

Universidade de Lisboa
Faculdade de Farmácia

Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

**A importância da imunoterapia no futuro
do tratamento oncológico**

Documento Definitivo

Marta Filipa Fernandes Gonçalves

2017

Universidade de Lisboa
Faculdade de Farmácia

A importância da imunoterapia no futuro do tratamento oncológico

Documento Definitivo

Marta Filipa Fernandes Gonçalves

Monografia de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas apresentada
à Universidade de Lisboa através da Faculdade de Farmácia

Monografia orientada pelo Professor Doutor João Rocha

2017

I. Resumo

O cancro é um termo genérico de um vasto número de doenças que são caracterizadas pelo crescimento anormal de células através das suas barreiras naturais e que podem invadir os tecidos circundantes, inclusivamente outros órgãos do corpo. ¹

As respostas do sistema imunitário são reguladas por um conjunto muito específico de recetores celulares que lhes permitem obter uma imunidade protetora contra as células cancerígenas, que é essencial para controlar o desenvolvimento gradual dos tumores, e que se designa por imunovigilância. Contudo, os tumores possuem mecanismos de fuga que conduzem ao bloqueio da resposta imunitária e ao crescimento celular descontrolado. ^{3, 10, 13}

Apesar dos avanços na área da quimioterapia e da radioterapia, a área oncológica continua em constante evolução uma vez que ainda existem elevadas mortalidades e morbilidades. Assim surge a imunoterapia, que têm como objetivo de ativar o sistema imunitário e restaurar as respostas anti-tumorais que foram bloqueadas pelas células cancerígenas. A imunoterapia é composta por moléculas que inibem os *checkpoints* imunitários, por vacinas que ajudam a reforçar a ação do sistema imunitário e por técnicas de transferência celular adotiva que permitem desenvolver células com a capacidade de destruir as células tumorais. ^{17, 38}

Os vários ensaios clínicos apresentados nesta monografia comprovam o benefício clínico da imunoterapia na melhoria da sobrevida e da qualidade de vida do doente oncológico e ainda a possibilidade de conjugar a imunoterapia com a quimioterapia ou a radioterapia, para uma maior eficácia e segurança terapêutica. ⁸

Atualmente é bastante claro que, na área oncológica, nenhuma monoterapia será bem-sucedida, a não ser numa fração reduzida de doentes. Apesar de não haver estudos a longo prazo do efeito da imunoterapia, a investigação clínica avançará no sentido de aprimorar esta linha terapêutica, que representa um novo paradigma no tratamento do cancro. ¹⁹

Palavras-chave: imunoterapia, checkpoint imunitário, transferência celular adotiva, Sipuleucel-T

II. Abstract

Cancer is a generic term for a vast number of diseases that are characterized by the abnormal growth of cells through their natural barriers which can invade the surrounding tissues, including other organs of the body. ¹

Responses of the immune system are regulated by a very specific set of cellular receptors that give a protective immunity against cancer cells, which is essential for controlling the gradual tumor growth, and it is called immunosurveillance. However, tumors have escape mechanisms that lead to blockage of the immune response and uncontrolled cell growth. ^{3, 10, 13}

Despite the advances in chemotherapy and radiotherapy, the cancer area continues to evolve as there are still high mortalities and morbidities. Thus, immunotherapy appears, which aim to activate the immune system and restore the anti-tumor responses that have been blocked by the cancer cells. Immunotherapy is composed of molecules that inhibit immune checkpoints, by vaccines that help boost the action of the immune system and by adoptive cell transfer techniques that enable cells with the ability to destroy tumor cells to be developed. ^{17, 38}

The several clinical trials used in this monograph demonstrate the clinical benefit of immunotherapy in improving the life and quality of life of the cancer patient and also the possibility of combining immunotherapy with chemotherapy or radiotherapy for greater efficacy and therapeutic safety. ⁸

It is now quite clear that, in the oncology area, monotherapy won't be successful, except in a reduced fraction of patients. Although there are no long-term clinical trials of the effects of immunotherapy, clinical investigation will progress with the aim to improve this therapy, which represents a new paradigm in the treatment of cancer. ¹⁹

Keywords: immunotherapy, immune checkpoints, adoptive cell therapy, Sipuleucel-T

III. Agradecimentos

Ao longo destes cinco anos foram muitas as pessoas que me acompanharam ao longo deste processo e que, de alguma forma, tornaram possível a conclusão do meu Mestrado.

Ao meu orientador, Professor Doutor João Rocha, agradeço o seu profundo apoio e ajuda, e todas as suas críticas e dicas que me ajudaram a realizar esta monografia.

À minha mãe, pelo exemplo que é para mim e por tudo o que fez por mim até hoje. O meu eterno obrigada por teres acreditado sempre em mim.

À minha irmã, irmão e amigos agradeço por terem estado sempre ao meu lado e por me terem ajudado até ao fim.

Por último, agradeço à Débora Filipe, por ser quem é, por toda a ajuda, apoio e por me ter encorajado a lutar pelos meus objetivos.

Sem eles a realização desta monografia não teria sido a mesma.

Obrigada do fundo do meu coração.

Índice geral

IV. Índice de Figuras	7
V. Índice de Tabelas	8
VI. Lista de Abreviaturas	9
1 Introdução.....	11
2 Objetivos	13
3 Materiais e métodos	14
4 Papel do sistema imunitário no cancro.....	15
4.1 O processo de crescimento e desenvolvimento tumoral	18
4.2 Constituição do Sistema Imunitário	21
5 As Linhas terapêuticas aplicadas ao doente oncológico	25
5.1 Linhas terapêuticas atuais.....	26
5.2 Imunoterapia no doente oncológico	28
5.2.1 Bloqueadores dos checkpoints imunitários	30
5.2.1.1 Atezolizumab	32
5.2.1.2 Avelumab	33
5.2.1.3 Durvalumab	33
5.2.1.3 Elotuzumab.....	33
5.2.1.4 Ipilimumab	34
5.2.1.5 Nivolumab.....	35
5.2.1.6 Pembrolizumab.....	35
5.2.2 Transferência celular adotiva (TCA).....	36
5.2.3 Vacinas	39
5.2.3.3 Sipuleucel-T	40
6 Resultados	41
7 Discussão.....	47
8 Conclusão	49
VII Referências Bibliográficas	51
VIII Anexos.....	58

IV. Índice de Figuras

Figura 1: Processo de immunoediting no cancro	17
Figura 2: Ciclo de imunidade tumoral	18
Figura 3: Representação esquemática da via de ativação JAK-STAT	19
Figura 4: As células do sistema imunitário inato no microambiente tumoral	22
Figura 5: Resumo das vias de ação dos checkpoints imunitários do sistema imunitário inato e adquirido	30
Figura 6: Mecanismo de bloqueio dos checkpoints imunitários para estimular a resposta dos linfócitos T	31
Figura 7: Mecanismo de ação dos inibidores do PD-1 e do PD-L1	32
Figura 8: Mecanismo de ação do Elotuzumab	34
Figura 9: Mecanismo de ação do Ipilimumab	35
Figura 10: Esquema geral do processo de transferência adotiva de células com TILs autólogos	36
Figura 11: Obstáculos na imunidade anti-tumoral contra malignidades dos linfócitos B e o papel da construção de CAR como solução desses problemas (A); Representação esquemática de um CAR (B)	37
Figura 12: Linhas direcionais de desenvolvimento da próxima geração de linfócitos T geneticamente modificados com CAR	38
Figura 13: Modo de ação de uma vacina terapêutica direcionada para o cancro	39
Figura 14: Resultados do ensaio clínico do Avelumab (adaptado)	41
Figura 15: Eficácia clínica após a infusão com linfócitos T KTE-C19	44
Figura 16: Sobrevida global (meses) dos doentes no ensaio clínico da Sipuleucel-T .	45
Figura 17: O benefício clínico da imunoterapia depende da resposta imunitária dos linfócitos T CD8 ⁺ e dos mecanismos de resistência tumoral	49
Figura 18: Potenciais formas de tratamento e combinação de terapêuticas em tumores imunogénicos e em tumores não imunogénicos	50

V. Índice de Tabelas

Tabela 1: Ciclo de Imunidade Tumoral: Exemplos de reguladores positivos e negativos em cada etapa	58
Tabela 2: Resumo dos mecanismos imunitários de fuga, as suas consequências e possíveis soluções clínicas	59
Tabela 3: Ensaios clínicos em imunoterapia na área da transferência celular adotiva utilizando linfócitos T (a decorrer atualmente)	60
Tabela 4: Plataformas de vacinas multivalentes em desenvolvimento clínico	60
Tabela 5: Resultados do ensaio clínico do Durvalumab	61
Tabela 6: Resultados do ensaio clínico KEYNOTE-041	61
Tabela 7: Endpoints dos vários estudos clínicos de fase III realizados com doentes com carcinoma das células renais, no qual se inclui o CheckMate-025 que comprova o benefício clínico do nivolumab em relação às outras opções terapêuticas	62
Tabela 8: Resultados do ensaio de fase III da Sipuleucel-T	62

