C. G., & Park, W. (2025). Advancing natural killer cell therapy: Genetic engineering strategies for enhanced cancer immunotherapy. *Annals of Laboratory Medicine*, 45(2), 146–159. <https://doi.org/10.3343/alm.2024.0380>
- Peng, L., Sferruzza, G., Yang, L., Zhou, L., & Chen, S. (2024). CAR-T and CAR-NK as cellular cancer immunotherapy for solid tumors. *Cellular & Molecular Immunology*, 21(10), 1089–1108. <https://doi.org/10.1038/s41423-024-01207-0>
- Pereira, A. S., Shitsuka, D. M., Parreira, F. J., & Shitsuka, R. (2018). *Metodologia da pesquisa científica*. UAB/NTE/UFSM. <https://repositorio.ufsm.br/handle/1/15824>
- Qihan Biotech. (2024). iPSC-CAR-NK cell therapy clinical result published in Cell, marking a global breakthrough in autoimmune disease treatment. *BioSpace*. <https://www.biospace.com/press-releases/ipsc-car-nk-cell-therapy-clinical-result-published-in-cell-marking-a-global-breakthrough-in-autoimmune-disease-treatment>
- Rafei, H., Daher, M., & Rezvani, K. (2021). Chimeric antigen receptor (CAR) natural killer (NK)-cell therapy: leveraging the power of innate immunity. *British Journal of Haematology*, 193(2), 216–230. <https://doi.org/10.1111/bjh.17186>
- Rafiq, S. (2024). Keynote presentation: Engineering metabolically fit, memory-rich CAR T cells for treatment of cancer. *Labroots*. <https://www.labroots.com/webinar/keynote-presentation-engineering-metabolically-fit-memory-rich-car-cells-treatment-cancer>
- Raftery, M. J., Franzén, A. S., & Pecher, G. (2023). CAR NK Cells: The Future is Now. *Annual Review of Cancer Biology*, 7(1). <https://doi.org/10.1146/annurev-cancerbio-061521-082320>
- Riedell, P. A. (2024). Unlocking the potential of CAR natural killer cell therapy in hematologic malignancies while overcoming challenges. *ASCO Daily News*. <https://dailynews.ascopubs.org/do/unlocking-potential-car-natural-killer-cell-therapy-hematologic-malignancies-while>
- Salehi-Shadkani, H., Sedghi, M., Tavoosi, S., Alimohammadi, M., Alimohammadi, R., Barkhordar, M., Mofayezi, A., Modaresi, M. S., Vaezi, M., Dehghanizadeh, S., Ahmadvand, M., & Khoddami, V. (2024). Effective targeting of CD19 positive primary B-ALL cells using CAR-NK cells generated with mRNA-LNPs. *bioRxiv* (p. 2024.11.21.624707). <https://doi.org/10.1101/2024.11.21.624707>
- Senti Bio. (2025). SENTI-202 for the Treatment of Acute Myeloid Leukemia (AML). *Pharmacy Times*. <https://www.sentibio.com/research-pipeline/products/>
- Shanghai Gene-Optimal Biotech. Li, Z., Jiang, H., Shi, B., & Xu, N. (2024). *Chimeric antigen receptor and use thereof* (Patent No. WO2024250865A1). World Intellectual Property Organization. <https://patentscope.wipo.int/search/en/detail.jsf?docId=WO2024250865>
- Shankar, N. M., Montero, P. O., Kurzyukova, A., Rackwitz, W., Künzel, S. R., Wels, W. S., Tonn, T., Knopf, F., & Eitler, J. (2023). Preclinical assessment of CAR-NK cell-mediated killing efficacy and pharmacokinetics in a rapid zebrafish xenograft model of metastatic breast cancer. *bioRxiv*. <https://doi.org/10.1101/2023.07.11.548344>
- Snyder, H. (2019). Literature review as a research methodology: An overview and guidelines. *Journal of Business Research*, 104, 333–339. <https://doi.org/10.1016/j.jbusres.2019.07.039>
- Testa, U., Castelli, G., & Pelosi, E. (2025). Emerging role of chimeric antigen receptor-natural killer cells for the treatment of hematologic malignancies. *Cancers*, 17(9). Article 1454. <https://doi.org/10.3390/cancers17091454>
- UCL Business Ltd. Pulé, M., Anderson, J., & Thomas, S. (2017). Chimeric antigen receptor (CAR) (Patent No. US20170066838A1). *United States Patent and Trademark Office*. (20170066838A1). <https://patents.google.com/patent/US20170066838A1/en>
- Uhlig, J., Schmiedel, D., Tretbar, U. S., & Dünkel, A. (2025). Advances in the manufacturing of CAR-NK cells for cancer immunotherapy. *Methods in Pharmacology and Toxicology* (p. 63–81). Springer Nature. https://doi.org/10.1007/978-1-0716-4374-7_4

