

**Universidade de Lisboa
Faculdade de Farmácia**



Imunoterapia no cancro

Ana Catarina Carvalho do Carmo

Monografia orientada pela Professora Doutora Ana Rita Estrela
Rodrigues Conde Silva Melo, Professora Auxiliar

Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

2024

**Universidade de Lisboa
Faculdade de Farmácia**



Imunoterapia no cancro

Ana Catarina Carvalho do Carmo

**Trabalho Final de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas
apresentado à Universidade de Lisboa através da Faculdade de Farmácia**

Monografia orientada pela Professora Doutora Ana Rita Estrela
Rodrigues Conde Silva Melo, Professora Auxiliar

2024

Agradecimentos

Passaram 5 anos de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, e que rápido que passou, foram anos de muita resiliência, choro, alegria, de amizades e de pandemia, o caminho foi difícil e quis desistir algumas vezes, mas agora que chegou o fim, posso dizer que me sinto orgulhosa e grata pelo que a Faculdade de Farmácia me deu, e que certamente tudo valeu a pena.

Um grande obrigado à minha orientadora, Professora Doutora Ana Rita Conde, que sempre foi muito disponível, atenciosa e sempre me respondeu com muita prontidão aquando do decorrer da elaboração desta monografia, os seus conselhos foram realmente essenciais para mim.

Um enorme e gigante obrigado à minha família que me apoiou sempre, e que sem eles e sem o seu amor incondicional, não era a pessoa que sou hoje e não tinha chegado até aqui.

Um grande obrigado também a todos os amigos que me acompanharam neste longo percurso e que sempre estiveram presentes com uma palavra amiga e de motivação.

Este curso não era de todo a minha primeira opção, mas tornou-se na minha carreira e naquilo que quero seguir, agora é preciso coragem para o próximo passo, e nunca desistir.

“All our dreams can come true if we have the courage to pursue them”

— Walt Disney

Declaração código de conduta

Declaro ter desenvolvido e elaborado o presente trabalho em consonância com o Código de Conduta e de Boas Práticas da Universidade de Lisboa. Mais concretamente, afirmo não ter incorrido em qualquer das variedades de fraude académica, que aqui declaro conhecer, e que atendi à exigida referenciação de frases, extratos, imagens e outras formas de trabalho intelectual, assumindo na íntegra as responsabilidades da autoria.

Resumo

O cancro é uma doença com elevado impacto na sociedade, na saúde, na economia e na investigação. Posto isto, torna-se imperativo que a investigação em Oncologia continue para que consigamos desenvolver terapêuticas que eliminem o cancro de forma segura e eficaz e para que o doente tenha o máximo de qualidade de vida possível.

A imunoterapia é uma terapia biológica inovadora, que recorre ao próprio sistema imunitário modulando a resposta imunológica para que consiga de forma eficaz e específica selecionar e provocar morte celular das células tumorais. Esta ativação e modulação do sistema imunitário é conseguida recorrendo a diferentes alvos terapêuticos, como inibidores de *checkpoint* imunológico, anticorpos monoclonais, células CAR-T, vírus oncolíticos, citocinas, vacinas, entre outros. Os vários alvos terapêuticos apresentam mecanismo de ação distintos promovendo assim respostas imunológicas robustas e duradouras que controlam o crescimento e a proliferação tumoral.

Atualmente, a imunoterapia está indicada no tratamento de diversos tipos de cancro, onde se inserem o Melanoma, o Cancro do Pulmão, o Linfoma de Hodgkin, o Cancro do rim, o Cancro Colorretal, entre muitos outros. A imunoterapia representa uma esperança crescente para pacientes com cancro, oferecendo novas opções terapêuticas que podem prolongar a sobrevivência e melhorar a qualidade de vida.

Apesar dos progressos e do sucesso, a imunoterapia enfrenta alguns desafios que precisam de ser ultrapassados, tais como a resistência ao tratamento e os efeitos secundários graves, tendo em conta que nem todos os doentes respondem e toleram da mesma maneira, havendo necessidade de recorrer a estratégias de monitorização e de gestão adequadas e bem definidas. Para o futuro da Imunoterapia, espera-se que todo o seu potencial seja alcançado para que haja esperança para os doentes oncológicos, e que a investigação encontre soluções de otimização, novos alvos terapêuticos e terapias combinadas que evidenciem maior personalização. Assim, a investigação encontra-se direcionada para a personalização do tratamento, sendo uma área promissora baseada em biomarcadores específicos que pode aumentar a taxa de sucesso e minimizar os efeitos adversos.

Palavras-chave: Imunoterapia; Cancro; Sistema Imunitário; Resistência; Tratamento

Abstract

Cancer is a disease with a very significant impact in society, in health, in economy and in the industry. Therefore, it is imperative continuous research in Oncology so that we can develop therapies that eliminate cancer safely and effectively so that the patient has the highest possible quality of life.

Immunotherapy is an innovative biological therapy, which uses the immune system itself to modulate the immunological response so that it can effectively and specifically select and cause cell death in tumor cells. This activation and modulation of the immune system is achieved using different therapeutic targets, such as immune checkpoint inhibitors, monoclonal antibodies, CAR-T cells, oncolytic viruses, cytokines, vaccines, among others. The various therapeutic targets have distinct mechanisms of action, thus promoting robust and long-lasting immune responses that control tumor growth and proliferation.

Currently, immunotherapy is indicated for the treatment of several types of cancer, including Melanoma, Lung Cancer, Hodgkin's Lymphoma, Kidney Cancer, Colorectal Cancer, among many others. Immunotherapy represents a growing hope for cancer patients, offering new therapeutic options that can prolong survival and improve quality of life.

Despite progress and success, immunotherapy faces some challenges that need to be overcome, such as resistance to treatment and serious side effects, considering that not all patients respond and tolerate it in the same way, making it necessary to resort to adequate and well-defined monitoring and management strategies. For the future of immunotherapy, it is expected that its full potential will be reached so that there is hope for cancer patients, and that research will find optimization solutions, new therapeutic targets and combined therapies that demonstrates greater personalization. Therefore, research is focused on personalizing treatment, which is a promising area based on specific biomarkers that can increase the success rate and minimize adverse effects.

Keywords: Immunotherapy; Cancer; Immune system; Resistance; Treatment

Abreviaturas

Ac - Anticorpo

ACT - *Adoptive Cell Therapy*

ADC - Anticorpos Monoclonais Conjugados

ADCC - *Antibody-dependent Cellular Cytotoxicity*

ADCP - *Antibody-dependent Cellular Phagocytosis*

ADN - Ácido Desoxirribonucleico

Ag - Antígeno

AMP - Adenosina monofosfato

APC - Células Apresentadoras de Ags

AUC - Área Sob a Curva

BTLA - *B and T-lymphocyte attenuator*

CAR - Recetores de Antígeno Quimérico

CAR-T - Células T com Recetores de Antígeno Quimérico

CDC - *Complement-dependent Cytotoxicity*

CPNPC - Carcinoma do Pulmão de Não-Pequenas Células

CTLA-4 - *Cytotoxic T-Lymphocyte Antigen-4*

EGFR - Recetor do Fator de Crescimento Epidérmico

EM - Esclerose Múltipla

EMA - Autoridade Europeia do Medicamento

EUA - Estados Unidos da América

FDA - *Food and Drug Administration*

HBC - Hepatite B crónica

HCC - Hepatite C crónica

HER2 - Recetor-2 do Fator de Crescimento Epidérmico Humano

HPV - Papilomavírus Humano

IDO - Indoleamina 2,3-dioxigenase

IFN- α – Interferão alfa

IFN- β - Interferão beta

IFN- γ - Interferão gama

IL-2 - Interleucina 2

IL-10 - Interleucina 10

IM - Intramuscular

IV - Intravenoso

LAG-3 - *Lymphocyte activation gene 3*

LCBAG - Linfoma de Células B de Alto Grau

LCCT - Linfoma Cutâneo das Células T

LCP- Leucemia de Células Pilosas

LDGCB - Linfoma Difuso de Grandes Células B

LF - Linfoma Folicular

LMC - Leucemia Mielogénica Crónica

LPMGCB - Linfoma Primário do Mediastino de Grandes Células B

mAb - Anticorpos monoclonais

MDSC - Células Supressoras Derivadas de Mielóides

MHC - Moléculas do Complexo de Histocompatibilidade Principal

MMAE - Monometil Auristatina E

NHL - Linfoma Não-Hodgkin

NK - Células *Natural Killer*

PD-1 - *Programmed Cell Death Protein 1*

PD-L1 - *Programmed Death Ligand 1*

PD-L2 - *Programmed Death Ligand 2*

SC - Subcutâneo

TAM - Macrófagos Associados ao Tumor

TAP - *Transporter Associated with Antigen Processing*

TCR - Recetores das Células T

TFG - Taxa de Filtração Glomerular

TGF- β - Fator de transformação do crescimento beta

Th1 - Células T *Helper 1*

Th2 - Células T *Helper 2*

TIL - Linfócitos Infiltrantes do Tumor

TIM-3 - *T-cell immunoglobulin and mucin-domain containing-3*

TME - Microambiente tumoral

Treg - Linfócitos T Reguladoras

VEGF - Fator de Crescimento do Endotélio Vascular

VHB - Vírus da Hepatite B

VHC - Vírus da Hepatite C

Índice:

1	Introdução	11
1.1	Cancro - definição, desenvolvimento e propagação	11
1.2	Epidemiologia.....	12
2	Materiais e métodos.....	14
3	Imunoterapia no cancro	15
3.1	Tipos de imunoterapia no cancro.....	15
3.1.1	Anticorpos monoclonais (mAb)	16
3.1.1.1	Anticorpos monoclonais não conjugados	18
3.1.1.2	Anticorpos monoclonais conjugados.....	18
3.1.2	Vacinas	19
3.1.2.1	Vacinas preventivas	20
3.1.2.2	Vacinas terapêuticas	20
3.1.3	Terapia com células CAR-T	22
3.1.4	Citocinas	23
3.1.4.1	Interleucinas.....	23
3.1.4.2	Interferões	24
3.1.5	Vírus Oncolíticos	25
3.1.6	Inibidores de <i>checkpoint</i> imunológicos	26
4	Caso clínico de Imunoterapia com sucesso em Portugal.....	29
4.1	Imunoterapia em 1º linha de tratamento, Hospital de Braga em colaboração com o Hospital CUF do Porto	29
5	Resistência à imunoterapia no cancro	31
5.1	Resistência Inata e Adaptativa.....	31
5.1.1	Fatores de resistência intrínsecos ao tumor	31
5.1.2	Fatores de resistência extrínsecos ao tumor	33
5.2	Resistência Adquirida.....	35
6	Imunoterapia combinada: o futuro para o doente oncológico	39
6.1	Utilização combinada de anti PD-1 e anti CTLA-4	39
6.1.1	Nivolumab + Ipilimumab (N+I)	40
6.2	Utilização combinada de anti PD-1 e Quimioterapia	40
6.2.1	Pembrolizumab (anti PD-1) + Carboplatina + Paclitaxel.....	41
6.3	Utilização combinada de Bevacizumab, Atezolizumab, Carboplatina e Permetrexed.....	42
7	Conclusões.....	43
	Referências Bibliográficas.....	44

Índice de Figuras:

Figura 1 Taxa de incidência do cancro por idade, do sexo feminino (verde), do sexo masculino (azul) e de ambos os sexos (cor de laranja) em 2023.....	12
Figura 2 Taxa de incidência, ambos os sexos em 2022, em Portugal	13
Figura 3 Taxa de mortalidade, ambos os sexos em 2022, em Portugal.....	13
Figura 4 Taxa de sobrevivência ao cancro, em Portugal em 2023	13
Figura 5 Mecanismo de ação mAb	17
Figura 6 Mecanismo de ação vacinas terapêuticas.	21
Figura 7 Terapia com células CAR-T.....	23
Figura 8 Mecanismo de ação Vírus Oncolíticos.....	26
Figura 9 Ação do Ipilimumab.....	27
Figura 10 Ação dos inibidores PD-1	28
Figura 11 Ação do Pembrolizumab (anti PD-1), na ligação PD-1 ao PD-L1	30
Figura 12 Tumores com maior carga mutacional respondem à terapêutica anti-PD1/PDL1.	32
Figura 13 Perda de expressão de gene supressor tumoral <i>PTEN</i> ativa a via de sinalização PI3K/AKT/mTOR	33
Figura 14 Mutação no $\beta 2M$ provoca alteração nas MHC I, que não vão apresentar os Ags aos linfócitos T citotóxicos.....	33
Figura 15 Exaustão de linfócitos T	35
Figura 16 <i>Feedback</i> negativo da maquinaria para apresentação de Ag	36
Figura 17 Depleção de neoantigénios.....	37
Figura 18 Resumo dos fatores intrínsecos na resistência inata e adquirida.....	38
Figura 19 Resumo dos fatores extrínsecos na resistência inata e adquirida.....	38

1 Introdução

1.1 Câncer - definição, desenvolvimento e propagação

O câncer é uma patologia com grande relevância na sociedade devido ao seu impacto significativo na saúde, na economia e na indústria. Neste sentido, tem havido cada vez mais investimento em compreender esta patologia para que não só futuramente se consiga encontrar uma cura, mas também para melhorar os tratamentos e os cuidados paliativos.