VI. Lista de Abreviaturas

- **ADCC** – *Antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity*, Citotoxicidade mediada por anticorpos dependentes de células
- **APCs**- *Antigen-presenting cells*, Células Apresentadoras de Antígenos
- **ATC** – *Adoptive T cell*, Linfócito T adotivo

- **Bcl-2**- *B-cell Lymphoma 2*, recetor 2 dos linfócitos B associado a linfomas

- **CAR**- *Chimeric Antigen Receptor*, Recetor do Antígeno Quimérico
- **CD** - *Cluster of Differentiation*, *cluster* de diferenciação
- **CPCnP** – Cancro do Pulmão de células não-pequenas
- **CSF** – *Colony-stimulating factor*, fator estimulante de colónias
- **CTLA-4** - *Cytotoxic T-Lymphocyte Antigen 4*, Antígeno 4 dos linfócitos T citotóxicos
- **CTLs**- *Cytotoxic T-Lymphocyte Antigen-4*, Linfócitos T Citotóxicos

- **DC** – *Dendritic cells*, células dendríticas

- **EMA** – *European Medicines Agency*, Agência Europeia do Medicamento

- **FDA** – *Food and Drug Administration*, Administração do Medicamento e da Alimentação dos Estados Unidos
- **Foxo-3** - Fator de transcrição *Forkhead box O3*

- **GM-CSF**- *Granulocyte-macrophage Colony-stimulating Factor*, Fator Estimulante de Colónias de Granulócitos e Macrófagos

- **IDO** – *Indoleamine 2,3-dioxygenase*, Indolamina 2,3-dioxigenase
- **IFN** – *Interferon*, interferão
- **IL** – *Interleucin*, Interleucina

- **LAK** - *Lymphocyte-activated killer*, linfócito ativador da morte celular

- **MHC** - *Major Histocompatibility Complex*, Complexo Major de Histocompatibilidade

- **MM** – Melanoma Metastático
- **NK** - *Natural Killers*

- **ORR** – *Objective Response Rate*, Taxa de resposta objetiva

- **PAP** – *Prostatic Acid Phosphatase*, fosfatase ácida prostática
- **PD-1**- *Death-ligand 1*, Recetor da Morte Celular Programada-1
- **PD-L1**- *Programmed Death-ligand 1*, Ligando-1 do Recetor da Morte Celular Programada

- **RAM** – Reação Adversa ao Medicamento
- **RECIST v1.1** – *Response Evaluation Criteria in Solid Tumors, version 1.1*, Critérios de avaliação de resposta a tumores sólidos, versão 1.1

- **SG** – Sobrevivência Global
- **SLAM** – *Signaling lymphocytic activation molecule*, Molécula de ativação da sinalização dos linfócitos

- **TAA** – *Tumour-associated antigens*, antígeno associado ao tumor
- **TALENs** - *Transcription activator-like effector nucleases*, nucleases efectoras ativadoras da transcrição
- **TAMs** - *Tumor-associated Macrophages*, Macrófagos Associados ao Tumor
- **TCA** – Transferência celular adotiva
- **TCR** – *T-cell receptor*, Recetor dos linfócitos T
- **TGF** – *Transforming Growth Factor*, Fator de Crescimento Transformacional
- **TILs** - *Tumor-infiltrating Lymphocytes*, Linfócitos Infiltrantes no Tumor
- **TLR** – *Toll-like receptor*
- **TNF- α** - *Tumor Necrosis Factor- α* , Fator de Necrose Tumoral- α
- **TSA** – *Tumour-specific antigens*, antígenos tumorais específicos

- **VEGF** – *Vascular endothelial growth factor*, Fator de crescimento vascular endotelial

1 Introdução

O cancro é um termo genérico utilizado para um vasto número de doenças e que é caracterizada pelo crescimento anormal de células através das suas barreiras naturais e que podem invadir os tecidos circundantes, inclusivamente outros órgãos do corpo. As doenças oncológicas são a segunda causa de morte a nível global, com 8,8 milhões de mortes contabilizadas em 2015, sendo o cancro do pulmão, próstata, colorretal, estômago e fígado os tipos de cancro mais prevalentes em homens e mama, colorretal, pulmão, cérvix e estômago os cancros mais prevalentes nas mulheres. ¹

O genoma das células de um organismo sofre constantemente alterações que, na maior parte das vezes, são reparadas ou no qual há a promoção da destruição destas células. No entanto, as células cancerígenas possuem características de malignidade que lhes conferem autoimunidade contra a ação do sistema imunitário. ²

As respostas imunitárias são reguladas por um conjunto muito específico de *checkpoints* celulares que lhes permitem obter uma imunidade protetora e eficaz contra as células cancerígenas através dos linfócitos T. Os tumores possuem inibidores de certos *checkpoints* celulares que levam à erradicação imunitária e ao crescimento celular descontrolado. ³

As células malignas exploram vários mecanismos de fuga contra o sistema imunitário. Primeiro, estas células possuem um microambiente imunossupressor através da secreção de citocinas pró-inflamatórias que recrutam linfócitos T reguladores e células supressoras da linhagem mielóide. Segundo, estas células possuem alterações genéticas e epigenéticas que lhes dão um conjunto de neoantígenos, impedindo o sistema imunitário de diferenciar as células normais das células tumorais. Terceiro, os tumores diminuem a resposta imunitária por diminuição da morte celular mediada por linfócitos T. ⁴

A imunoterapia é a mais recente linha terapêutica na área da oncologia com enormes benefícios a nível terapêutico que são conseguidos através de vários tipos de agentes como vacinas, linfócitos T adotivos e fármacos bloqueadores dos inibidores dos *checkpoints* imunitários como o antígeno 4 dos linfócitos T citotóxicos (CTLA-4), o *Programmed Death-Ligand 1* (PD-L1), o *Programmed Death 1* (PD-1) e a molécula de ativação da sinalização dos linfócitos 7 (SLAMF7) contra certos tipos de cancro. ⁵

Nos Estados Unidos já foi aprovada a primeira vacina contra o cancro (Sipuleucel-T) e já foram aprovados os bloqueadores dos *checkpoints* imunitários CTLA-4

(Ipilimumab), PD-L1 (Atezolizumab, Avelumab e Durvalumab), PD-1 (Nivolumab e Pembrolizumab) e o SLAMF7 (Elotuzumab), assim como já se começaram a desenvolver os primeiros linfócitos T adotivos com um recetor do antigénio quimérico (CAR) contra o *cluster* de diferenciação 19 (CD19) para neoplasias dos linfócitos B CD19⁺.^{6,7}

O aumento dos regimes de imuno-oncologia utilizados não só em ensaios clínicos, como em terapêuticas *standard* nos hospitais demonstram que a imunoterapia revela ser o avanço científico mais relevante na oncologia e a terapêutica-chave no futuro do tratamento oncológico.⁸

2 Objetivos

As linhas terapêuticas existentes para o doente oncológico, nomeadamente a quimioterapia e a radioterapia, focam-se essencialmente na identificação e destruição de células cancerígenas através de apoptose, necrose celular, autofagia e senescência. No entanto estas duas opções terapêuticas apresentam resistência tumoral e situações de recidiva em alguns tipos de cancros. Assim, a imunoterapia é a única linha terapêutica oncológica que usa o sistema imunitário como arma, conseguindo obter, simultaneamente, memória e especificidade de forma a desbloquear certos mecanismos de evasão tumoral, o que vai permitir a ativação e o reforço da ação do sistema imunitário contra o tumor.

Deste modo torna-se importante descobrir quais são as reais potencialidades e aplicações terapêuticas da imunoterapia como nova forma de tratamento contra os vários tipos de cancro, uma vez que esta tem começado a ser utilizada nos doentes oncológicos, mas ainda com uma pequena expressão, uma vez que muitos destes medicamentos ainda estão a ser avaliados em ensaios clínicos. Outro aspeto que também é importante avaliar é a possibilidade de, no futuro, se poder fazer uma conjugação mútua entre esta nova linha terapêutica, a imunoterapia, com as outras existentes, de modo a potenciar a efetividade do tratamento e aumentar o tempo de sobrevida e a qualidade de vida do doente oncológico.

Assim todo o esforço desta monografia vai no sentido de dar a conhecer e explicitar todos os processos acerca da imunoterapia e da importância desta no futuro do tratamento do doente oncológico.