- Valeri, A., García-Ortiz, A., Castellano, E., Córdoba, L., Maroto-Martín, E., Encinas, J., Leivas, A., Río, P., & Martínez-López, J. (2022). Overcoming tumor resistance mechanisms in CAR-NK cell therapy. *Frontiers in Immunology*, 13, 953849. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.953849>
- Verhezen, T., Van den Eynde, A., Verstraelen, P., Gehrcken, L., Palmiotto, G., Lau, H. W., De Vos, W., van der Heijden, S., Brants, L., Melis, J., Van Audenaerde, J., Van Laere, S., Lardon, F., Deben, C., Wouters, A., Smits, E., & De Waele, J. (2025). DRP1 depletion protects NK cells against hypoxia-induced dysfunction. *Em bioRxiv* (p. 2025.06.23.661011). <https://doi.org/10.1101/2025.06.23.661011>
- Wang, M., Krueger, J. B., Gilkey, A. K., Stelljes, E. M., Kluesner, M. G., Pomeroy, E. J., Skeate, J. G., Slipek, N. J., Lahr, W. S., Vázquez, P. N. C., Zhao, Y., Eaton, E. J., Laoharawee, K., Webber, B. R., & Moriarity, B. S. (2024). Precision enhancement of CAR-NK cells through non-viral engineering and highly multiplexed base editing. *Em bioRxiv*org. <https://doi.org/10.1101/2024.03.05.582637>
- Wittling, M. C., Cole, A. C., Brammer, B., Diatkar, K. G., Schmitt, N. C., & Paulos, C. M. (2024). Strategies for improving CAR T cell persistence in solid tumors. *Cancers*, 16(16), 2858. <https://doi.org/10.3390/cancers16162858>
- Włodarczyk, M., & Pyrzynska, B. (2022). CAR-NK as a rapidly developed and efficient immunotherapeutic strategy against cancer. *Cancers*, 15(1), 117. <https://doi.org/10.3390/cancers15010117>
- Wrona, E., Borowiec, M., & Potemski, P. (2021). CAR-NK cells in the treatment of solid tumors. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(11), 5899. <https://doi.org/10.3390/ijms22115899>
- Xia, J., Minamino, S., & Kuwabara, K. (2020). CAR-expressing NK cells for cancer therapy: a new hope. *Bioscience Trends*, 14(5), 354–359. <https://doi.org/10.5582/bst.2020.03308>
- Xie, G., Dong, H., Liang, Y., Ham, J. D., Rizwan, R., & Chen, J. (2020). CAR-NK cells: A promising cellular immunotherapy for cancer. *EBioMedicine*, 59(102975), 102975. <https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2020.102975>
- Xue, Y. (2023). Limitations and Overcomes of CAR-NK for Cancer Immunotherapy. *Highlights in Science, Engineering and Technology*, 36, 944–948. <https://doi.org/10.54097/hset.v36i.6133>
- Yang, R., Yang, Y., Liu, R., Wang, Y., Yang, R., & He, A. (2024). Advances in CAR-NK cell therapy for hematological malignancies. *Frontiers in Immunology*, 15, 1414264. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2024.1414264>
- Yu, M., Luo, H., Fan, M., Wu, X., Shi, B., Di, S., Liu, Y., Pan, Z., Jiang, H., & Li, Z. (2018). Development of GPC3-specific chimeric antigen receptor-engineered natural killer cells for the treatment of hepatocellular carcinoma. *Molecular Therapy: The Journal of the American Society of Gene Therapy*, 26(2), 366–378. <https://doi.org/10.1016/j.ymthe.2017.12.012>
- Yu, Y., Kong, R., Xu, X., Liu, S., Chen, C., Li, X., Sun, M., Yang, J., Zhao, D., Gao, J. (2024) Allogenic CD19 CAR NK cells therapy in refractory systemic lupus erythematosus: An open-label, single arm, prospective and interventional clinical trial. *ACR Convergence 2024*, 76 (suppl 9). <https://acrabstracts.org/abstract/allogenic-cd19-car-nk-cells-therapy-in-refractory-systemic-lupus-erythematosus-an-open-label-single-arm-prospective-and-interventional-clinical-trial/>
- Zanfagnin, V. & Mathur, G. (2022). CAR T-cell therapies: Opportunities and challenges. *CAP Today*. <https://www.cap.org/member-resources/articles/car-t-cells-therapies-opportunities-and-challenges>
- Zhang, Y., Zhou, W., Yang, J., Yang, J., & Wang, W. (2023). Chimeric antigen receptor engineered natural killer cells for cancer therapy. *Experimental Hematology & Oncology*, 12(1), 70. <https://doi.org/10.1186/s40164-023-00431-0>
- Zhong, Y., & Liu, J. (2024). Emerging roles of CAR-NK cell therapies in tumor immunotherapy: current status and future directions. *Cell Death Discovery*, 10(1), 318. <https://doi.org/10.1038/s41420-024-02077-1>