Nesta patologia o material genético, o ADN, das células do nosso organismo sofre alterações genéticas que afetam o crescimento, a divisão e a morte celular. Assim, há células que adquirem propriedades durante este processo de divisão descontrolada como invadir outros tecidos, dividirem-se descontroladamente e adquirem também a capacidade de não morrer quando deveriam. (1)

Num indivíduo saudável, as células renovam-se de forma ordenada, permitindo a reparação e crescimento harmonioso dos tecidos do nosso organismo e estas células lesadas são eliminadas pelo sistema imunitário. Contudo, se o organismo não for capaz de as reconhecer e destruir surgirá uma massa que se poderá transformar em neoplasia maligna ou câncer. (2)

As neoplasias podem ser malignas ou benignas, sendo a principal diferença que as malignas têm a capacidade de se disseminar, de invadir e destruir os tecidos e órgãos vizinhos, espalhando-se para outras partes do corpo, metastizam, enquanto que as neoplasias benignas podem crescer em volume, mas não metastizam. (3)

Neste sentido, é também importante referir que qualquer massa anormal se denomina de tumor, e todo o tumor maligno se denomina de câncer. Contudo, existem também cânceres que não formam tumores, nomeadamente os cânceres hematológicos, como as leucemias, em que as células circulam pelo organismo tendo as capacidades enumeradas acima. (1)

Tendo em conta os fatores de risco que podem contribuir para o aparecimento de uma doença maligna, temos, excesso de peso, consumo de álcool, tabaco, infeções virais, exposição excessiva à radiação solar, exposição a certos agentes químicos, hormonas e radiações, e por último a influência genética, que durante muito tempo foi considerada como o principal fator de risco, contudo, cada vez mais se tem vindo a desmistificar essa relação. (2)

A prevalência e a incidência do cancro têm vindo a aumentar cada vez mais devido ao avanço da esperança média de vida, tal como tem crescido a necessidade da população em obter um tratamento eficaz, seguro e que permita a manutenção de uma vida com qualidade. Deste modo, graças aos grandes avanços na Oncologia a nível de diagnóstico e tratamento, sabe-se que atualmente cerca de um terço dos casos de cancro no adulto e mais de metade nas crianças podem ser curados. (2)

1.2 Epidemiologia

Sendo as doenças oncológicas a segunda maior causa de morte em Portugal, contribuíram para este aumento as modificações no estilo de vida e, certamente, o envelhecimento da população, uma vez que de acordo com a *Australian Institute of Healthcare and Welfare* a partir dos 45 anos verifica-se um aumento da incidência do cancro em ambos os sexos. (Figura 1) (4)

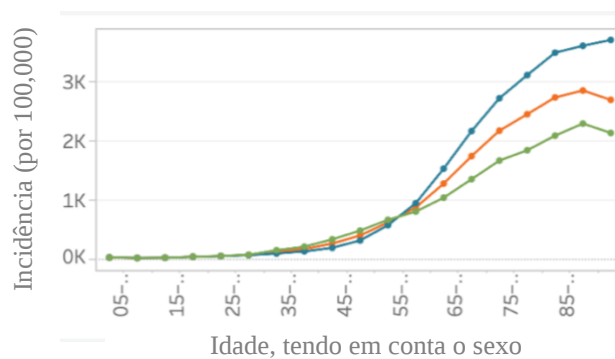


Figura 1 Taxa de incidência do cancro por idade, do sexo feminino (verde), do sexo masculino (azul) e de ambos os sexos (cor de laranja) em 2023. Adaptado de (4)

O cancro é uma doença com grande impacto na humanidade, estimando-se que de 2022 para 2045, em Portugal, o número de pessoas diagnosticadas com doenças cancerígenas suba de 69,6 mil para 81,3 mil, e que a mortalidade suba de 33,8 mil para 43,9 mil. Além disso, também se estima que, a nível mundial, o número de pessoas diagnosticadas com cancro tem tendência a subir de 20 milhões para 32,6 milhões, e a mortalidade suba de 9,74 milhões para 16,9 milhões, sendo estes valores absolutos. (5)

Neste sentido, o cancro que teve maior incidência em ambos os sexos em Portugal foi o cancro colorretal, seguindo-se o cancro da mama e o cancro da próstata (Figura 2).

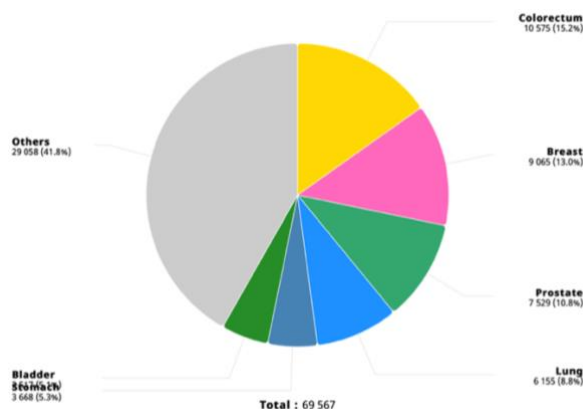


Figura 2 Taxa de incidência, ambos os sexos em 2022, em Portugal. (5)

Por outro lado, o cancro com maior taxa de mortalidade em ambos os sexos foi o cancro do pulmão, seguindo-se do cancro colorretal e do cancro do estômago (Figura 3).

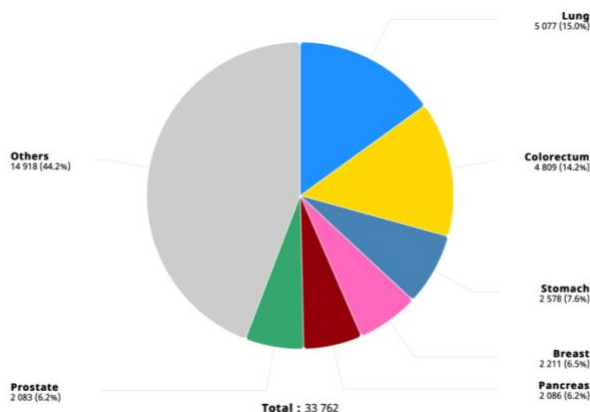


Figura 3 Taxa de mortalidade, ambos os sexos em 2022, em Portugal. (5)

Ainda que a probabilidade de ocorrência de cancro esteja propensa a aumentar, sabe-se que o diagnóstico precoce e o aumento do sucesso nos tratamentos têm vindo não só a elevar as taxas de sobrevivência contra o cancro como o aumento de anos em remissão (Figura 4). Deste modo, mesmo para os doentes em que a cura não é possível também tem vindo a aumentar a diversidade de cuidados paliativos, o que permite controlar com maior eficácia a maioria dos sintomas.



Figura 4 Taxa de sobrevivência ao cancro, em Portugal em 2023. (6)

2 Materiais e métodos

Para a elaboração desta monografia foi realizada uma pesquisa em diversas fontes, com o objetivo de recolher informação apropriada e fidedigna. Toda a pesquisa foi realizada entre dezembro de 2023 e junho de 2024 e foram utilizadas plataformas, como o *Pubmed* e a *National Library of Medicine* pertencentes ao *National Center for Biotechnology Information* e *Infomed*. Além disso, também foram consultados *websites*, tais como o da *European Medicines Agency*, o *Global Cancer Observatory* e o *American Cancer Society* para aceder a *guidelines* e documentos pertinentes.

Os dados bibliográficos foram selecionados de acordo com o ano de publicação (entre 2011 e 2024), prestígio e relevância do seu conteúdo, dando-se especial importância a artigos mais recentes e escritos em inglês ou português.

A pesquisa inicial teve como objetivo adquirir uma visão abrangente sobre o tema desta monografia, através da recolha de diversos artigos científicos pertinentes. Posteriormente, a investigação foi aprofundada e orientada conforme os temas correspondentes aos diferentes tópicos do índice, utilizando fontes mais especializadas.

Para a pesquisa da informação foram utilizadas as seguintes palavras-chave: “*cancer review*” “*cancer epidemiology*” “*immunotherapy*”, “*monoclonal antibodies in immunotherapy*”, “*checkpoint inhibitor immunotherapy*”, “*therapeutic vaccines in immunotherapy*”, “*primary resistance in immunotherapy*”, “*acquired resistance in immunotherapy*”, “*combined immunotherapy*”, entre outras.

3 Imunoterapia no cancro

A Imunoterapia é um tratamento que recorre ao próprio sistema imunitário para prevenir, controlar e combater doenças como o cancro. Neste sentido, a Imunoterapia estimula o sistema imunitário para reconhecer e seleccionar as células cancerígenas, fazendo com que esta seja uma resposta universal para o cancro. A compreensão do seu funcionamento torna-se assim essencial para fundamentar a sua utilização no tratamento do cancro. (7)

Neste tipo de terapêutica, por um lado pode-se manipular e estimular as próprias células, e, por outro lado, podem ser criadas em laboratório células iguais às do sistema imunitário para que consigam encontrar e atacar células cancerígenas. (8)

O nosso sistema imunitário tem a capacidade de seleccionar e reconhecer todas as células do nosso organismo que normalmente estão presentes, e qualquer célula que seja estranha cria um alarme desencadeando uma resposta das defesas. Ainda assim, tem alguma dificuldade no reconhecimento das células cancerígenas, uma vez que estas células começam como normais e saudáveis, e por isso muitas vezes não as ataca.

Ao nível dos efeitos adversos, nos tratamentos convencionais para o cancro o efeito é direto de um químico ou de uma radiação nos tecidos, que resulta em efeitos adversos comuns como náuseas e perda de cabelo.

Na imunoterapia os efeitos adversos variam, dependendo do tipo de imunoterapia escolhida. Os efeitos adversos potenciais relacionam-se com a estimulação excessiva ou o alvo errado do sistema imunitário e têm um quadro que varia de uma simples inflamação (febre) até sintomas com uma gravidade considerável como os sintomas típicos de doenças autoimunes. (7)

3.1 Tipos de imunoterapia no cancro

Na verdade, existem variados tipos de imunoterapia a serem utilizados para o cancro e também existem muitos a serem estudados. O tipo de imunoterapia depende do alvo terapêutico seleccionado e muitas vezes também do tipo de cancro.

A imunoterapia pode ser uma terapia ativa, em que existe a estimulação do próprio sistema imunitário para reconhecer e eliminar células tumorais, que são exemplo as terapias celulares como as células CAR-T e as vacinas, ou pode ser passiva, em que não

é necessária ativação prévia das células imunitárias, atuando estes componentes diretamente sobre as células tumorais com o objetivo de as eliminarem, sendo exemplo as terapias com anticorpos monoclonais ou citocinas.

Neste sentido, existem diversos alvos terapêuticos, tais como anticorpos monoclonais, inibidores de *checkpoint*, vacinas, terapia com células CAR-T, citocinas e vírus oncolíticos. Nos próximos capítulos serão abordados principalmente os seus mecanismos de ação e utilizações terapêuticas, dando fármacos como exemplos.

3.1.1 Anticorpos monoclonais (mAb)

Uma das formas do nosso organismo se proteger de substâncias estranhas é através dos anticorpos (Ac), os Acs são proteínas que se ligam especificamente a um antígeno (Ag) que é também uma proteína. Os Acs circulam na corrente sanguínea até que reconhecem o Ag específico e se ligam a este formando os complexos Ac-Ag. Estes mAb tem como principal função detetar Acs estranhos a fim de os neutralizar e promover respostas imunológicas que culminem na sua eliminação.

A imunoterapia recorre aos mAb, que são proteínas produzidas em laboratório a partir de um único clone de linfócitos B, que atuam num Ag específico, para combater o cancro. No entanto, por vezes torna-se difícil encontrar e selecionar o Ag específico da célula cancerígena, uma vez que este Ag não é exclusivo das mesmas, havendo certos cancros que beneficiam mais deste tipo de terapêutica do que outros.