3 Materiais e métodos

Para a realização e construção desta monografia foi efetuada, em primeiro lugar, uma pesquisa de artigos científicos em bases de dados online, sobretudo no Pubmed e Medscape, utilizando as seguintes palavras-chave “cancer immunotherapy”, “checkpoint inibitor”, “CAR T cell”, “cancer vaccine” e cruzando as mesmas com os seguintes termos: “cancer”; “inflammation”, “PD-1/PD-L1”, “CTLA-4”, “CAR”, “imune checkpoint”, “immunotherapy” e “cancer therapy”.

Todos os artigos selecionados, tanto de revisão como ensaios clínicos, encontravam-se na língua inglesa e foram publicados nos últimos 10 anos, tendo excluído os mais antigos. Os dados sobre o cancro presentes no *Health Global Observatory* da Organização Mundial de Saúde, assim como as informações presentes nos Resumos das Características dos Medicamentos dos vários bloqueadores de *checkpoints* imunitários presentes no mercado foram também uma mais-valia na elaboração desta monografia.

Relativamente às figuras e tabelas presentes nesta monografia, estas foram encontradas através da base de dados Pubmed, em vários artigos científicos que foram utilizados na mesma.

Após a pesquisa nas fontes de informação utilizadas e através de uma leitura pormenorizada, recolhi e selecionei os artigos científicos relevantes para o tema da monografia, tendo posteriormente esquematizado os tópicos principais da estrutura da mesma e feito um planeamento do trabalho que permitiu utilizar as ideias-chave nos diversos capítulos no qual esta está dividida e que resultou no texto que é apresentado de seguida.

4 Papel do sistema imunitário no cancro

O processo do cancro é caracterizado pela acumulação de um conjunto variável de alterações genéticas e pela alteração e perda de processos de regulação do crescimento celular normal.⁹

O cancro pode desenvolver-se devido à influência de carcinogénios, como o melanoma através da radiação ultravioleta e cancros relacionados com o tabaco que incluem o cancro do pulmão, da cabeça, do pescoço e da bexiga. Contudo, o seu desenvolvimento tem, em muitas outras situações, origem na expressão de neoantigénios, antigénios de diferenciação ou em antigénios tumorais de teste, que podem levar à apresentação de péptidos que se ligam a moléculas do Complexo Major de Histocompatibilidade (MHC) da classe I presentes na superfície das células tumorais, que, por esta razão, se distinguem das células normais do organismo. Estes péptidos são produzidos pelas próprias células cancerígenas e formam complexos tumorais de ligação péptido-MHC classe I específicos que são reconhecidos pelos linfócitos CD8⁺ e outras células do sistema imunitário e que desencadeiam uma resposta imunitária, mas que nunca é suficientemente forte para conferir uma imunidade protetora para ser a base da terapêutica.^{10,11}

Em 1863, o médico e patologista polaco Rudolf Virchow observou pela primeira vez a presença de leucócitos no estroma do tecido neoplásico e atribuiu um papel ao sistema imunitário no processo de crescimento e desenvolvimento do cancro. Mais tarde, Bissel *et al* formaram o paradigma moderno em relação ao papel do microambiente tumoral e desde então surgiu muito interesse no estudo do papel da inflamação no cancro. Assim, em 1990 foram realizados vários estudos neste âmbito com infiltrados inflamatórios provenientes de cancros da mama e Aaltomaa *et al* confirmaram que a presença de linfócitos infiltrados se correlacionava positivamente com o *status* do nódulo linfático, com o diâmetro do tumor e com as variáveis histomorfológicas. Também noutro estudo realizado pelo grupo de Adrian Harris acerca do cancro da mama foi possível demonstrar que há uma correlação positiva entre o processo de angiogénese e a presença de macrófagos associados ao tumor (TAM) onde existem tumores altamente vascularizados e onde a densidade dos vasos que irrigam o tumor é um fator de prognóstico importante para avaliar as taxas das recaídas e da sobrevivência global (SG).^{12,13}

Deste modo, um tumor pode apresentar dois fenótipos diferentes, em que no primeiro existe um microambiente tumoral inflamado provocado por linfócitos T e quimiocinas

que são responsáveis pela mediação do recrutamento de linfócitos T, de marcadores de ativação de células apresentadoras de antígenos (APC), em particular das células dendríticas (DC), e da sinalização do interferão (IFN) do tipo I, que desencadeia o processo de inflamação e no segundo fenótipo não existe este ambiente de inflamação.¹⁰

Apesar das funções de regulação imunitária positiva e negativa serem atribuídas a este conjunto de populações celulares, é plausível admitir que as células do sistema imunitário inato contribuem para o controlo do desenvolvimento e crescimento tumoral, seja direta ou indiretamente, através da ativação das DC ou da produção de citocinas que suportam a diferenciação dos linfócitos T. Este processo de *imunovigilância* é essencial para controlar o desenvolvimento gradual dos tumores, no qual as células cancerígenas são constantemente identificadas e erradicadas pelo sistema imunitário do indivíduo, mesmo antes de ocorrerem quaisquer tipos de manifestações físicas.^{10, 13}

Para que haja uma *imunovigilância* efetiva é necessária a expressão de antígenos tumorais específicos (TSAs) que apenas sejam expressos nas células tumorais e que sejam codificados por genes mutantes e a expressão de antígenos associados a tumores (TAAs), partilhados por células normais e células tumorais que sejam capazes de estimular a expansão de linfócitos T. Os estudos clínicos demonstram a existência de resposta do melanoma e de outros cancros como o cancro do pulmão e o cancro da bexiga a uma variedade de técnicas de imunoterapia, sugerindo que os linfócitos infiltrantes no tumor (TIL) possam atingir TSAs específicos.¹³

Os linfócitos, no qual se incluem os linfócitos T regulatórios que co-expressam o CD4, CD25 e o fator de transcrição *Foxp3* e os linfócitos T de memória que expressam o CD4 ou o CD8, desempenham um papel crítico no processo de processo de *immunoediting*, de forma natural e terapêutica. O *immunoediting* corresponde ao processo dinâmico que não envolve apenas a prevenção tumoral, mas também redefine a imunogenicidade dos tumores em desenvolvimento. Este processo é constituído por três etapas: a eliminação, o equilíbrio e a fuga, como se observa na figura 1.¹³

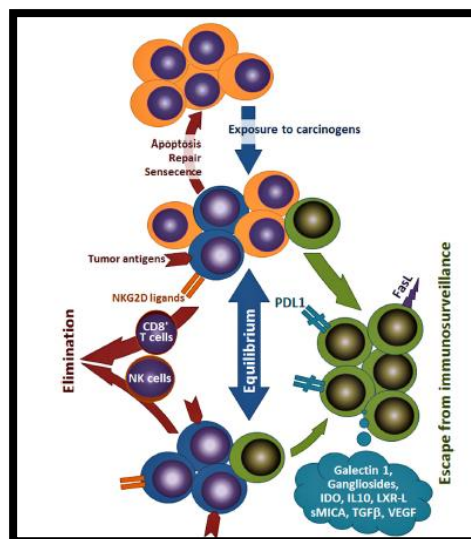


Figura 1: Processo de *immunoediting* no cancro ¹³

Nos casos em que o cancro é totalmente destruído, a eliminação representa o *endpoint* do *immunoediting*. Contudo, se as células tumorais não forem totalmente eliminadas, estas entram num estado de equilíbrio no qual o sistema imunitário controla o crescimento tumoral e as células cancerígenas podem entrar num estado estacionário durante vários anos, tal como é demonstrado nos estudos experimentais e como é sugerido em estudos com base em doentes transplantados. ^{13,14}

Um conjunto de doentes com alguns tipos de tumores sólidos parecem ter uma infiltração espontânea de linfócitos T associada a um prognóstico de valor positivo, como é o caso do cancro da mama, do carcinoma renal, do melanoma, do cancro do ovário e dos tumores do estroma gastrointestinal. No caso do MM, existe evidência científica em vários estudos pequenos que os linfócitos T CD8⁺ específicos para os antígenos definidos para o melanoma podem ser identificados no microambiente tumoral, apenas com base na análise do tetrâmero péptido-MHC contudo a análise funcional direta *ex vivo* revelou que esses linfócitos T apresentam uma produção e proliferação de citocinas atenuada. Assim a estimulação e a expansão mediada de citocinas a partir dos linfócitos T pode restaurar as suas propriedades funcionais, sugerindo que a maior componente desta disfunção é reversível. ¹⁵

4.1 O processo de crescimento e desenvolvimento tumoral

Para que uma resposta imunitária anti-tumoral conduza à morte efetiva de células cancerígenas é necessário que ocorram um conjunto de etapas consecutivas, que se designam por Ciclo de Imunidade Tumoral, como é possível observar na figura 2. ¹¹

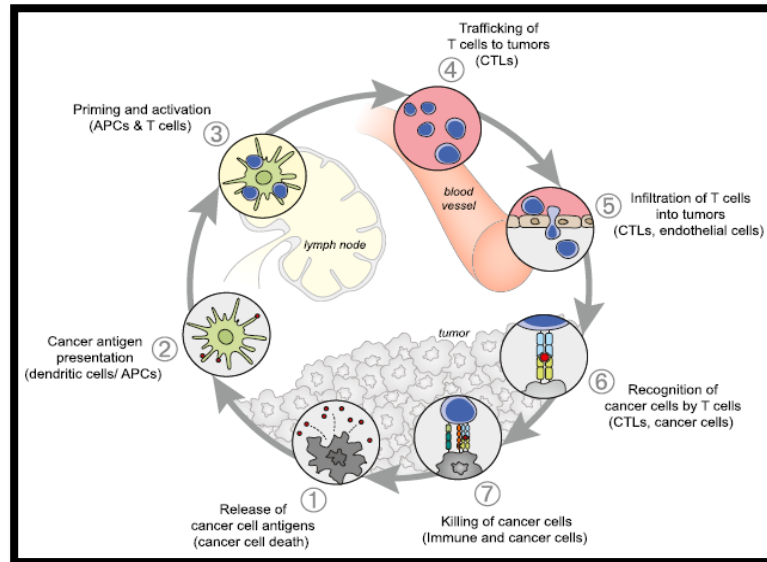


Figura 2: Ciclo de imunidade tumoral ¹¹

No primeiro passo, os neoantígenos criados por oncogenes são libertados e capturados por DC para ocorrer o seu processamento. Para que nesta etapa seja produzida uma resposta anticancerígena através dos linfócitos T, é necessário que haja sinais imunogênicos, como citocinas e fatores pró-inflamatórios libertados por células tumorais, que especifiquem a imunidade de forma a que seja reduzida a tolerância periférica aos antígenos tumorais e que são responsáveis pelo processo de inflamação em alguns tipos de cancro. No segundo passo, as DC apresentam os antígenos capturados às moléculas do MHC I e MHC II presentes nos linfócitos T, o que corresponde no terceiro passo à ativação de respostas por parte dos linfócitos T efetores contra os antígenos específicos de tumores, que são vistos como estranhos ao organismo ou com tolerância central incompleta. É nesta fase que é determinada a natureza da resposta imunitária, existindo um balanço crítico entre os linfócitos T efetores e os linfócitos T reguladores que é a chave para um final positivo. No quarto e quinto passos, os linfócitos T efetores que foram ativados circulam e, por conseguinte, infiltram-se no leito tumoral, de forma a reconhecer as células tumorais. O sexto passo corresponde à ligação entre os vários recetores dos linfócitos T (TCR) ligados ao MHC I dos linfócitos T efetores e os antígenos das células

O desenvolvimento de um ambiente tumoral imunossupressor é conseguido através da expressão de citocinas como o fator de crescimento vascular endotelial (VEGF), a interleucina 10 (IL-10) ou o fator de crescimento transformacional β (TGF β), da expressão de moléculas imunorregulatórias como o IDO, as moléculas do *checkpoint* imunitário que fazem parte da família B7 ou ainda através da expressão do CD73 ou de recetores de adenosina, que limitam a imunidade anti-tumoral dos linfócitos T. ^{13,14, 15,}

Cada etapa do Ciclo de Imunidade Tumoral requer a coordenação de vários fatores estimulantes e inibitórios, como se observa na figura 2. As citocinas como o fator de necrose tumoral- α (TNF- α) e as interleucinas como a IL-1 vão ser responsáveis por estimular a resposta imunitária ativa durante a apresentação dos antígenos tumorais às células do sistema imunitário. Os *checkpoints* imunitários como o CTLA-4 podem inibir o desenvolvimento de uma resposta imunitária ativa ao agir primeiramente no desenvolvimento e proliferação dos linfócitos T, que ocorre na terceira etapa. Estes tipos de fatores distinguem-se dos *checkpoints* imunitários do tipo do PD-L1, uma vez que os últimos têm uma função de inibição que começa por atuar ao nível da modulação das respostas imunitárias ativas no leito tumoral, que ocorre na sétima etapa. ^{11,14}

4.2 Constituição do Sistema Imunitário

Para além dos linfócitos T que expressam TCR do tipo $\alpha\beta$ convencionais, os linfócitos *Natural Killers* (NK), os linfócitos T $\gamma\delta$ e os linfócitos T NK também estão presentes no microambiente tumoral em vários cenários do cancro. ^{11,15}

Os recetores relacionados com os SLAMs são expressos numa enorme variedade de células imunitárias que incluem os linfócitos NK, os monócitos, os macrófagos, os mastócitos, os granulócitos, os linfócitos T e as DC. A maioria dos recetores SLAM intervêm em interações homotípicas com a mesma proteína na outra célula, à exceção dos recetores 2B4 e o CD48, que interagem um com o outro. Os recetores SLAM desempenham um papel crucial na morte de células hematopoiéticas específicas mediadas por linfócitos NK, incluindo células hematopoiéticas normais que são deficientes no MHC e células de linfoma, contudo estes recetores são dispensáveis no reconhecimento de células tumorais não hematopoiéticas. A família destes recetores inclui o recetor SLAM (CD150), o recetor 2B4 (CD244), o recetor NTB-A (Ly108), o recetor CD48, o recetor CD84, o recetor Ly9 (CD229) e o recetor CRACC (CD319). ¹⁵

Os linfócitos NK são provavelmente os mediadores mais estudados da *imunovigilância* inata do cancro. A caracterização original dos linfócitos NK ressalta a potente capacidade de destruir células tumorais *in vitro* sem pré-sensibilização e a evidência científica de vários estudos sugere o potencial dos linfócitos NK para a mediação de respostas anti-tumorais. ¹⁵

Também existe evidência científica em vários estudos que os linfócitos T NK contribuem para a *imunovigilância* no controlo tumoral. Estes podem ser classificados em dois grandes tipos funcionais, sendo que os linfócitos T NK II têm TCR mais variáveis e reconhecem diferentes antígenos a partir dos que são reconhecidos pelos linfócitos T NK I. Os linfócitos T NK II têm sido descritos como células com funções imunorregulatórias que contribuem para o controlo do crescimento celular tumoral. ^{10,14}

Os linfócitos T NK I podem ser ativados diretamente através do reconhecimento de antígenos constituídos por glicolípidos como o CD1d. A ativação indireta destes linfócitos foi descrita como sendo mediada por TAMs ou DCs produtoras de IL-12 e que expressam auto-antígenos apresentadores do CD1d. As citocinas ativadas, como é o caso do IFN- α/β , da IL-15, da IL-18 e da IL-21 que são produzidas pelas células tumorais ou

por células imunitárias estimuladas pelo tumor também conduzem à ativação dos linfócitos NK.^{10, 15}

Enquanto que os ligandos ainda permanecem com uma caracterização incompleta, os antígenos lipídicos que estão presentes no recetor CD1d podem estar sobre-expressos nas células cancerígenas e conduzir a uma ligação por parte do TCR em algumas circunstâncias. É possível compreender melhor o mecanismo de reconhecimento de uma célula tumoral por parte das várias células que constituem o sistema imunitário inato na figura 4 abaixo apresentada.¹⁰

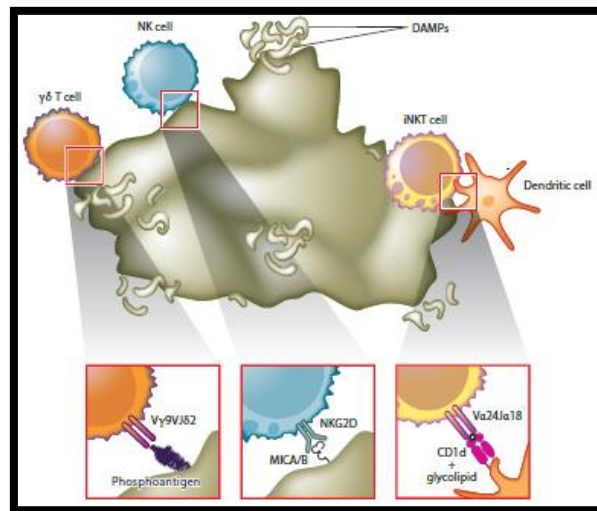


Figura 4: As células do sistema imunitário inato no microambiente tumoral¹⁰

Também os linfócitos T $\gamma\delta$ foram descritos como células com respostas imunitárias anti-tumorais. Estas células, quando se encontram ativas, expressam à sua superfície grânulos citotóxicos que contêm perforina e granzimas, com a capacidade de serem citolíticas. Para além disto, também podem produzir citocinas efetoras como o IFN- γ e o TNF- α e podem expressar recetores como o ligando Fas e o TRAIL. Outro dado importante é o facto da expressão do recetor CD16 poder facilitar o processo de citotoxicidade mediada por anticorpos dependentes de células (ADCC).¹⁰