A indução da morte tumoral por mAbs seletivos para Acs específicos é conseguida através de diferentes mecanismos. O principal mecanismo direto passa por bloquear sinais de crescimento celular através do bloqueio da ligação entre os Acs e o recetor do fator de crescimento epidérmico (EGFR). Quando este fator de crescimento está sobre-expresso, promove a proliferação e invasão celular. Os mecanismos indiretos de ação dos mAb necessitam da presença de componentes celulares do sistema imunológico, tais como *complement-dependent cytotoxicity* (CDC- citotoxicidade dependente do complemento), *antibody-dependent cellular phagocytosis* (ADCP – fagocitose celular dependente do Ac) e *antibody-dependent cellular cytotoxicity* (ADCC – citotoxicidade celular dependente do Ac). (9)

A eliminação das células tumorais pode ser mediada por macrófagos (ADCP) ou por células *Natural Killer* (NK) através da libertação de moléculas citotóxicas (ADCC). Na reação CDC recorre à ativação do sistema do complemento para promover uma cascata de eventos nas quais existe interação destas proteínas culminando na morte tumoral por lise celular. (Figura 5) (9)

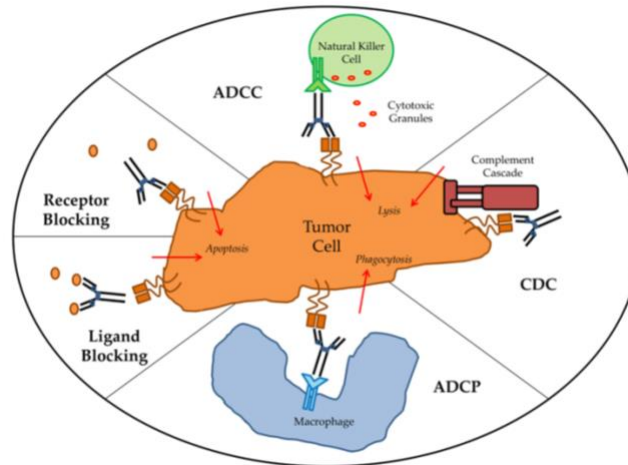


Figura 5 Mecanismo de ação mAb. (9)

Idealmente, a ligação entre o Ac aos Ags específicos ocorreria de forma exclusiva nas células cancerígenas, contudo na realidade esta exclusividade não se verifica. Assim, o que se tenta sempre alcançar é que a presença destes Ags seja muito superior nas células tumorais. Assim, a grande limitação destes mAb é que a sua eficácia depende da expressão dos Ags específicos na superfície celular das células tumorais.

Na verdade, ainda que não se consiga a exclusividade de ligação, os mAb mesmo que acabem por atuar e eliminar as células saudáveis tenta-se controlar os sintomas e sempre que se justifique recorrer ao ajuste posológico.

Os mAb só podem ser administrados por via SC ou por via IV. Estas vias de administração garantem uma quantidade significativa do mAb atinja a concentração terapêutica necessária para sua eficácia clínica, e, evitam a degradação enzimática que ocorreria no trato gastrointestinal, preservando a atividade do mAb.

Por via IV, garante-se uma entrega rápida e completa ao sistema circulatório, e são principalmente os fármacos utilizados na oncologia. E, por via SC, o que pode prolongar a semi-vida dos mAbs, permitindo que eles permaneçam ativos no organismo por um

período mais longo, para além de ser mais conveniente para os pacientes que fazem a auto-administração em casa.

3.1.1.1 Anticorpos monoclonais não conjugados

Os mAb não conjugados são Ac que não têm qualquer medicamento ou qualquer material radioativo conjugado, sendo eficazes sozinhos. Estes mAb têm vários mecanismos de ação e são os preferidos pela imunoterapia.

O **Rituximab** é um mAb indicado no tratamento de Linfoma não-Hodgkin (NHL), causado por células B difusas. O NHL é um tipo de cancro que ocorre no sistema linfático, e o rituximab liga-se especificamente ao Ag transmembranar CD20 que existe na superfície dos linfócitos B normais e malignos e recruta células do sistema imunitário para mediar a lise das células B. A eliminação das células B pelo rituximab pode recorrer à reação de ADCC, ADCP ou CDC. (10)

O **Trastuzumab (Herceptin)** é um mAb que se liga à proteína HER2 (recetor-2 do fator de crescimento epidérmico humano), e está indicado no tratamento do cancro da mama metastático e em fase precoce com sobre-expressão HER2, presente nas células mamárias e promove o seu crescimento. Quando o mAb se liga à proteína HER2, o trastuzumab inativa a mesma impedindo ou retardando a proliferação destas. (11)

O **Cetuximab (Erbix)** é um mAb que é direccionado especificamente contra o recetor do fator de crescimento epidérmico (EGFR). As vias de sinalização do EGFR estão implicadas no controlo da sobrevivência celular, progressão do ciclo celular, angiogénese, migração celular e invasão/metástase celular. O anti EGFR induz a internalização do EGFR, o que leva à diminuição dos recetores disponíveis na superfície celular. O **Cetuximab** também dirige as células efectoras imunitárias citotóxicas para as células tumorais que expressam EGFR, recorrendo à reação de ADCC. O **Erbix** está indicado no tratamento de doentes com cancro colorectal metastático e para o tratamento de doentes com carcinoma pavimentocelular da cabeça e pescoço. (12)

3.1.1.2 Anticorpos monoclonais conjugados

Os anticorpos monoclonais conjugados (ADC) são mAbs que se conjugam com um *linker* e com um fármaco da quimioterapia ou com uma partícula radioativa transportando-a

diretamente para as células cancerígenas (mAb-*linker*-agente quimioterapia/radioterapia).

Este *linker* é responsável pela ligação e por atribuir estabilidade ao ADC para que consiga circular livremente na corrente sanguínea até se fixar no Ag correspondente, que está presente na célula cancerígena. Após esta ligação, ocorre a internalização do ADC, quebrando-se a ligação e a partícula liberta-se dentro das células provocando a apoptose celular. (8)

Na quimioterapia, o **Brentuximab vedotin (Adcetris)** é um ADC que tem como alvo o Ag CD30, ligando-se ao monometil auristatina E (MMAE, agente da quimioterapia). Este ADC liberta o MMAE dentro das células que apresentam Ag CD30, resultando na morte celular destas células, de forma seletiva. De acordo com a Agência Europeia do Medicamento (EMA), o Adcetris é indicado para o tratamento do linfoma de Hodgkin CD30+, a posologia recomendada é de 1,8 mg/kg em perfusão intravenosa ao longo de 30 minutos a cada 3 semanas. (13)

Na radioterapia, o **Ibritumomab tiuxetan (Zevalin)** é um ADC que tem como alvo o Ag CD20 sendo marcado radioativamente com ítrio-90; é indicado no tratamento do linfoma não Hodgkin folicular de células B CD20+ e atua libertando radioterapia dentro dessas células cancerígenas levando à sua destruição. (14)

3.1.2 Vacinas

As vacinas para o cancro são uma forma de imunoterapia que ajuda a reeducar o sistema imunitário a reconhecer células cancerígenas para que as possa eliminar.

A maior parte das vacinas são dadas em pessoas saudáveis como forma de prevenir infeções, tais como a varicela ou sarampo. Nestas vacinas é utilizado o vírus ou bactéria atenuado para que haja uma resposta imunitário no organismo.

No caso do cancro, as vacinas são mais difíceis de desenvolver, tendo em conta que as células cancerígenas se parecem às células normais e saudáveis do sistema imunitário, havendo necessidade de inovar em diferentes abordagens. Neste sentido, existem vacinas preventivas e vacinas terapêuticas.

3.1.2.1 Vacinas preventivas

Muitas infecções virais são responsáveis pelo aparecimento e desenvolvimento de cancro, sendo estas vacinas muito importantes na minimização de risco de certos cancros. Estas vacinas ajudam na prevenção do cancro ao prevenirem a infecção viral, não tendo como alvo as células cancerígenas diretamente uma vez que, estas células ainda não foram encontradas ou formadas. (8)

Dentro destas vacinas existem a do **Papilomavírus Humano (HPV)**, que está relacionada com o cancro do colo do útero, cancro anal, cancro vaginal, e a vacina para o **Vírus da Hepatite B (VHB)**, que está relacionada com o cancro do fígado. Tendo em conta o Plano Nacional de Vacinação, a vacina para o HPV deve ser administrada até aos 10 anos (têm participação até esta idade) tanto em raparigas como em rapazes (alargado a 30 dezembro 2019, pelo Despacho nº 12434/2019), e a vacina para o VHB deve ser administrada ao nascimento, aos 2 meses e aos 6 meses. (15)

3.1.2.2 Vacinas terapêuticas

Estas vacinas diferem das preventivas, uma vez que promovem o sistema imunitário a orquestrar um ataque contra células cancerígenas. Assim, em vez de prevenirem a doença, estimulam o sistema imunológico a combater uma doença que já existe no organismo. (7)

Na verdade, estas vacinas são formuladas através de células cancerígenas, de partes de células ou de Ag puros (proteínas presentes nas células cancerígenas). Neste sentido, por vezes as próprias células do sistema imunitário do próprio paciente são isoladas e expostas a estas substâncias em laboratório para formular estas vacinas. Assim que a vacina está preparada, administra-se no organismo e promove a resposta imunológica contra as células cancerígenas específicas. (Figura 6) As vacinas normalmente são combinadas com adjuvantes que podem ser outras substâncias ou células, para que seja impulsionada esta ação imunológica. (8)

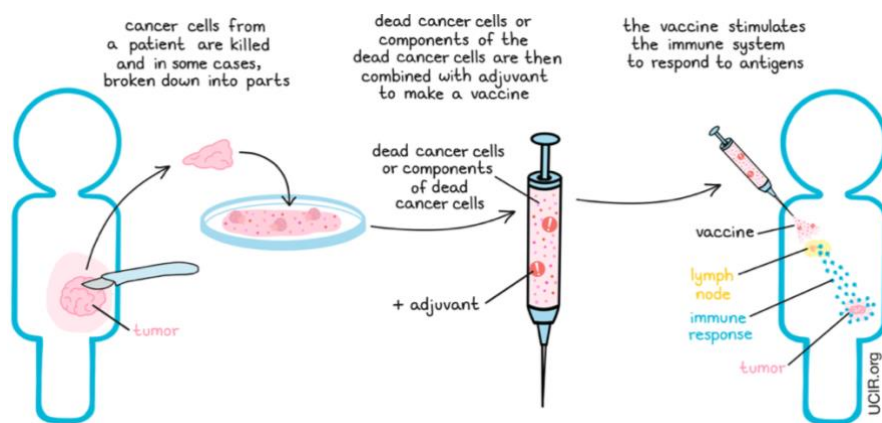


Figura 6 Mecanismo de ação vacinas terapêuticas. (16)

A personalização é um dos fatores mais atrativos das vacinas terapêuticas. Ao serem adaptadas às mutações existentes nos tumores dos doentes, estas vacinas podem ser altamente eficazes (e apresentarem menos efeitos secundários) porque têm como alvo Ag específicos que existem nas células tumorais do doente (e não nas células saudáveis). (17)

Um dos exemplos destas vacinas é a **Provenge (Sipuleucel-T)**, uma vacina aprovada pelas autoridades de saúde dos EUA, *Food and Drug Administration* (FDA), para tratamento do cancro da próstata avançado que não responde a hormonoterapia, tendo revelado um aumento na sobrevida global dos doentes em ensaios clínicos. É uma vacina personalizada, que envolve recolha de células imunitárias do doente, exposição a uma proteína encontrada nas células tumorais, e posterior re-infusão. De notar que esta vacina já não possui autorização para administração em países regulados pela EMA. (18)

Apesar de resultados promissores em ensaios clínicos, as vacinas contra o cancro enfrentam ainda vários desafios, sendo de destacar a capacidade de supressão imunológica dos tumores, que faz com que as células imunitárias possam perder atividade e eficácia no microambiente tumoral; a heterogeneidade em termos de resposta clínica, já que nem todos os pacientes respondem às vacinas e à sua eficácia, podendo variar com base no tipo de cancro e nas características individuais; e por fim, o custo e a acessibilidade, uma vez que o desenvolvimento de vacinas personalizadas exige recursos e infraestruturas especializadas que podem torná-las dispendiosas e menos acessíveis para os doentes. (19)

3.1.3 Terapia com células CAR-T

A terapia com células CAR-T consiste num tratamento individualizado que recorre às células T com recetores de antígeno quimérico (CAR).

O tratamento com células CAR-T ao ser um tipo de imunoterapia, recorre ao próprio sistema imunitário para combater o cancro, mais especificamente aos linfócitos T (células T) que são parte dos glóbulos brancos.