Os linfócitos T convencionais expressam um grupo fixo de recetores codificados pela linha germinativa. Estes recetores apresentam um antígeno rearranjado de um recetor que tem o mesmo conjunto de especificidades que são observadas nos antígenos tumorais, o que lhes atribui a capacidade de fazer o reconhecimento das células tumorais.^{10,14}

Após a presença de linfócitos T efetores no local onde se encontra o tumor é necessária uma captação inicial de antígenos e apresentação de APCs, em particular das células dendríticas e dos TAMs. O processo inflamatório associado ao microambiente tumoral leva à expressão de quimiocinas que são responsáveis pela mediação dos marcadores que ativam as DC e de citocinas que mediam a ativação de TAM1, que são anti-tumorais ou de TAM2, que são pró-tumorais. ^{10, 13}

Habitualmente as DC são divididas em duas categorias principais, as DC convencionais e as DC plasmacitoides, que são DC especializadas na secreção de elevados níveis de IFN I através da sua estimulação via *toll-like receptors* (TLRs), que contribui com o seu efeito anti-tumoral, tendo um efeito positivo no controlo do crescimento e desenvolvimento tumoral. ¹⁰

De uma forma geral, as DC desempenham um papel extremamente importante na indução de respostas anti-tumorais devido à sua capacidade de apresentação de antígenos aos linfócitos T CD4⁺ e CD8⁺ e ativação dos linfócitos NK, potenciando a resposta imunitária citotóxica contra as células tumorais. No entanto, vários estudos sugerem que quando as DC plasmacitoides estão presentes no microambiente tumoral, estas células apresentam um fenótipo tipicamente tolerogénico, com propriedades imunorregulatórias negativas, que é induzido por fatores como o VEGF, o TGF- β e a indolamina-3,2-dioxigenase e por citocinas como a IL-8 e a IL-10, que são produzidas por células tumorais ou por TAMs. Estas DC não só têm uma baixa capacidade de estimular o crescimento e expansão de linfócitos T, como ainda suprimem a ação dos mesmos. Para além disto, também são produtoras de fatores pró-angiogénicos que reforçam a migração de células endoteliais, promovendo ativamente o crescimento tumoral. ^{13, 15}

Além disto, o fator de transcrição *Forkhead box O3* (*Foxo3*) pode intervir na aquisição deste fenótipo por parte das DCs plasmacitoides associadas ao tumor, pois o silenciamento deste fator pode restaurar de forma parcial as suas funções imunitárias estimuladoras em modelos tumorais de ratos. Desta forma, os dados sugerem que o próprio microambiente tumoral promove a expressão do fator de transcrição *Foxo3* em DCs plasmacitoides, levando à aquisição do fenótipo tolerogénico. ¹⁰

A presença de TAMs está geralmente associada a um mau prognóstico em doentes oncológicos. Os macrófagos e outras células mielóides são universalmente encontradas no microambiente de tumores sólidos e podem contribuir para a evasão imunitária. ^{13,14}

Os macrófagos podem apresentar dois fenótipos distintos e que são designados por macrófagos M1 e macrófagos M2. Os macrófagos M1 produzem citocinas como a IL-12^{alta} e a IL-10^{baixa}, que contribuem para o controlo tumoral. Para além disso, os macrófagos com este fenótipo são citotóxicos e estão tipicamente sob a influência dos fatores estimulantes de colónias de granulócitos e macrófagos (GM-CSF), do IFN- γ e dos agonistas dos TLR. Os macrófagos M2 são promotores do crescimento tumoral e são induzidos pela influência de células imunitárias como as DC e os linfócitos T reguladores e ainda por citocinas como a IL-4 e a IL-13 e não têm a citotoxicidade presente nos macrófagos do tipo M1. Os macrófagos M2 parecem contribuir para a supressão imunitária através da produção da IL-10 e do TFG- β , sendo indicadores de um mau prognóstico em alguns tipos de cancro. ^{10,13,14}

A infiltração de TAMs no microambiente tumoral parece ser mediada pelo fator estimulante de colónias 1 (CSF-1), pelo VEGF e pelas quimiocinas 133 e 134 uma vez que o CSF-1 pode ser libertado pelas células tumorais e pelas células do estroma, e em interação com o CSF-1R^{-/-} expresso na superfície de monócitos e de macrófagos leva à indução do recrutamento e diferenciação de TAMs, que por sua vez conduzem à transformação dos TAMs em macrófagos M2, que apresentam a expressão de PD-L1 de forma aumentada e que conseguem suprimir as respostas anti-tumorais por parte dos linfócitos T. ¹⁰

5 As Linhas terapêuticas aplicadas ao doente oncológico

Apesar dos avanços na área da quimioterapia, da radioterapia e da cirurgia, a área do cancro continua em constante evolução e esta doença ainda está associada a uma elevada mortalidade e morbidade.¹⁷

Devido à melhor compreensão dos processos que regulam a ação do sistema imunitário sobre o cancro foi possível descobrir moléculas que atuam como inibidores dos *checkpoints* imunitários e que modulam as respostas dos mesmos, assim como vacinas que ajudam a reforçar a ação do sistema imunitário e técnicas de transferência celular adotiva que permitem desenvolver células específicas que são necessárias para eliminar as células tumorais. Assim surge uma nova linha terapêutica, a imunoterapia, composta por estes grupos de agentes e que é a única linha terapêutica oncológica que usa o sistema imunitário como arma, conseguindo obter, simultaneamente, memória e especificidade de forma a desbloquear certos mecanismos de evasão tumoral. A imunoterapia tem o objetivo de preencher as lacunas terapêuticas criadas pela quimioterapia e pela radioterapia.³⁸

Em relação ao cancro ainda foram feitas descobertas recentes que criaram novos caminhos para a quimioterapia, para a radioterapia e para a cirurgia uma vez que foram encontradas, com frequência, mutações genéticas que promovem a resistência tumoral à quimioterapia e à radioterapia, a instabilidade genómica e a heterogeneidade tumoral pelo que estes dados podem levar à criação de terapêuticas que consigam combinar a quimioterapia, a radioterapia e cirurgia, com a imunoterapia, e que sejam clinicamente mais eficazes para o doente oncológico.²⁰

5.1 Linhas terapêuticas atuais

O químico alemão Paul Ehrlich (1854-1915) foi o fundador da “bala mágica” e da quimioterapia, que mais tarde, iria formar as bases da hematologia, da oncologia e da imunologia. Tal como o nome indica, a quimioterapia é reconhecida como o uso de agentes químicos no tratamento oncológico e é vastamente utilizada desde o início do século XX. Em 1960, a quimioterapia começa a ser utilizada com sucesso no tratamento de leucemia aguda e de linfoma dos linfócitos B em crianças e dá-se então a criação de uma nova especialidade médica associado ao cancro, a oncologia.¹⁷

Assim, a quimioterapia surge como a primeira forma de reduzir o número de células cancerígenas de forma a conduzir a uma cura efetiva da doença no qual se estabelece um raciocínio hipotético em que, um determinado fármaco, que esteja numa determinada concentração e que seja administrado por um determinado período de tempo irá provocar a morte de uma fração constante de células cancerígenas, independentemente do momento inicial de administração e do número absoluto de células cancerígenas. Contudo, a resposta tumoral face a um determinado agente quimioterápico depende de múltiplos fatores que vão para além da dosagem e da frequência de administração como é o caso da histologia tumoral, da taxa de crescimento tumoral, da heterogeneidade tumoral e dos mecanismos de resistência tumoral, que estão intrinsecamente ligados à componente genética do doente. Para além destes fatores existem outros associados às respostas imunológicas face aos antígenos tumorais como é o caso do conteúdo em proteínas séricas e do comportamento das barreiras naturais (por exemplo a barreira hematoencefálica) face à distribuição da quimioterapia nos tecidos celulares normais e nos tecidos celulares cancerígenos. ^{17, 18}

A quimioterapia tem a capacidade de induzir elevadas taxas de cura em alguns tipos de tumores como é o caso do cancro do testículo e de alguns linfomas, no entanto, na maioria dos tumores sólidos, as respostas parciais à terapêutica são mais comuns que as respostas completas, que estão associadas a recaídas, com crescimento e desenvolvimento tumoral. ¹⁸

Após a descoberta da quimioterapia, também a radioterapia veio revolucionar a área do cancro uma vez que em 1895, Wilhelm Conrad Roentgen descobriu os raios X que começaram a ser utilizados na prática clínica em 1896, por Emil Grubbé, no tratamento do cancro. Assim nasce a radioterapia, que se torna numa potente arma contra as células cancerígenas, especialmente no tratamento de tumores sólidos localizados, devido à sua grande capacidade de provocar a morte celular e de interromper o ciclo celular, atuando

ao nível do crescimento e desenvolvimento tumoral. Para além destes, a radioterapia ainda apresenta outros mecanismos de letalidade como a catástrofe mitótica, a apoptose, a necrose, a autofagia e a senescência.^{19, 20}

Atualmente, a utilização da radioterapia ainda se justifica em casos de doentes oncológicos que já não apresentem sintomas associados à doença ou em casos de cancro com estadios avançados ou ainda em casos onde o cancro já esteja metastizado nos ossos, na espinal medula, no cérebro e/ou nas vísceras.²¹

A cirurgia é a terapêutica oncológica mais antiga, que remonta a milhares de anos. Esta técnica corresponde à remoção do tecido cancerígeno do interior do corpo do doente e que pode ter o objetivo curativo (parcial ou completo), paliativo, reconstrutivo, preventivo ou de auxílio a outro tratamento.^{22, 23}

A remoção cirúrgica de um cancro depende do tipo e do tamanho do cancro do doente, da localização do mesmo e da condição de saúde do doente oncológico. Assim, a cirurgia tem os melhores resultados em tumores sólidos que estão restringidos a uma área específica. E sendo um tratamento local não é aplicável em casos de leucemia e de linfomas ou em cancros disseminados pelo organismo do doente. Por essa razão são poucos os casos em que a cirurgia é utilizada como 1ª opção terapêutica.^{24,25}

5.2 Imunoterapia no doente oncológico

A área da imunoterapia corresponde a uma variedade de conceitos, que têm como objetivo ativar o sistema imunitário e restaurar as respostas anti-tumorais que foram bloqueadas pelas células cancerígenas. Assim, esta nova forma de tratamento do cancro passa pela indução do reconhecimento das células tumorais por parte das células do sistema imunitário e pela eliminação específica deste tipo de células através da via endógena, que envolvem mecanismos de defesa imunitária e que podem levar à estabilização e à remissão do cancro no doente oncológico. Desta forma, a imunoterapia refere-se à tentativa de desbloquear e estimular as respostas imunitárias naturais do sistema imunitário, de forma a eliminar as células tumorais no doente oncológico.²⁶

A imunoterapia teve a sua origem nos finais do século XIX quando o médico William B. Coley, “pai” da imunoterapia no cancro, notou que os seus doentes com cancro entraram em remissão após terem desenvolvido erisipelas. Este médico preparou misturas, vivas e inativadas, de *Streptococcus pyogenes* e de *Serratia marcescens* e injetou-as diretamente nos tumores, levando à remissão dos seus doentes com sarcoma, linfoma e cancro testicular. Já no século XX, em 1908, Albert Calmette e Camille Guérin começaram a desenvolver uma vacina contra a tuberculose, com bactérias vivas e atenuadas, designadas por Bacillus Calmette-Guérin ou BCG, que eram administradas em doentes com cancro da bexiga em estadio precoce, permitindo, em alguns casos, a erradicação da doença devido às suas propriedades anti-tumorais. A partir de 1969 começa a ser estudada nesse sentido em humanos com neoplasias como a leucemia linfoblástica aguda e o melanoma.^{26, 27}

Entretanto a investigação na oncologia tem avançado no sentido da imunoterapia que é investigada intensivamente e teve aprovações através de vários ensaios clínicos uma vez que nos últimos anos foi reconhecido pela primeira vez a existência do processo de imunossupressão induzido pelo tumor em doentes com melanoma, uma vez que este tipo de cancro é altamente resistente tanto à quimioterapia como à radioterapia.¹⁸

À semelhança do melanoma, o cancro colorretal, os linfomas e o sarcoma de Kaposi também estão associados à imunossupressão induzida pelo tumor. Nestes casos, a existência de um microambiente tumoral imunossupressor deve-se à elevada resistência das células tumorais que possuem mecanismos de fuga face à ação dos agentes quimioterápicos. Em relação ao cancro colorretal, este caracteriza-se pela existência de

pólipos ou adenomas no cólon, que correspondem a lesões inflamatórias crônicas e que fornecem um ambiente de imunossupressão mediada por células, onde existem fatores de crescimento que contribuem para o processo de angiogênese.¹⁸

Assim, a imunoterapia divide-se em vários subgrupos terapêuticos como é o caso de anticorpos específicos que bloqueiam certos *checkpoints* imunitários associados à superfície da célula tumoral e que permitem estimular a resposta imunitária dos linfócitos T citotóxicos. Outro subgrupo envolve a transferência adotiva celular (ATC), onde se vão colocar TILs no interior do tecido tumoral, onde crescem e desenvolvem-se num meio *ex vivo* e posteriormente são transferidos para o doente, em larga escala, de forma a acentuar a resposta anti-tumoral desencadeada por estas células do sistema imunitário. Finalmente existe outro subgrupo da imunoterapia que são as vacinas anti-tumorais que têm o objetivo de ativar os linfócitos T específicos para os antígenos tumorais.²⁸

5.2.1 Bloqueadores dos *checkpoints* imunitários

As células do sistema imunitário expressam vários *checkpoints*, ou seja, moléculas que precisam de ser ativadas ou inativadas para desencadear uma resposta imunitária e que, por essa razão, são responsáveis por regular as funções imunitárias dessas células. Vários *checkpoints* inibitórios, como os recetores dos TAM, os Siglecs, o CD47, são expressos por células do sistema imunitário inato, inibindo e limitando a sua atividade. Já os *checkpoints* da imunidade adquirida regulam as respostas imunitárias dos linfócitos T. Resumidamente, a figura 5 apresenta todas as vias de ação dos *checkpoints* associados à imunidade inata e à imunidade adquirida, mostrando também que alguns recetores têm vários sítios de ligação e formas de ação.³

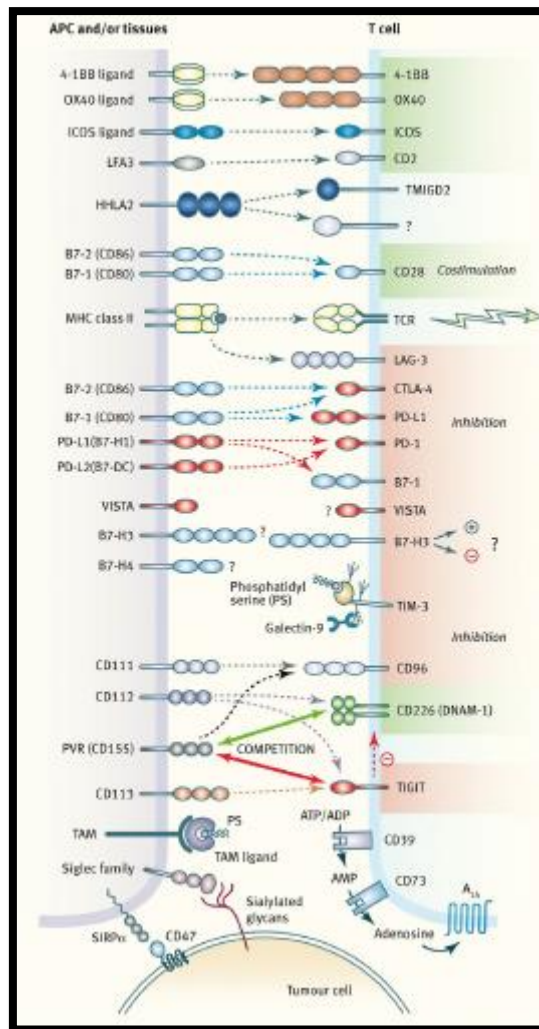


Figura 5: Resumo das vias de ação dos *checkpoints* imunitários do sistema imunitário inato e adquirido³

Uma das famílias de *checkpoints* mais conhecidos é a B7 que é constituída por, pelo menos, 10 recetores que são o B7.1 (CD80), B7.2 (CD86), B7-H1 (PD-L1), B7-DC (PD-L2), B7-H2 (ICOSL), B7-H3 (CD276), B7-H4 (B7S1), B7-H5 (VISTA), B7-H6 E B7-H7 (HHLA-2). O sinal que provém do recetor CD28, em conjunto com o sinal dos *checkpoints* CD80 e CD86, é responsável pela co-estimulação da ativação dos linfócitos T *naive*, juntamente com o reconhecimento de antígenios apresentados pelas APCs. ^{3,4}

Os bloqueadores dos checkpoints imunitários representam uma nova e eficaz alternativa para a gestão standard de cancros avançados. Assim, o processo de evasão imunitária é um marco no cancro e este processo pode ser revertido através de anticorpos monoclonais que bloqueiam os *checkpoints* imunitários e por conseguinte reforçam as respostas imunitárias anti-tumorais endógenas como é evidenciado pela utilização de anticorpos monoclonais que bloqueiam os checkpoints PD-1/PD-L1 e o CTLA-4, presente na figura 6. ^{29, 30}