Neste sentido, as células T são recolhidas do doente através de **aferese terapêutica**, que consiste na remoção de um ou mais componentes do sangue (plasma, plaquetas, glóbulos brancos). As células T recolhidas são enviadas para o laboratório onde introduzem ADN para que produzam recetores de antígeno quimérico (CAR) na superfície das células, estes CARs são proteínas importantes no reconhecimento de Ag nas células tumorais. De seguida, as células T são denominadas de células CAR-T, e são multiplicadas ainda em laboratório, processo que tem uma duração entre 3 a 4 semanas. Quando temos uma quantidade significativa destas células CAR-T, as mesmas são congeladas e transferidas para o hospital ou centro hospitalar onde o doente irá receber o tratamento. (20)

No hospital ou centro hospitalar, antes do doente receber a infusão de células CAR-T, normalmente passa por um curto ciclo de quimioterapia de modo a eliminar os seus glóbulos brancos (**linfodepleção**) e, um pouco antes da perfusão, deve receber paracetamol e um medicamento anti-histamínico para reduzir o risco de reações à perfusão. As células CAR-T são administradas em perfusão única (gota a gota) ao doente via IV ou cateter central, demorando no máximo 30 minutos. Na verdade, as células CAR-T para além de reconhecerem, atacarem e eliminarem as células tumorais, também podem ter um impacto significativo na remissão. (Figura 7) Estas células podem permanecer no organismo até meses após a infusão; esta terapia tem tido grandes resultados a longo prazo. (21)

A FDA e a EMA aprovaram o **Axicabtagene ciloleucel (Yescarta)**, no tratamento de adultos com três tipos de cancro do sangue: linfoma de células B de alto grau (LCBAG), linfoma difuso de grandes células B (LDGCB), linfoma primário do mediastino de grandes células B (LPMGCB), linfoma folicular (LF). O Yescarta destina-se a doentes adultos cujo cancro do sangue reapareceu ou deixou de responder ao tratamento anterior

(refratário). Neste medicamento as CARs produzidas ligam-se às proteínas CD19 presentes na superfície das células tumorais, eliminando-as. (22)

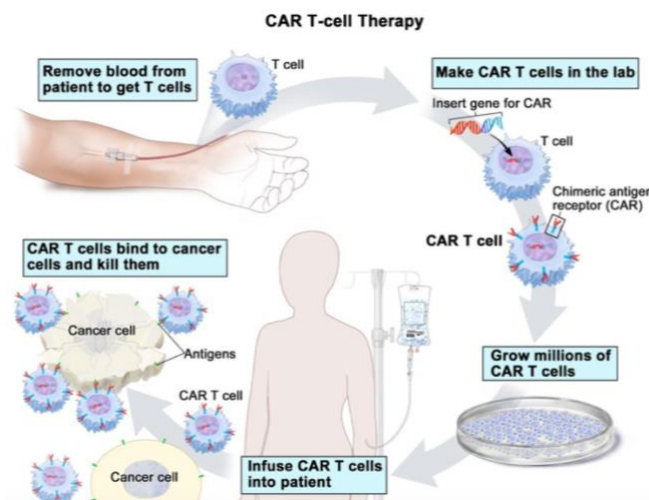


Figura 7 Terapia com células CAR-T. (20)

3.1.4 Citocinas

As citocinas são pequenas proteínas cruciais no controle da atividade e crescimento das células do sistema imunitário e das células do sangue, e também do controle da inflamação. Quando são libertadas, sinalizam o sistema imunitário a desempenhar um papel importante na capacidade de resposta ao cancro, exercendo diretamente um efeito anti-neoplásico ou podem aumentar a resposta imunitária ao tumor indiretamente.

Algumas citocinas podem ser manipuladas em laboratório para tratar alguns tipos de cancro, outras são utilizadas para prevenir e controlar os sintomas da quimioterapia. As citocinas mais comumente utilizadas são as interleucinas (IL-2) e os interferões (IFN- α), sendo injetadas via IM, IV ou SC.

3.1.4.1 Interleucinas

As interleucinas são secretadas pelos linfócitos T CD4+, estimulam a proliferação dos leucócitos, nomeadamente os linfócitos T e B, promovem o desenvolvimento e proliferação das células T *Killer* e das células NK, desencadeando uma resposta imunitária contra o cancro.

A **Proleukin (aldesleukin)** foi a primeira IL-2 recombinante a ser produzida por tecnologia de ADN recombinante a partir da *Escherichia coli*, contudo o seu uso clínico é limitado devido ao seu curto tempo de semivida, curta janela terapêutica e efeitos adversos tóxicos. (23)

A IL-2 é um fator importante para a manutenção das células T reguladoras CD4⁺ e desempenha um papel crítico na diferenciação das células T CD4⁺. Pode promover a atividade citotóxica das células T CD8⁺ e de células NK e modular a diferenciação de células T em resposta ao Ag, promovendo a diferenciação de células T CD4⁺ em células T *helper*-1 (Th1) e T *helper*-2 (Th2). Também atua como fator de crescimento das células B, que produzem substâncias que atuam sobre as células cancerígenas.

A IL-2 estimula as células do sistema imunitário a crescerem e a dividirem-se de forma rápida, podendo esta interleucina ser utilizada individualmente ou combinada com quimioterapia ou com IFN- α para o tratamento do cancro do rim e para o melanoma metastático.

3.1.4.2 Interferões

Os interferões são substâncias naturais produzidas pelo organismo que ajudam a combater infeções virais e doenças como o cancro. Dentro dos interferões existem o IFN- α , IFN- β e IFN- γ , sendo o mais utilizado em imunoterapia para o cancro o IFN- α .

O IFN- α é uma glicoproteína que participa na replicação celular e na defesa do hospedeiro, desempenhando um papel crucial nas respostas antivirais, imunomoduladoras e antiproliferativas. O seu principal mecanismo de ação passa por aumentar a atividade das células NK, promover a diferenciação de células T citotóxicas, melhorar a expressão de MHC classe I (moléculas do complexo de histocompatibilidade principal e são encontradas na superfície celular), facilitando a apresentação de Ags tumorais aos linfócitos citotóxicos. Pode ser utilizado para tratar melanoma, leucemia de células pilosas (LCP), leucemia mielogénica crónica (LMC), LF, cancro renal, sarcoma de Kaposi e linfoma cutâneo das células T (LCCT). (24)

O IFN- β é uma citocina que é produzida naturalmente pelo sistema imunitário em resposta a estímulos químicos e biológicos, desempenhando um papel crucial na defesa contra infeções virais e na regulação do sistema imunológico. Esta citocina tem uso clínico na

Esclerose Múltipla (EM) e algumas infecções virais como na infecção pelo vírus da hepatite C (VHC). (25)

O IFN- γ é uma citocina essencial para a resposta imune inata e adaptativa, com funções que abrangem a ativação de macrófagos, a modulação da apresentação de Ags e a promoção de respostas antivirais e anti tumorais. Produzido principalmente por células T e células NK este interferão desempenha um papel crucial na defesa contra infecções e no controlo de tumores. (26)

Os interferões exercem as suas atividades celulares ligando-se a recetores de membrana específicos existentes na superfície celular, iniciando uma sequência complexa de acontecimentos intracelulares, incluindo a indução de certas enzimas. Neste sentido, o mecanismo de ação consiste no aumento da resposta imunitária às células cancerígenas através da ativação das células NK e das células dendríticas. Estas são responsáveis pela indução de certas enzimas importantes nas respostas celulares ao interferão, tais como a inibição da replicação viral em células infetadas por vírus, a supressão da proliferação celular e atividades imunomoduladoras (potenciação da atividade fagolítica ou aumento da citotoxicidade dos linfócitos para as células alvo). (27)

Aprovado pela EMA, temos o **IntronA, interferão- α 2b** produzido por tecnologia de ADN recombinante a partir da *Escherichia coli*. O **IntronA** tem indicação terapêutica na LMC, no Melanoma e no LF, sendo uma solução de perfusão ou uma solução injetável. (28)

3.1.5 Vírus Oncolíticos

Os vírus oncolíticos são uma estratégia antineoplásica com capacidade de destruir células tumorais sem comprometer as células saudáveis, através de mecanismos de ação que diferem das estratégias convencionais. Estes vírus têm a capacidade de infetar, invadir e multiplicar-se dentro das células tumorais recorrendo à sua maquinaria celular para se replicarem, ultrapassando qualquer mecanismo de defesa celular. No fim de esgotar todos os recursos celulares, lisam a célula hospedeira, libertando a descendência viral para infetar as próximas células. Estes vírus induzem de forma direta a lise das células infetadas, e por outro lado, estimulam indiretamente o sistema imunitário. (Figura 8) (29)

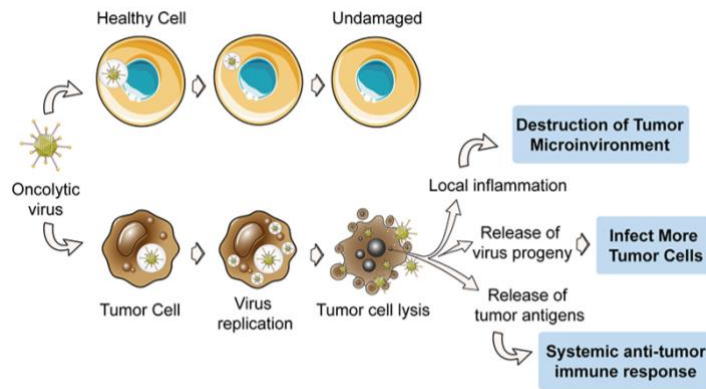


Figura 8 Mecanismo de ação Vírus Oncolíticos. (30)

Neste sentido, temos **Talimogene laherparepvec (Imlygic)**, aprovado pela FDA e pela EMA, para tratamento do melanoma avançado, inoperável e que metastizou noutras partes do corpo (excluindo parte óssea, pulmão, cérebro). A substância ativa talimogene laherparepvec é um vírus oncolítico, que é modificado para invadir, infectar e multiplicar-se dentro das células do melanoma. Neste sentido, após a infeção, o vírus provoca a lise das células e a expressão de GM-CSF, uma proteína que estimula o sistema imunitário do paciente a reconhecer e a destruir as mesmas. (31)

3.1.6 Inibidores de *checkpoint* imunológicos

Os *checkpoints* imunológicos são proteínas reguladoras da resposta imunológica, que têm um papel fundamental na manutenção da homeostase. Quando a homeostase não está comprometida, o sistema imunitário consegue eliminar ameaças sem atingir as células saudáveis através do equilíbrio entre sinais ativadores e inibidores, que atuam durante a ativação e decurso da resposta imunitária.

Neste sentido, os *checkpoints* imunológicos podem recorrer a moléculas inibitórias, sendo os mais estudados o *Cytotoxic T-Lymphocyte Antigen-4* (CTLA-4) e o PD-1, ou *Programmed Cell Death Protein 1*, a sua desregulação está associada à autoimunidade, inflamação crónica e progressão tumoral. (32)

Os fármacos dirigidos ao CTLA-4 promovem um ataque imunitário às células neoplásicas, por estimulação da ativação linfocitária. Neste sentido, o CTLA-4 é um importante regulador da atividade das células T, tendo como inibidor deste ponto de controlo imunológico o **Ipilimumab**, que bloqueia os sinais inibitórios das células T induzidos por via do CTLA-4, aumentando o número de células T efetoras reativas que

se mobilizam para criar um ataque imunológico direto das células T contra as células tumorais. (Figura 9) (33) Quando o CTLA-4 se liga ao seu recetor B7 (expresso em células apresentadoras de Ags - APC) envia sinais inibitórios às células T, diminuindo a sua ativação, resposta e a sua proliferação.

O **Ipilimumab** foi dos primeiros inibidores dos *checkpoints* imunológicos a serem aprovados, como inibidor CTLA-4 em pacientes com melanoma avançado (irressecável ou metastático). (34) De acordo com a EMA, o regime de indução recomendado é de 3 mg/kg administrado por via intravenosa durante um período de 90 minutos cada 3 semanas para um total de 4 doses. A avaliação da resposta tumoral deve ser realizada apenas após o final da terapia de indução. (33)

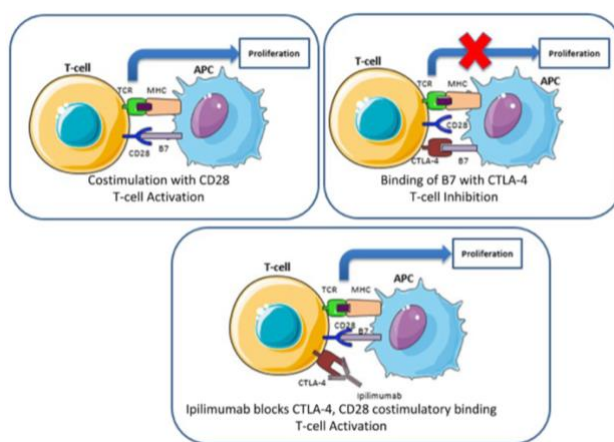


Figura 9 Ação do Ipilimumab. (34)

Quando o PD-1 na superfície das células T se liga a B7-H1/PD-L1 ou B7-DC/PD-L2 nas células apresentadoras de Ag (APC) ou em células tumorais, é transmitido um sinal inibitório para as células T. Este sinal inibitório reduz a proliferação das células T, a produção de citocinas e a capacidade das células T de destruir células tumorais. Os inibidores de PD-1 ou de PD-L1 potenciam as respostas das células T, incluindo as respostas anti tumorais, através do bloqueio da ligação da PD-1 aos ligandos PD-L1 e PD-L2. (Figura 10) (35,36)

Tendo em conta os inibidores PD-1, temos o **Pembrolizumab**, o **Cemiplimab** e o **Nivolumab** que se têm demonstrado promissores no melanoma e no carcinoma do pulmão de não-pequenas células (CPNPC) metastático. (32) Dos anti PD-L1 temos o **Atezolizumab**, **Durvalumab** e **Avelumab**.

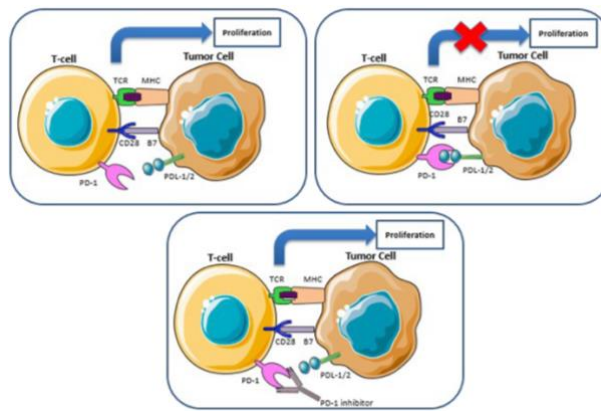


Figura 10 Ação dos inibidores PD-1. (34)

4 Caso clínico de Imunoterapia com sucesso em Portugal

4.1 Imunoterapia em 1º linha de tratamento, Hospital de Braga em colaboração com o Hospital CUF do Porto (37)

“Doente do sexo masculino, 91 anos. Vive no Sabugal. Autónimo nas atividades de vida diária, apesar de ter o apoio de uma empregada doméstica. (...) Conduz o seu automóvel. Ex-fumador de 50 UMA, tendo deixado de fumar há cerca de 20 anos. Sem antecedentes médico-cirúrgicos relevantes. Sem medicação habitual.