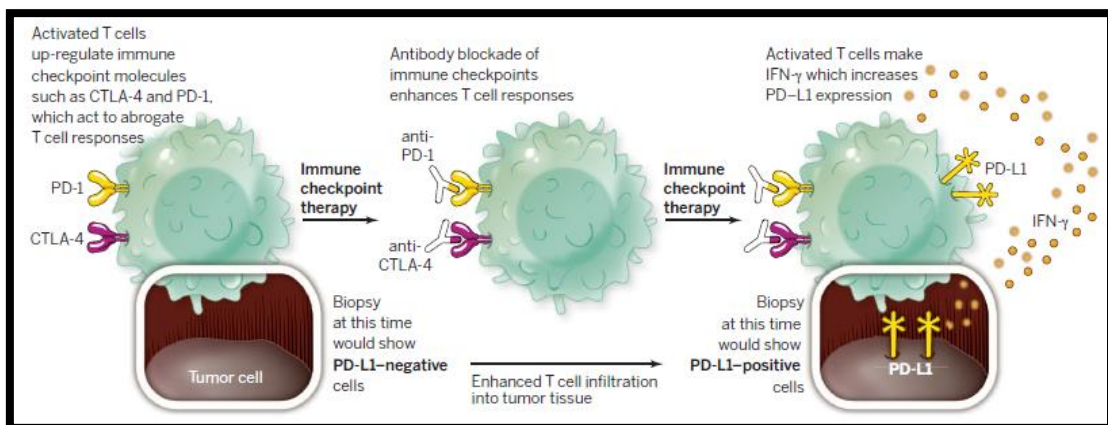


Figura 6: Mecanismo de bloqueio dos *checkpoints* imunitários para estimular a resposta dos linfócitos T ³⁰

O CTLA-4 é um regulador negativo das respostas imunitárias mediadas por linfócitos T e liga-se competitivamente ao CD80 e ao CD86 nas APCs, impedindo a sua ligação ao recetor CD28 presente nos linfócitos T. Como resultado, o sinal co-estimulatório necessário para ativar os linfócitos T induzido pelo ligando está bloqueado. Desta forma, o bloqueio da sinalização do CTLA-4 prolonga a ativação dos linfócitos T e a amplificação da imunidade mediada por linfócitos T, levando à ativação das células efetoras CD4⁺ e CD8⁺.³¹

Por sua vez, a interação do PD-1 presente em linfócitos T ativados com o respetivo ligando, PD-L1 e PD-L2, mantém a tolerância imunológica através da supressão dos

linfócitos T auto-reativos. Isto destaca a importância do bloqueio do mecanismo do PD-1 no impedimento da evasão tumoral imunológica, o que levou a um alargamento da aplicação da imunoterapia na área oncológica, com o desenvolvimento clínico de anticorpos e vacinas. A sua utilização já é aplicada, em primeira linha, em algumas malignidades como as hematológicas, respiratórias, renais, gastrointestinais, da pele, da cabeça e do pescoço, da mama, do útero e da próstata.^{32, 33}

O ligando PD-L1 liga-se ao recetor PD-1 e inibe a morte de células tumorais por parte dos linfócitos T. Desta forma, o bloqueio do PD-L1 ou do PD-1 permite que os linfócitos T desencadeiem a sua resposta imunitária e destruam as células tumorais, como se pode observar na figura 7 apresentada abaixo.^{26, 34}

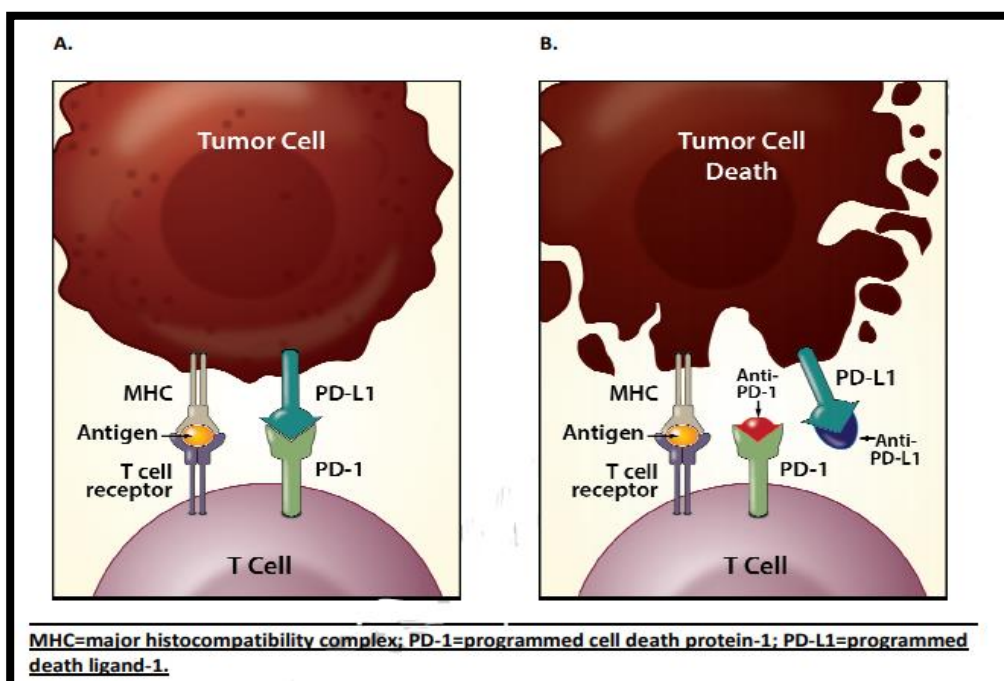


Figura 7: Mecanismo de ação dos inibidores do PD-1 e do PD-L1²⁶

5.2.1.1 Atezolizumab

O Atezolizumab, também conhecido por *Tecentriq*[®], é um anticorpo monoclonal humanizado IgG1 que é dirigido ao PD-L1. Em Outubro de 2016 foi aprovado pela *Food and Drug Administration* (FDA) para o tratamento de cancro da bexiga e do cancro do pulmão das células não pequenas (CPCnP).^{4,33, 35}

5.2.1.2 Avelumab

O Avelumab, também conhecido por *Bavencio*[®], é um anticorpo monoclonal humanizado IgG1k que é dirigido ao recetor PD-L1, e que também tem a capacidade de interagir através de ADCC, devido à sua região Fc que consegue ligar recetores cognatos em células imunitárias efectoras, induzindo a lise das células tumorais.^{36, 37}

Este fármaco foi aprovado em Março de 2017 pela FDA no tratamento de doentes com idade igual ou superior a 12 anos, com carcinoma metastático das células de Merkel, sendo o primeiro bloqueador a ser aprovado nesta indicação terapêutica. Em Dezembro de 2016 foi designado pela EMA como medicamento órfão no tratamento de cancro gástrico.^{38, 39}

5.2.1.3 Durvalumab

O Durvalumab, também designado por *Imfinzi*[®], é um anticorpo monoclonal humanizado IgG1 que é dirigido ao recetor PD-L1. Este anticorpo monoclonal foi aprovado em setembro de 2017 para o tratamento de CPCnP, a seguir ao tratamento com quimiorradiação com intenção curativa. Apesar de ainda não estar aprovado para tal, o durvalumab também apresenta resultados positivos no tratamento do cancro da bexiga.^{32, 40, 41}

5.2.1.3 Elotuzumab

O Elotuzumab, também designado por *Empliciti*[®], é um anticorpo monoclonal IgG1 que é dirigido ao recetor SLAMF7, como se observa na figura 7, abaixo apresentada. Também é referido como o subsítio 1 da glicoproteína celular de superfície CD2 e o SLAMF7 é uma glicoproteína que só aparece em células mielóides e em linfócitos NK anormais.^{42, 43}

Este anticorpo monoclonal é utilizado em combinação com a lenalidomida e a dexametasona no tratamento do mieloma múltiplo em doentes adultos que receberam pelo menos uma terapêutica prévia, no qual os seus mecanismos anti-tumorais incluem a interrupção da adesão da célula do mieloma múltiplo às células estromais da medula, de modo a aumentar a citotoxicidade dos linfócitos NK e a mediação da ADCC. A figura 8 apresenta o mecanismo de ação do Elotuzumab.^{33, 43}