Em novembro de 2018, identificada opacidade hilar direita em radiografia torácica. Realizou tomografia computadorizada (TC) para melhor esclarecimento, que revelou tratar-se de “volumosa neoformação peri-hilar direita, (...)e que entra em contacto com a pleura mediastínica.”

Realizou biópsia cuja histologia afirmou o diagnóstico de carcinoma epidermoide do pulmão com expressão de PD-L1 em 90% das células neoplásicas. A tomografia por emissão de positrões (PET) (...), demonstrou (...) doença localmente avançada.

Perante o bom estado geral do doente (PS1), cuja única queixa eram dores osteoarticulares, “fruto da idade” (sic), a elevada expressão de PD-L1 (> 50%) e a impossibilidade de efetuar terapêutica combinada de quimioterapia e radioterapia, optou-se pelo uso da imunoterapia em primeira linha, iniciando em dezembro de 2018 terapêutica com pembrolizumab na dose fixa de 200 mg de 3 em 3 semanas, conforme aprovado pela EMA e autorizado em Portugal pelo Infarmed.

Em fevereiro de 2019, e após 3 ciclos de tratamento, o doente realizou nova TC toracoabdominal para reavaliação, verificando-se “acentuada redução do volume da neoformação pulmonar, atualmente apresentando apenas uma lesão residual”, o que corresponde a uma taxa de resposta de cerca de 70%.

Durante este período o doente manteve sempre excelente estado geral e apresentou apenas como intercorrência, uma infeção respiratória, com resposta favorável à

antibioterapia instituída. Aos 91 anos, mantém-se social e profissionalmente ativo e medicado, unicamente, com pembrolizumab, a cada 3 semanas. “ (37)

Tendo em conta o caso clínico, o senhor ao ter 91 anos é contraindicado passar por quimioterapia, uma vez que o risco é superior ao benefício, ao nível de efeitos adversos e da terapêutica em si, recorrendo então a imunoterapia como terapêutica de 1º linha. O **Pembrolizumab** é a imunoterapia escolhida, uma vez que através da biopsia se percebe que o doente expressa cerca de 90% de PD-L1 nas células neoplásicas.

O **Pembrolizumab**, anticorpo monoclonal, é indicado em pacientes com carcinoma do pulmão de células não-pequenas (CPNPC) metastático, onde existe expressão de PD-L1 >50%, sendo indicado para este senhor.

De acordo com a Agência Europeia do Medicamento, deve ser administrado por perfusão intravenosa durante um período de 30 minutos a cada 3 semanas, numa dose de 200 mg, uma vez que não foi tratado previamente com quimioterapia. Caso tivesse sido previamente tratado com quimioterapia, a dose seria 2 mg/kg. (38)

O **Pembrolizumab** tem como alvo a proteína PD-1, uma das proteínas de *checkpoint* que cessa a resposta imunitária. Quando o recetor PD-1 se liga ao recetor PD-L1 presente nas células cancerígenas, o PD-1 fica ativo inibindo a resposta imunitária. Ao bloquear esta interação, o **Pembrolizumab** permite ao sistema imunitário reorganizar-se e atacar estas células malignas (Figura 11). (39)

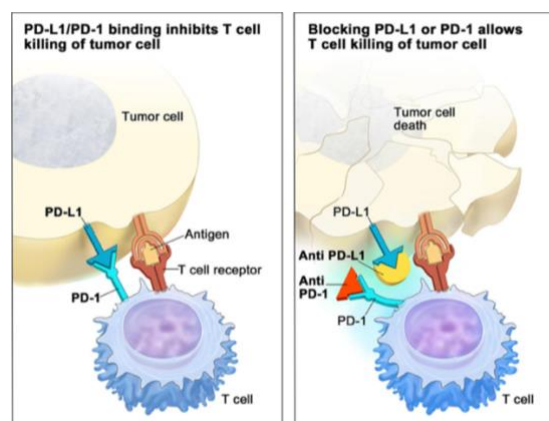


Figura 11 Ação do Pembrolizumab (anti PD-1), na ligação PD-1 ao PD-L1. (39)

5 Resistência à imunoterapia no cancro

A resistência à imunoterapia pode ser classificada em **inata** quando se caracteriza pela incapacidade de resposta do tumor à imunoterapia logo de início, não ocorrendo uma resposta imune anti-tumoral ativa. Na resistência **adaptativa** as células tumorais são reconhecidas pelo sistema imunitário, iniciando-se uma resposta imune ativa, contudo rapidamente se adaptam à resposta imune e, por isso, não respondem à imunoterapia. Por fim, na **adquirida** o tumor responde inicialmente à imunoterapia e, após um determinado período de tratamento, adquire resistência, resultando na recidiva do doente e na progressão da doença. (40,41)

5.1 Resistência Inata e Adaptativa

Na resistência inata e na adaptativa, não existe qualquer resposta à imunoterapia, sendo a sua principal diferença que na adaptativa as células cancerígenas são reconhecidas pelo sistema imunitário, mas estas têm a capacidade de se protegerem ao se adaptarem ao ataque imune.

Na origem destes tipos de resistências podem estar presentes diversos **fatores intrínsecos** às células tumorais e **fatores extrínsecos** ao tumor (do microambiente tumoral - TME). Deste modo, temos alterações moleculares como mutação do alvo molecular, alteração do TME, alteração na interação fármaco-tumor, entre outros. Na verdade, o que acaba por ser mais problemático é o facto de que estas alterações podem acontecer em simultâneo. (42)

5.1.1 Fatores de resistência intrínsecos ao tumor

Os fatores intrínsecos ao tumor, são fatores internos das próprias células tumorais que influenciam a sua resistência inata e adaptativa incluem a expressão ou a repressão de certos genes ou vias celulares. Um dos principais mecanismos de resistência envolve a **reduzida expressão de Ags** pelo tumor, especialmente de **neoantigénios**, (Ags que surgem devido a mutações genéticas específicas nas células tumorais) que levam à ativação das células T, onde estas os reconhecem como estranhos, e é desencadeada uma resposta imunológica específica contra as células tumorais que os apresentam (sensíveis à imunoterapia). Quando são libertados, são os principais responsáveis pela imunogenicidade (capacidade de um Ag induzir uma resposta imune) do tumor, permitindo a ativação de linfócitos T que reconhecem exclusivamente as células tumorais.

Assim, um tumor que apresente uma baixa expressão de neoantígenos, associada a uma baixa carga mutacional, será mais resistente à imunoterapia. Neste sentido, tumores com alta carga de mutação têm maior probabilidade de responder à terapia anti-PD1/PDL1 porque há uma maior possibilidade de gerar neoantígenos imunogênicos que ativam as células T. (Figura 12) (43,44)

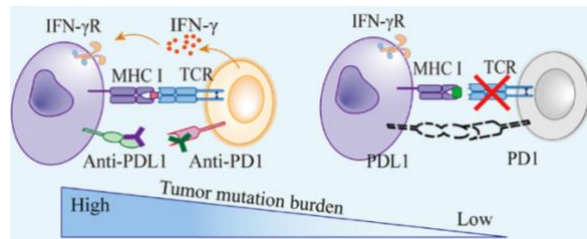


Figura 12 Tumores com maior carga mutacional respondem à terapêutica anti-PD1/PDL1. (45)

As células tumorais sofrem alterações em várias vias de sinalização oncogênicas, que podem resultar numa **menor infiltração de linfócitos T citotóxicos** no tumor ou na **limitação da sua atividade**. (41) Um exemplo comum em diversos tipos de cancro é a perda de expressão do gene supressor tumoral *PTEN* (por deleção ou mutação do gene *PTEN*) que ativa a via de sinalização PI3K/AKT/mTOR. (46) Esta ativação promove a proliferação das células tumorais, estimula a produção de citocinas imunossupressoras que reduzem a infiltração de linfócitos T e inibe a autofagia, permitindo que as células tumorais resistam à apoptose mediada pelos linfócitos T citotóxicos. (Figura 13) (47,48)

Por outro lado, esta deleção do gene *PTEN* por ativação de vias oncogênicas pode ser resultado de mutações em alguns genes tumorais, provocando a **expressão constitutiva do ligando PD-L1** pelo tumor. (Figura 13) (49,50) Esta expressão constitutiva significa que as células ou tecidos estão constantemente a expressar a proteína PD-L1 sem regulação específica por sinais externos. A sobre-expressão de PD-L1 pelas células tumorais permite que estas se liguem ao PD-1 presente nos linfócitos T citotóxicos, e esta ligação envia um sinal inibitório para as células T, desativando-as e permitindo a evasão imunológica do tumor. (51)

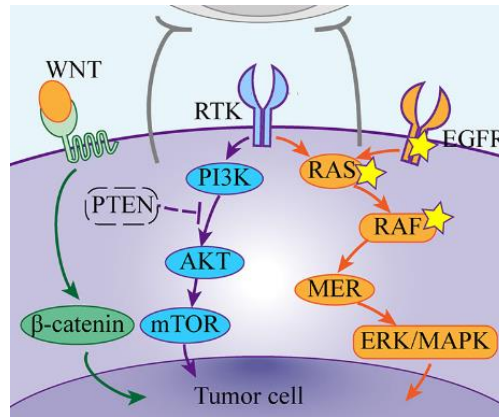


Figura 13 Perda de expressão de gene supressor tumoral *PTEN* ativa a via de sinalização PI3K/AKT/mTOR. (45)

Por fim como fator intrínseco, os tumores podem evitar a **apresentação de Ag tumorais** aos linfócitos T citotóxicos, através de mutações no gene *β2M* ou da sub-expressão de **TAP** (*Transporter Associated with Antigen Processing*). A perda ou mutação deste gene essencial para a apresentação de Ags pelo MHC I impede que as células T reconheçam e ataquem as células tumorais (Figura 14).

Por outro lado, as TAP são proteínas essenciais para a apresentação de peptídeos Ags via MHC I. A sua sub-expressão pode resultar na falha da apresentação de Ags aos linfócitos T citotóxicos, reduzindo a resposta imunológica contra as células tumorais. (40)

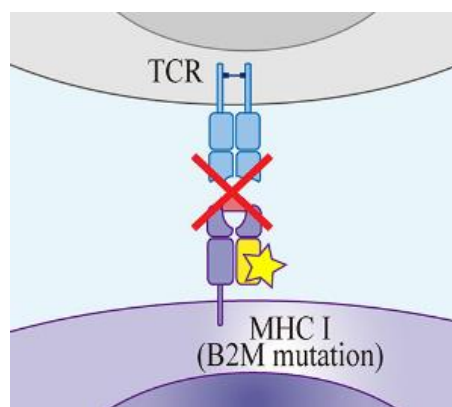


Figura 14 Mutação no *β2M* provoca alteração nas MHC I, que não vão apresentar os Ags aos linfócitos T citotóxicos (45)

5.1.2 Fatores de resistência extrínsecos ao tumor

Estes fatores estão associados ao TME que é um espaço onde ocorrem interações complexas entre o tumor e as células do sistema imunitário associadas ao tumor, sendo

um espaço em que os componentes celulares e moleculares podem ser críticos para o potencial tumorigênico do mesmo, conferindo assim um ambiente imunossupressor propício ao desenvolvimento das células tumorais, onde estas sobrevivem e proliferam. (41,52)

A primeira ação da terapia anti-PD é o bloqueio PD-1/PD-L1 através de mAb no TME, assim a **ausência de PD-1 ou de PD-L1** no TME é um mecanismo direto de resistência.

Além disso, existe evidência que **células imunossupressoras** são a chave na evasão e progressão do tumor, uma vez que tornam o TME num espaço imunossupressor propício ao desenvolvimento das células tumorais, onde estas sobrevivem e proliferam. Algumas destas células são, células supressoras derivadas de mielóides (MDSC), linfócitos T reguladoras (Treg) e macrófagos associados ao tumor (TAM). (53,54)

Os Treg inibem a resposta imune mediada pelos linfócitos T efetores através da secreção de **citocinas imunossupressoras**. Por sua vez, as MDSC são um grupo heterogêneo de células responsáveis pela indução da atividade dos linfócitos Treg e pela forte supressão dos linfócitos T efetores, resultante da produção de citocinas imunossupressoras, da depleção de aminoácidos essenciais à função dos TIL (linfócitos infiltrantes do tumor) ou pela nitração dos TCR (recetores das células T) dos TIL, estando, ainda, associadas à promoção da **angiogénese**. Quanto aos TAM, estes incluem dois tipos distintos: os macrófagos M1 e os M2, os primeiros promovem a resposta imune inata, enquanto que os M2 inibem a atividade dos TIL, diretamente, através da expressão de PD-L1, ou indiretamente, pelo recrutamento de Treg. (53)

No TME várias são as moléculas libertadas pelo próprio tumor ou pelas células do sistema imunitário, promovendo a resistência à imunoterapia devido ao seu efeito imunossupressor, e existem as **citocinas inibitórias** IL-10, TGF- β , VEGF entre outras, e como **moléculas imunossupressoras** temos os metabolitos resultantes da ação da **IDO** e a **adenosina**. (40)

A **IL-10** inibe a ativação de macrófagos e células dendríticas, o **TGF- β** inibe a função de células T e células NK e o **VEGF** além de promover a angiogénese, interfere também na maturação das células dendríticas e atrai células imunossupressoras para o microambiente tumoral.

A **IDO** é uma enzima responsável pela decomposição do triptofano, aminoácido essencial para as células, que ao ver os seus níveis reduzidos no TME juntamente com a ação dos seus metabolitos, inibe a proliferação e a atividade dos TIL. (55).

A **adenosina** é resultado de uma desfosforilação da adenosina monofosfato (AMP) pela ectoenzima CD73. Esta molécula desfosforilada inibe a proliferação e a ação citotóxica através da ligação ao seu recetor A2A dos linfócitos T no TME, e promove a formação de metástases quando se liga ao recetor A2B nas células tumorais. Neste sentido, tumores que apresentem uma sobre-expressão de CD73, apresentam também um aumento de adenosina no TME que confere resistência à imunoterapia. (56)

Por fim, como fator extrínseco de resistência temos a **exaustão de linfócitos T**, caracterizada por um estado disfuncional que culmina na perda da sua função efetora. Devido à exposição contínua aos Ag tumorais, os TIL passam a sobre-expressar marcador de exaustão como o PD-1 que ao ligar-se ao PD-L1 desencadeia a inibição da atividade efetora dos linfócitos T, fazendo com que estes apresentem um fenótipo caracterizado por uma significativa redução na proliferação, sobrevivência, atividade citotóxica e inflamatória contra as células tumorais. Quando os TIL se encontram num estado de exaustão severa, a expressão de PD-1 é tão elevada que a eficácia da terapêutica anti-PD-1/PD-L1 é limitada, sendo assim condicionada a severidade da exaustão e a sensibilidade dos TIL aos inibidores do PD-1/PD-L1 pelo nível de expressão de PD-1 e pela abundância de PD-L1. (Figura 15) (57,58)

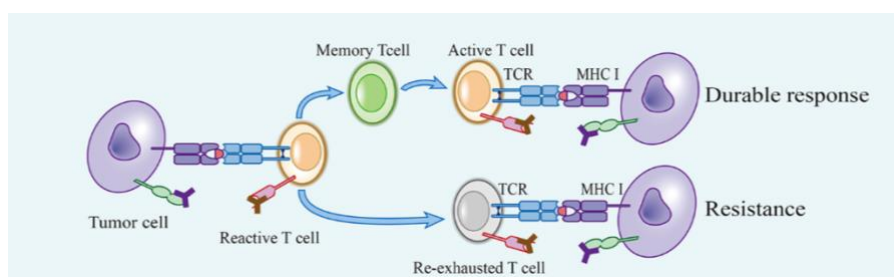


Figura 15 Exaustão de linfócitos T. (45)

5.2 Resistência Adquirida

Esta resistência é caracterizada pela redução da sensibilidade, resultante da pressão imunológica recorrente. Neste sentido, a resistência adquirida manifesta-se através de mecanismos que interferem com a atividade das células T dentro do TME. Existem variados mecanismos de *feedback* negativo, como a expressão de uma variedade de

moléculas de *checkpoint* que neutralizam a resposta imune, como LAG-3, TIM-3 e BTLA. (59)

Do ponto de vista clínico, nesta resistência o tumor responde à imunoterapia inicialmente, mas passado um certo período de tratamento a neoplasia deixa de ser sensível à terapêutica e o doente recidiva ou a doença progride. (60)

Os mecanismos potenciais de recidiva incluem **perda da função das células T, falta de reconhecimento das células T** por *feedback* negativo da apresentação do Ag tumoral e desenvolvimento de **mutações que promovem a evasão**. A falta de reconhecimento das células T devido ao *feedback* negativo da apresentação do Ag tumoral refere-se a mecanismos regulatórios que limitam a resposta imune contra o tumor, especialmente através da modulação da apresentação de antígenos pelas APCs, pelo qual as células tumorais podem escapar da detecção e destruição pelo sistema imunológico. Se as células T anti tumorais alterarem o seu fenótipo funcional e deixarem de exercer a atividade citotóxica, então um paciente que respondeu à imunoterapia pode desenvolver uma recidiva do tumor. (Figura 16) (40)

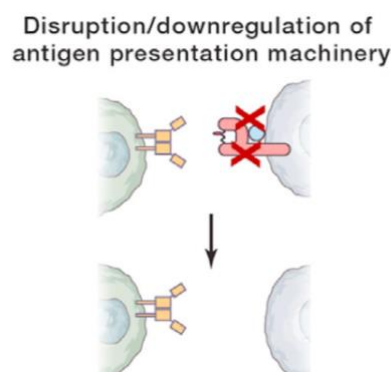


Figura 16 Feedback negativo da maquinaria para apresentação de Ag. (61)

Um dos mecanismos de resistência adquirida à imunoterapia pode consistir no **decrécimo da expressão de neoantigénios**, como consequência da eliminação das células tumorais ricas em neoantigénios pelos TIL, resultando numa seleção natural, onde as células tumorais pobres em neoantigénios têm uma vantagem de crescimento, e subsequentemente são estas que vão proliferar, e adquirir resistência. (Figura 17) (44) Outro mecanismo pode corresponder a **deleções, mutações ou alterações epigenéticas** nos genes que codificam os neoantigénios ou os Ags associados ao tumor, pois os TIL

não reconhecem as células tumorais, uma vez que estas já não exibem os Ags para os quais são específicos, não exercendo atividades citotóxicas. (40)

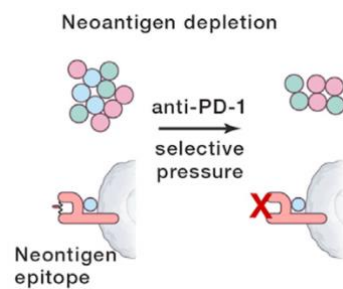


Figura 17 Depleção de neoantigénios. (61)

Temos também as **mutações nos genes *JAK1*, *JAK2* e *β2M*** que para além de estarem associadas à resistência primária e adaptativa, a existência destas mutações foi descoberta como sendo um mecanismo de resistência adquirida à terapêutica anti-PD-1 com pembrolizumab, em doentes com melanoma. As mutações nestes genes afetam a via de sinalização IFN- γ , tornando o tumor menos sensível aos linfócitos T citotóxicos. (45) Quando as TIL começam a produzir IFN- γ , este interferão pode mediar a expressão de PD-L1 na superfície das células tumorais, contribuindo para a evasão imunológica. O gene *β2M* está associado à apresentação de Ag, culminando num menor reconhecimento das células tumorais pelos TIL. (62)

Em suma, na resistência inata, o tumor não responde de todo à terapêutica, na resistência adquirida, o tumor começa por responder à terapêutica, mas passado um certo período adquire resistência e deixa de responder. A razão da sensibilidade dos tumores à terapia deve-se aos fatores intrínsecos (Figura 18) e fatores extrínsecos (Figura 19) tanto para a resistência inata como para a adquirida. Sendo os fatores intrínsecos específicos das próprias células tumorais e os extrínsecos específicos do microambiente tumoral.

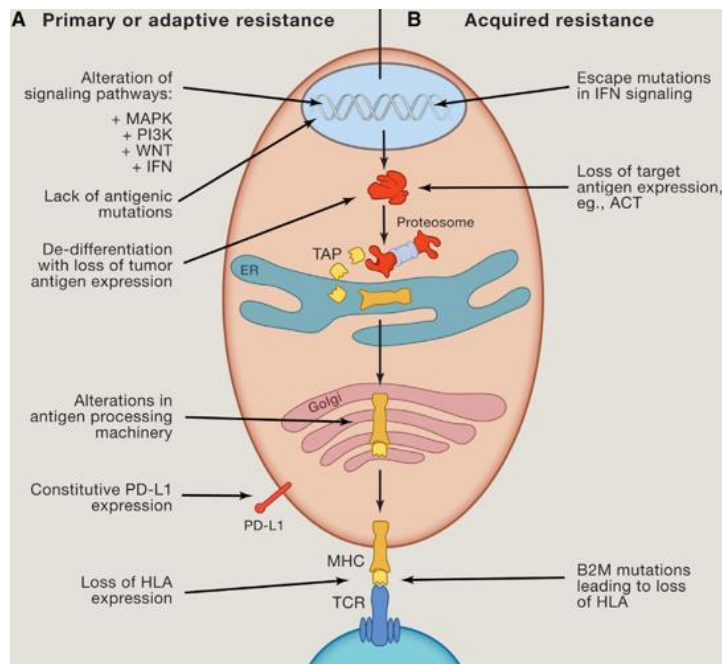


Figura 18 Resumo dos fatores intrínsecos na resistência inata e adquirida. (40)

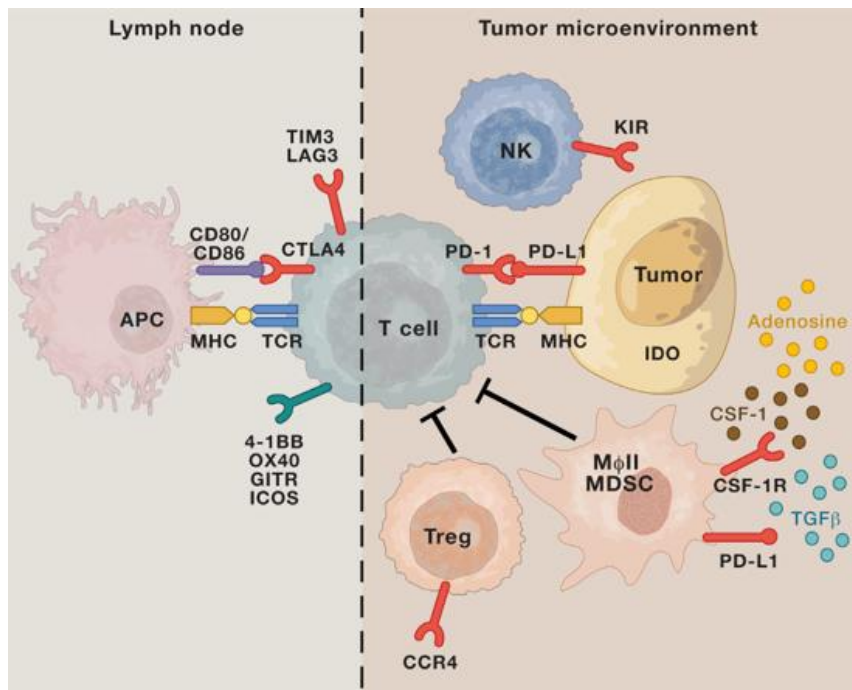


Figura 19 Resumo dos fatores extrínsecos na resistência inata e adquirida. (40)

6 Imunoterapia combinada: o futuro para o doente oncológico

Tendo em conta o capítulo anterior, sabemos que são variados os mecanismos de resistência que os tumores apresentam, tornando-se imperativo contorná-los.

Os maiores desafios da imunoterapia passam por compreender os complexos mecanismos de resistência das células cancerígenas, sendo um destes os doentes que não respondem aos inibidores do PD-1/PD-L1. Deste modo, a imunoterapia combinada tem vindo a demonstrar ser uma possível solução para este obstáculo.

Existem muitas combinações a serem estudadas, tais como a combinação de inibidores de *checkpoint*, a combinação de imunoterapia com quimioterapia, a combinação de imunoterapia com radioterapia, a combinação de vacinas terapêuticas com quimioterapia, entre muitas outras. A imunoterapia combinada com outras terapêuticas convencionais tem como principal objetivo ativar a resposta imunitária, reduzir a imunossupressão, sinalizar as vias de resistência para desenvolver um tratamento mais duradouro em comparação com a monoterapia. (63)

6.1 Utilização combinada de anti PD-1 e anti CTLA-4

Estima-se que de um quarto a um terço dos doentes com melanoma metastático durante o tratamento com inibidores *checkpoints*, como anti CTLA-4 e anti PD-1 em monoterapia, possam recidivar com o passar do tempo. Neste sentido, um exemplo de uma otimização de terapêutica é o uso combinado do bloqueio de dois importantes *checkpoints* imunológicos, CTLA-4 e PD-1, que resulta significativamente num aumento da resposta à imunoterapia nestes pacientes. (40)

A razão desta combinação de inibidores de *checkpoint* é devida às diferenças dos seus mecanismos de ação. Os anti CTLA-4 restauram a função das células T melhorando a sinalização co-estimulatória CD28 (proteína expressa em células T que fornece sinais co-estimulatórios necessários para a ativação e sobrevivência das mesmas), estimulando a preparação das células T e a apresentação de Ags. Os *checkpoints* PD-L1 são maioritariamente expressos em células T ativas e exaustas, e por isso os anti PD-1/PD-L1 promovem a ativação de células T e restauram as células T exaustas. (64)

Os anti PD-1 são o **Pembrolizumab**, o **Nivolumab** e o **Cemiplimab**, o anti CTLA-4 é o **Ipilimumab** e os anti PD-L1 são o **Atezolizumab**, **Durvalumab** e o **Avelumab**. A combinação destes anti *checkpoints* pode induzir respostas imunes anti tumorais mais potentes, proporcionando taxas de resposta tumoral mais altas. (64)

6.1.1 Nivolumab + Ipilimumab (N+I)

A FDA aprovou **Nivolumab** e **Ipilimumab** no tratamento de melanoma metastático e no cancro colorretal. Esta combinação demonstrou um aumento significativo nas taxas de resposta à terapêutica, em comparação com a monoterapia. Estes dados comprovam que os mecanismos de ação dos anti CTLA-4 e anti PD-1 são, de facto, sinérgicos, uma vez que os anti CTLA-4 promovem a ativação de diversos linfócitos T, o que permite aumentar o número de linfócitos T efetores que migram até ao tumor, e os anti PD-1 inibem a supressão da atividade destes linfócitos no microambiente tumoral. (65)

Tendo em conta que o efeito do anti CTLA-4 resulta numa maior infiltração tumoral de linfócitos T efetores o que, por conseguinte, aumenta o reconhecimento das células tumorais pelos TIL e induz, através do IFN- γ , a expressão de PD-L1. Assim, a ligação do PD-1 dos linfócitos T ao PD-L1 do tumor é um pré-requisito para que os anti PD-1 apresentem eficácia. Neste sentido, em tumores que não expressam PD-L1 esta combinação permite obter um aumento particularmente significativo da resposta. Assim, o anti CTLA-4 estimula indiretamente a apresentação de PD-L1 nas células tumorais, aumentando a resposta à terapêutica sendo então uma alternativa à resistência de tumores com baixa expressão de PD-L1. (50)

No melanoma metastático a dose é de 1mg/kg de **Nivolumab** e 3mg/kg de **Ipilimumab**, já no cancro colorretal a dose é de 3mg/kg de **Nivolumab** e 1mg/kg de **Ipilimumab**. (65)

6.2 Utilização combinada de anti PD-1 e Quimioterapia

A utilização dos inibidores PD-1 e a quimioterapia é uma abordagem emergente e promissora no tratamento do cancro. Esta combinação visa melhorar a resposta imunológica do corpo contra as células cancerígenas, além de potencializar os efeitos da quimioterapia. Alguns benefícios desta combinação são a redução da resistência, o efeito sinérgico e o aumento da taxa de sobrevivência. A redução da resistência consegue-se uma vez que, tumores que são resistentes à imunoterapia podem tornar-se mais suscetíveis

após a quimioterapia, tendo em conta que esta terapêutica modifica o microambiente tumoral e aumenta a infiltração de células T. (66)

6.2.1 Pembrolizumab (anti PD-1) + Carboplatina + Paclitaxel

Em junho deste ano, a FDA aprovou esta combinação de imunoterapia + quimioterapia no tratamento de carcinoma endometrial primário ou recorrente, independente do seu nível de *mismatch repair* (nível de reparo do desajuste que acontece durante a replicação celular, garantindo a integridade do genoma). (67)

A **Carboplatina** pertence à classe dos agentes alquilantes da platina tendo como principal mecanismo de ação a formação de ligações cruzadas entre os filamentos de ADN, impedindo a replicação e a transcrição do material genético das células cancerígenas, e o **Paclitaxel** pertence à classe dos taxanos tendo como principal mecanismo de ação estabilizar os microtúbulos e impedir a sua despolimerização durante a mitose, o que leva à inibição da divisão celular e à morte das células cancerígenas.

O **Pembrolizumab**, como referido anteriormente, é um anti PD-1 que bloqueia a interação de PD-1 nas células T com o PD-L1 nas células tumorais. Isto ajuda a restaurar a resposta imunológica anti tumoral das células T, permitindo que estas reconheçam e destruam as células cancerígenas.

Esta combinação foi aprovada tendo em conta o estudo *KEYNOTE-868*, onde se verificou que a adição de pembrolizumab neste protocolo terapêutico aumentou significativamente a taxa de sobrevivência em comparação com quimioterapia apenas. Esta aprovação representa a 1ª e única linha terapêutica com anti PD-1 para o tratamento de adultos com carcinoma endometrial primário ou recorrente independente do seu nível de *mismatch repair*.(68)

O protocolo terapêutico é o seguinte, 6 ciclos de: **Pembrolizumab** 200mg a cada 3 semanas, **Paclitaxel** 175 mg/m² a cada 3 semanas, **Carboplatina** [AUC] 5 mg/mL/min a cada 3 semanas. Seguido de Pembrolizumab 400mg a cada 6 semanas até 14 ciclos ou até progressão da doença. (68)

A carboplatina apresenta elevada nefrotoxicidade daí ser necessário ajuste posológico em casos de disfunção renal, assim calcula-se a dose recorrendo a AUC (área sob a curva) para personalizar o tratamento e otimizar os resultados terapêuticos garantindo a

segurança do paciente. Em doentes com função renal normal (TFG < 60 ml/min) a posologia deverá ser de 400mg/m². (69)

6.3 Utilização combinada de Bevacizumab, Atezolizumab, Carboplatina e Pemetrexed

A utilização combinada de Bevacizumab (anti-VEGF), Atezolizumab (anti-PD-L1), Carboplatina e Pemetrexed está indicado no carcinoma de não-pequenas células (CPNPC) metastático. Esta abordagem permite atacar o cancro a partir de várias perspetivas: matando diretamente as células cancerígenas com quimioterapia, aumentando a resposta imunológica com imunoterapia e cortando o suprimento sanguíneo do tumor com terapia anti-angiogénica (bevacizumab).

O **Bevacizumab** é um mAb que se liga ao fator de crescimento do endotélio vascular (VEGF), o principal fator envolvido na vasculogénese e na angiogénese, inibindo desta forma a ligação do VEGF aos seus recetores. A neutralização da atividade biológica do VEGF regride a vascularização tumoral, normaliza a vasculatura remanescente do tumor e inibe a formação de novos vasos, inibindo assim o crescimento tumoral. O anti VEGF exerce a sua função terapêutica exclusivamente através da neutralização do VEGF. Este mAb não é um agente de imunoterapia, mas sim de terapêutica anti-angiogénica. (70)

O **Atezolizumab** é um inibidor do *checkpoint* imunológico que atua na via PD-L1. Tem como mecanismo de ação aumentar a resposta imunológica do organismo contra as células cancerígenas, bloqueando o PD-L1 nas células tumorais.

A **Carboplatina** é um agente de quimioterapia que pertence à família dos medicamentos à base de platina. Funciona danificando o ADN das células cancerígenas, impedindo que se dividam e cresçam.

O **Pemetrexed** é outro agente de quimioterapia que inibe processos metabólicos dependentes de folato, essenciais para a replicação celular.

O protocolo terapêutico é o seguinte, 4 ciclos de: Atezolizumab 1200 mg, Bevacizumab 7,5 mg/kg, Pemetrexed 500 mg/m² e Carboplatina 5 AUC. A partir do 5º ciclo e até progressão da doença ou toxicidade: Atezolizumab 1200 mg, Bevacizumab 7,5 mg/kg, Pemetrexed 500 mg/m². (71)

7 Conclusões

A imunoterapia representa uma terapia biológica inovadora no tratamento do cancro recorrendo ao próprio sistema imunológico para atacar as células tumorais, oferecendo uma nova esperança para doentes com neoplasias avançadas ou resistentes a tratamentos convencionais. Ao recorrer e manipular o próprio sistema imunológico para reconhecer e combater células tumorais, esta abordagem terapêutica proporciona respostas duradouras e, em alguns casos, remissões prolongadas.

A imunoterapia é uma terapia personalizada que recorre aos inibidores de *checkpoint* imunológico, à terapia com células CAR-T e às vacinas terapêuticas que são estratégias que têm demonstrado eficácia significativa em diversos tipos de cancro. Esta terapia pode ser combinada também com outros planos terapêuticos para maximizar os seus benefícios, tais como no caso de imunoterapia em combinação com quimioterapia, quando o tumor é resistente à imunoterapia.

No entanto, ainda que seja revolucionária no tratamento de certos tipos de cancro, tem também alguns obstáculos e limitações. A resposta variável entre os pacientes que promovem resistência ao tratamento, os potenciais efeitos adversos que podem ser graves e o alto custo dos tratamentos são barreiras significativas que precisam de ser ultrapassadas e que exigem monitorização contínua.

Para otimizar a eficácia da imunoterapia e torná-la acessível a um maior número de pacientes, é essencial continuar a investir na pesquisa de novos alvos terapêuticos, que desenvolvam combinações de tratamentos mais eficazes e melhorem a personalização das abordagens terapêuticas com base nos perfis individuais dos pacientes. É também essencial este investimento para conseguirmos ultrapassar a barreira da acessibilidade ao tratamento, sendo algumas vezes o alto custo razão para este ser indeferido.

A imunoterapia está a transformar o paradigma no tratamento oncológico, fornecendo uma ferramenta poderosa na luta contra o cancro. Com avanços contínuos e uma melhor compreensão dos mecanismos subjacentes, a imunoterapia tem o potencial de redefinir os padrões de cuidados de saúde e oferecer melhores resultados para os doentes oncológicos.

Referências Bibliográficas

1. O Cancro | CUF [Internet]. [citado 28 de Fevereiro de 2024]. Disponível em: <https://www.cuf.pt/cuf-oncologia/o-cancro>
2. IPO Lisboa [Internet]. [citado 28 de Fevereiro de 2024]. Disponível em: <https://www.ipolisboa.min-saude.pt/sobre-o-cancro/alguns-tipos-de-cancro/>
3. Cancro [Internet]. [citado 3 de Março de 2024]. Disponível em: <https://www.sns24.gov.pt/tema/doencas-oncologicas/cancro/>
4. Qaseem A, Usman N, Jayaraj JS, Janapala RN, Kashif T. Cancer of Unknown Primary: A Review on Clinical Guidelines in the Development and Targeted Management of Patients with the Unknown Primary Site. Cureus [Internet]. 2 de Setembro de 2019 [citado 3 de Março de 2024]; Disponível em: <https://www.aihw.gov.au/reports/cancer/cancer-data-in-australia/contents/summary-dashboard>
5. Global Cancer Observatory [Internet]. [citado 23 de Fevereiro de 2024]. Disponível em: <https://gco.iarc.fr/en>
6. Perfil sobre cancro por país 2023 European Cancer Inequalities Registry. [citado 19 de Junho de 2024]; Disponível em: <https://www.oecd.org/termsand->
7. What Is Immunotherapy? | Cancer Research Institute [Internet]. [citado 28 de Março de 2024]. Disponível em: <https://www.cancerresearch.org/what-is-immunotherapy>
8. What Is Immunotherapy? | Immunotherapy for Cancer | American Cancer Society [Internet]. [citado 16 de Março de 2024]. Disponível em: <https://www.cancer.org/cancer/managing-cancer/treatment-types/immunotherapy.html>
9. Zahavi D, Weiner L. Monoclonal Antibodies in Cancer Therapy. [citado 25 de Junho de 2024]; Disponível em: www.mdpi.com/journal/antibodies
10. Si T, Ma X, Zhu W, Zhou Y. Clinical efficacy and safety of subcutaneous rituximab in non-Hodgkin lymphoma: a systematic literature review and meta-analysis. Vol. 28, Hematology (United Kingdom). Taylor and Francis Ltd.; 2023.
11. RCM Herceptin [Internet]. [citado 8 de Abril de 2024]. Disponível em: https://ec.europa.eu/health/documents/community-register/2006/2006102015188/anx_15188_pt.pdf
12. RCM Cetuximab [Internet]. [citado 22 de Junho de 2024]. Disponível em: https://www.ema.europa.eu/pt/documents/product-information/erbitux-epar-product-information_pt.pdf

13. RCM Adcetris [Internet]. [citado 8 de Abril de 2024]. Disponível em: https://ec.europa.eu/health/documents/community-register/2017/20171215139555/anx_139555_pt.pdf
14. RCM Zevalin [Internet]. [citado 8 de Abril de 2024]. Disponível em: https://ec.europa.eu/health/documents/community-register/2017/20170713138414/anx_138414_pt.pdf
15. Programa Nacional de Vacinação [Internet]. [citado 8 de Maio de 2024]. Disponível em: <https://www.sns24.gov.pt/tema/vacinas/programa-nacional-de-vacinacao/#qual-o-programa-nacional-de-vacinacao-que-esta-em-vigor>
16. How do cancer vaccines work? [Internet]. [citado 1 de Julho de 2024]. Disponível em: <https://www.ucir.org/therapies/cancer-vaccines>
17. Fan T, Zhang M, Yang J, Zhu Z, Cao W, Dong C. Therapeutic cancer vaccines: advancements, challenges, and prospects. *Signal Transduction and Targeted Therapy* 2023 8:1 [Internet]. 13 de Dezembro de 2023 [citado 25 de Junho de 2024];8(1):1–23. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/s41392-023-01674-3>
18. Provenge | European Medicines Agency [Internet]. [citado 16 de Maio de 2024]. Disponível em: <https://www.ema.europa.eu/en/medicines/human/EPAR/provenge>
19. Melero I, Gaudernack G, Gerritsen W, Huber C, Parmiani G, Scholl S, et al. Therapeutic vaccines for cancer: An overview of clinical trials. *Nat Rev Clin Oncol*. 2014;11(9):509–24.
20. T-cell Transfer Therapy - Immunotherapy - NCI [Internet]. [citado 27 de Maio de 2024]. Disponível em: <https://www.cancer.gov/about-cancer/treatment/types/immunotherapy/t-cell-transfer-therapy>
21. Miliotou AN, Papadopoulou LC. CAR T-cell Therapy: A New Era in Cancer Immunotherapy. *Curr Pharm Biotechnol*. 8 de Maio de 2018;19(1):5–18.
22. CHMP. Yescarta, INN-axicabtagene ciloleucel. [citado 27 de Maio de 2024]; Disponível em: www.ema.europa.eu/contact
23. Fu Y, Tang R, Zhao X. Engineering cytokines for cancer immunotherapy: a systematic review. *Front Immunol*. 2023;14.
24. Ferrantini M, Capone I, Belardelli F. Interferon- α and cancer: Mechanisms of action and new perspectives of clinical use. *Biochimie*. Junho de 2007;89(6–7):884–93.
25. Haji Abdolvahab M, Mofrad MRK, Schellekens H. Interferon Beta: From Molecular Level to Therapeutic Effects. *Int Rev Cell Mol Biol* [Internet]. 2016 [citado 22 de Junho de 2024];326:343–72. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27572132/>

26. Burke JD, Young HA. IFN- γ : A cytokine at the right time, is in the right place. *Semin Immunol* [Internet]. 1 de Junho de 2019 [citado 22 de Junho de 2024];43. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31221552/>
27. Qiu Y, Su M, Liu L, Tang Y, Pan Y, Sun J. Clinical Application of Cytokines in Cancer Immunotherapy. 2021 [citado 1 de Junho de 2024]; Disponível em: <https://doi.org/10.2147/DDDT.S308578>
28. RCM IntronA interferão- α 2b [Internet]. [citado 1 de Julho de 2024]. Disponível em: https://ec.europa.eu/health/documents/community-register/2009/2009111970088/anx_70088_pt.pdf
29. Mondal M, Guo J, He P, Zhou D. Recent advances of oncolytic virus in cancer therapy. *Hum Vaccin Immunother*. 2 de Outubro de 2020;16(10):2389–402.
30. Oncolytic Virus Therapy Development - Creative Biolabs [Internet]. [citado 25 de Junho de 2024]. Disponível em: <https://www.creative-biolabs.com/oncolytic-virus/oncolytic-virus-therapy-development.htm>
31. Imlygic | European Medicines Agency [Internet]. [citado 16 de Maio de 2024]. Disponível em: <https://www.ema.europa.eu/en/medicines/human/EPAR/imlygic>
32. Naimi A, Mohammed RN, Raji A, Chupradit S, Yumashev AV, Suksatan W, et al. Tumor immunotherapies by immune checkpoint inhibitors (ICIs); the pros and cons. *Cell Communication and Signaling* [Internet]. 2020 [citado 12 de Abril de 2024];20:44. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s12964-022-00854-y>
33. RCM Ipilimumab [Internet]. [citado 14 de Abril de 2024]. Disponível em: https://ec.europa.eu/health/documents/community-register/2018/20180118139835/anx_139835_pt.pdf
34. Volpe VO, Klufas DM, Hegde U, Grant-Kels JM. The new paradigm of systemic therapies for metastatic melanoma. *J Am Acad Dermatol*. 1 de Agosto de 2017;77(2):356–68.
35. RCM Cemiplimab [Internet]. [citado 14 de Abril de 2024]. Disponível em: https://ec.europa.eu/health/documents/community-register/2019/20190628145113/anx_145113_pt.pdf
36. RCM Nivolumab [Internet]. [citado 14 de Abril de 2024]. Disponível em: https://ec.europa.eu/health/documents/community-register/2021/20210413151750/anx_151750_pt.pdf
37. View of Immunotherapy in Advanced Non-Small Cell Lung Cancer: About Two Case Reports [Internet]. [citado 8 de Abril de 2024]. Disponível em: <https://www.gazetamedica.pt/index.php/gazeta/article/view/236/150>
38. RCM Pembrolizumab [Internet]. [citado 10 de Abril de 2024]. Disponível em: https://ec.europa.eu/health/documents/community-register/2017/20171208139385/anx_139385_pt.pdf

39. FDA Approves Pembrolizumab to Treat Non-Small Cell Lung Cancer - NCI [Internet]. [citado 8 de Abril de 2024]. Disponível em: <https://www.cancer.gov/news-events/cancer-currents-blog/2015/pembrolizumab-nsccl>
40. Sharma P, Hu-Lieskovan S, Wargo JA, Ribas A. Primary, Adaptive, and Acquired Resistance to Cancer Immunotherapy. *Cell* [Internet]. 9 de Fevereiro de 2017 [citado 7 de Junho de 2024];168(4):707–23. Disponível em: <http://www.cell.com/article/S009286741730065X/fulltext>
41. Vesely MD, Zhang T, Chen L. Resistance Mechanisms to Anti-PD Cancer Immunotherapy. *Annu Rev Immunol* [Internet]. 26 de Abril de 2022 [citado 7 de Junho de 2024];40(Volume 40, 2022):45–74. Disponível em: <https://www.annualreviews.org/content/journals/10.1146/annurev-immunol-070621-030155>
42. Why Do Cancer Treatments Stop Working? - NCI [Internet]. [citado 12 de Junho de 2024]. Disponível em: <https://www.cancer.gov/about-cancer/treatment/research/drug-combo-resistance>
43. Lu YC, Robbins PF. Cancer immunotherapy targeting neoantigens. *Semin Immunol*. 1 de Fevereiro de 2016;28(1):22–7.
44. Wang Q, Wu X. Primary and acquired resistance to PD-1/PD-L1 blockade in cancer treatment. *Int Immunopharmacol*. 1 de Maio de 2017;46:210–9.
45. Lei Q, Wang D, Sun K, Wang L, Zhang Y. Resistance Mechanisms of Anti-PD1/PDL1 Therapy in Solid Tumors. *Front Cell Dev Biol*. 21 de Julho de 2020;8.
46. Song MS, Salmena L, Pandolfi PP. The functions and regulation of the PTEN tumour suppressor. *Nat Rev Mol Cell Biol*. Maio de 2012;13(5):283–96.
47. Bellone M, Elia AR. Constitutive and acquired mechanisms of resistance to immune checkpoint blockade in human cancer. *Cytokine Growth Factor Rev*. 1 de Agosto de 2017;36:17–24.
48. Šmahel M. PD-1/PD-L1 Blockade Therapy for Tumors with Downregulated MHC Class I Expression. *International Journal of Molecular Sciences* 2017, Vol 18, Page 1331 [Internet]. 21 de Junho de 2017 [citado 7 de Junho de 2024];18(6):1331. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1422-0067/18/6/1331/htm>
49. Šmahel M. Molecular Sciences PD-1/PD-L1 Blockade Therapy for Tumors with Downregulated MHC Class I Expression. Disponível em: www.mdpi.com/journal/ijms
50. Ribas A, Hu-Lieskovan S. What does PD-L1 positive or negative mean? *Journal of Experimental Medicine*. 12 de Dezembro de 2016;213(13):2835–40.
51. Jiang Y, Chen M, Nie H, Yuan Y. PD-1 and PD-L1 in cancer immunotherapy: clinical implications and future considerations PD-1 and PD-L1 in cancer

- immunotherapy: clinical implications and future considerations. 2019 [citado 19 de Junho de 2024]; Disponível em: <https://doi.org/10.1080/21645515.2019.1571892>
52. Bellone M, Elia AR. Constitutive and acquired mechanisms of resistance to immune checkpoint blockade in human cancer. *Cytokine Growth Factor Rev.* 1 de Agosto de 2017;36:17–24.
 53. Liu Y, Cao X. Immunosuppressive cells in tumor immune escape and metastasis. *J Mol Med.* 1 de Maio de 2016;94(5):509–22.
 54. Yi M, Li T, Niu M, Mei Q, Zhao B, Chu Q, et al. Exploiting innate immunity for cancer immunotherapy. *Mol Cancer* [Internet]. 1 de Dezembro de 2023 [citado 14 de Junho de 2024];22(1). Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38008741/>
 55. Platten M, Wick W, Van Den Eynde BJ. Tryptophan catabolism in cancer: beyond IDO and tryptophan depletion. *Cancer Res* [Internet]. 1 de Novembro de 2012 [citado 12 de Junho de 2024];72(21):5435–40. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23090118/>
 56. Allard D, Chrobak P, Allard B, Messaoudi N, Stagg J. Targeting the CD73-adenosine axis in immuno-oncology. *Immunol Lett* [Internet]. 1 de Janeiro de 2019 [citado 12 de Junho de 2024];205:31–9. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29758241/>
 57. Wherry EJ. T cell exhaustion. *Nat Immunol.* Junho de 2011;12(6):492–9.
 58. Belk JA, Daniel B, Satpathy AT. Epigenetic regulation of T cell exhaustion. *Nat Immunol* [Internet]. 1 de Junho de 2022 [citado 19 de Junho de 2024];23(6):848–60. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35624210/>
 59. Kelderman S, Schumacher TNM, Haanen JBAG. Acquired and intrinsic resistance in cancer immunotherapy. *Mol Oncol.* 12 de Setembro de 2014;8(6):1132–9.
 60. Bai R, Chen N, Li L, Du N, Bai L, Lv Z, et al. Mechanisms of Cancer Resistance to Immunotherapy. *Front Oncol.* 6 de Agosto de 2020;10.
 61. Schoenfeld AJ, Hellmann MD. Acquired Resistance to Immune Checkpoint Inhibitors. *Cancer Cell.* 13 de Abril de 2020;37(4):443–55.
 62. Bagchi S, Yuan R, Engleman EG. Immune Checkpoint Inhibitors for the Treatment of Cancer: Clinical Impact and Mechanisms of Response and Resistance. *Annual Review of Pathology: Mechanisms of Disease.* 24 de Janeiro de 2021;16:223–49.
 63. Barbari C, Fontaine T, Parajuli P, Lamichhane N, Jakubski S, Lamichhane P, et al. Immunotherapies and Combination Strategies for Immuno-Oncology. [citado 22 de Junho de 2024]; Disponível em: www.mdpi.com/journal/ijms

64. Bluthgen MV, Basté N, Recondo G. Immunotherapy combinations for the treatment of patients with solid tumors. *Future Oncology*. 1 de Agosto de 2020;16(23):1715–36.
65. Yap TA, Parkes EE, Peng W, Moyers JT, Curran MA, Tawbi HA. Development of Immunotherapy Combination Strategies in Cancer. *Cancer Discov* [Internet]. 2021 [citado 21 de Junho de 2024];11(6):1368–97. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33811048/>
66. Eskander RN, Sill MW, Beffa L, Moore RG, Hope JM, Musa FB, et al. Pembrolizumab plus Chemotherapy in Advanced Endometrial Cancer. *New England Journal of Medicine* [Internet]. 8 de Junho de 2023 [citado 21 de Junho de 2024];388(23):2159–70. Disponível em: <https://www.nejm.org/doi/full/10.1056/NEJMoa2302312>
67. FDA approves pembrolizumab with chemotherapy for primary advanced or recurrent endometrial carcinoma | FDA [Internet]. [citado 21 de Junho de 2024]. Disponível em: <https://www.fda.gov/drugs/resources-information-approved-drugs/fda-approves-pembrolizumab-chemotherapy-primary-advanced-or-recurrent-endometrial-carcinoma>
68. FDA Approves Merck’s KEYTRUDA® (pembrolizumab) Plus Carboplatin and Paclitaxel as Treatment for Adult Patients With Primary Advanced or Recurrent Endometrial Carcinoma - Merck.com [Internet]. [citado 21 de Junho de 2024]. Disponível em: <https://www.merck.com/news/fda-approves-mercks-keytruda-pembrolizumab-plus-carboplatin-and-paclitaxel-as-treatment-for-adult-patients-with-primary-advanced-or-recurrent-endometrial-carcinoma/>
69. RCM Carboplatina [Internet]. [citado 21 de Junho de 2024]. Disponível em: <https://extranet.infarmed.pt/INFOMED-fo/pesquisa-avancada.xhtml>
70. RCM Bevacizumab [Internet]. [citado 22 de Junho de 2024]. Disponível em: https://www.ema.europa.eu/pt/documents/product-information/abevmy-epar-product-information_pt.pdf
71. EVIQ-NSCLC metastatic cARBOplatin pemetrexed atezolizumab and beVACizumab [Internet]. [citado 22 de Junho de 2024]. Disponível em: <https://www.eviq.org.au/medical-oncology/respiratory/non-small-cell-lung-cancer-advanced-metastatic/4407-nsclc-metastatic-carboplatin-pemetrexed-atezo#clinical-information>