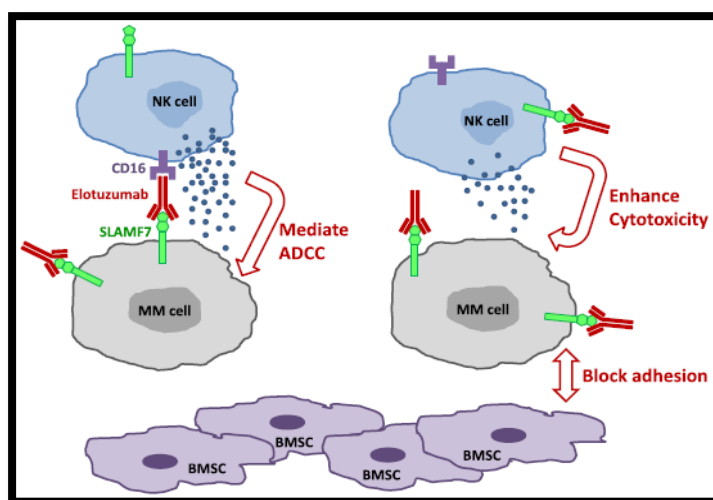


Figura 8: Mecanismo de ação do Elotuzumab ³³

5.2.1.4 Ipilimumab

O ipilimumab, também conhecido por *Yervoy*[®], é um anticorpo monoclonal IgG1B totalmente humanizado contra o CTLA-4, aprovado pela FDA e pela *European Medicines Agency* (EMA) para o tratamento de MM com base no benefício comprovado de sobrevivência. O ipilimumab foi o primeiro inibidor do *checkpoint* com aprovação da FDA e da EMA em 2011 para o MM, contudo atualmente já não é considerado terapêutica de 1ª linha, tendo sido substituído pelo pembrolizumab e pelo nivolumab, que apresentam uma maior taxa de resposta e melhores taxas de sobrevivência livre de progressão particularmente em doentes PD-L1 positivos, contudo com maiores taxas de efeitos adversos de grau 3-4. Este inibidor foi igualmente aprovado como adjuvante em doentes de alto risco com melanoma, estadio III. A figura 9 descreve o mecanismo de ação do ipilimumab. ^{4, 44, 45}

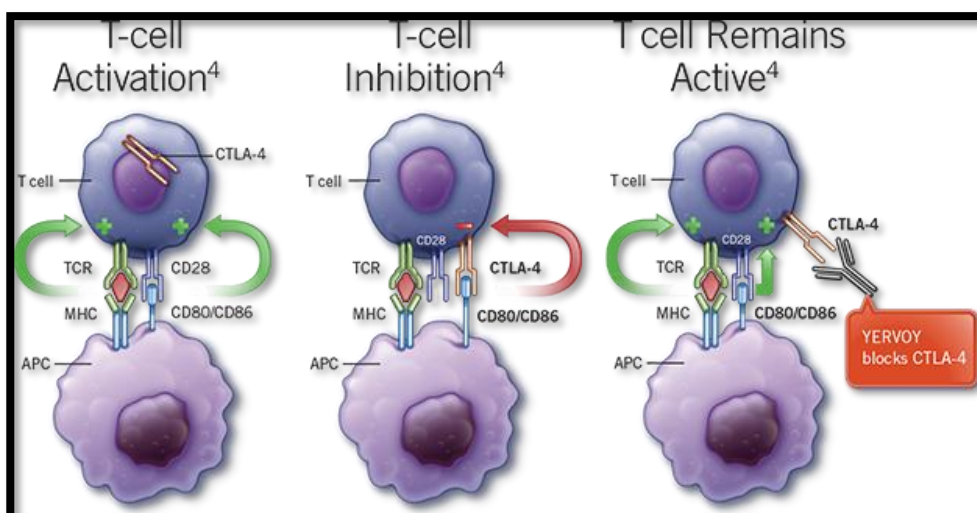


Figura 9: Mecanismo de ação do Ipilimumab ⁴⁵

5.2.1.5 Nivolumab

O nivolumab, também conhecido por *Opdivo*[®], é um anticorpo monoclonal humanizado IgG4 que atua como inibidor do *checkpoint* PD-1 e que foi aprovado pela FDA como 1^a linha terapêutica no MM e como 2^a linha terapêutica em doentes com carcinoma avançado das células renais que receberam terapia antiangiogénica prévia e em doentes com CPCnP de histologia escamosa, localmente avançado ou metastático, após quimioterapia prévia, em adultos. ^{46, 47}

5.2.1.6 Pembrolizumab

O pembrolizumab, também conhecido por *Keytruda*[®], é um anticorpo monoclonal humanizado IgG4 kappa seletivo que atua como inibidor do PD-1 e que foi aprovado pela FDA em doentes com CPCnP, MM, linfoma de Hodgkin clássico ou especificamente quando o tumor produz a proteína PD-L1 e se encontra metastizado ou não pode ser removido cirurgicamente. ^{48, 49, 50}

5.2.2 Transferência celular adotiva (TCA)

A imunoterapia através de TCA é uma forma personalizada de tratamento do cancro uma vez que envolve a administração de células imunitárias com atividade anti-tumoral direta no doente oncológico. A TCA utiliza linfócitos reativos ao tumor que provêm do próprio doente oncológico, o que permite obter regressões completas e duradouras em doentes com melanoma e cancros do tecido epitelial, como se observa na figura 10.⁵¹

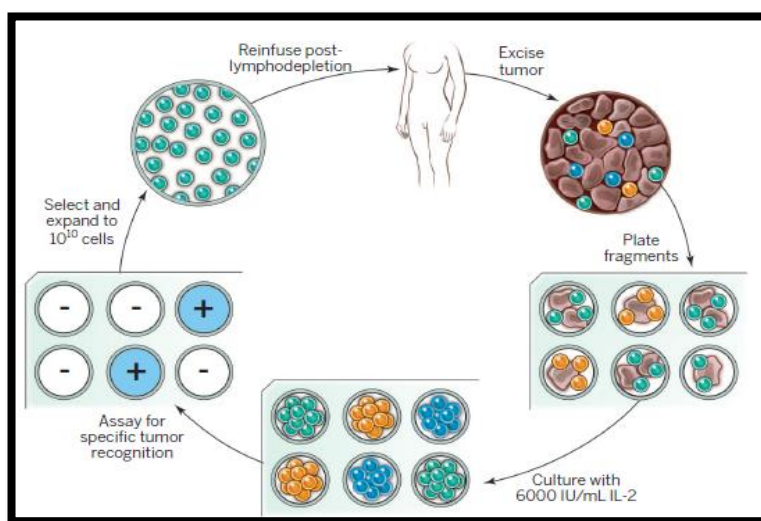


Figura 10: Esquema geral do processo de transferência adotiva de células com TILs autólogos⁵¹

A técnica designada por TCA foi descoberta pelo Dr. Steven Rosenberg e consiste na utilização de células imunitárias, TILs, juntamente com citocinas como as IL-2, que são posteriormente expostas a antígenos tumorais, criando uma enorme reatividade. Estes linfócitos ativadores da morte celular (LAKs) são reinfundidas no doente oncológico e possuem a capacidade de reconhecer os antígenos para as quais foram ativadas, levando à eliminação das células tumorais metastáticas. A tabela 3, em anexo, apresenta os ensaios clínicos com as TCA em estudo atualmente.^{49, 52}

A imunoterapia através da utilização de linfócitos T tem revelado bastante interesse. De acordo com o modelo proposto por Lafferty Cunningham, a ativação dos linfócitos T requer um primeiro sinal que provém da interação do complexo MHC/péptido antigénico com o TCR, que confere especificidade à resposta e um segundo sinal co-estimulatório providenciado pela família B7 e outras moléculas.³

No final dos anos 90 foram realizados vários estudos para identificar os vários TAAs que permitem distinguir as células cancerígenas das células saudáveis. Os TAAs podem

ser divididos em três grandes grupos: 1) antígenos sobre-expressos em tumores, mas que estão presentes no tecido saudável; 2) neo-antígenos que surgem como consequência de mutações somáticas presentes no tumor; 3) antígenos de linhas germinativas cancerígenas e que estão menos vulneráveis ao ataque dos linfócitos T. Os linfócitos T específicos para o tumor conseguem reconhecer estes três tipos de TAAs contudo existem processos que suprimem as suas respostas anti-tumorais, como é o caso de mecanismos intrínsecos dos linfócitos T (que incluem a perda de função e a expressão de *checkpoints* imunitários), a supressão intrínseca do tumor (do qual fazem parte a secreção de fatores supressores como o TGF- β e a expressão de ligandos de *checkpoints*) e o recrutamento de células supressoras (como os linfócitos T reguladores e os TAM).⁵³

A terapia dos linfócitos T adotivos leva a uma resposta imunitária eficaz. Nos últimos anos, a TCA tem caminhado no sentido de desenvolver linfócitos T geneticamente modificados, que expressam recetores de antígenos quiméricos (CARs). Os CARs consistem num fragmento variável de cadeia simples de um anticorpo monoclonal, um domínio espaçador, um domínio transmembranar, um domínio de sinalização intracelular e um domínio co-estimulatório adicional, como se observa na figura 11.^{54, 55}

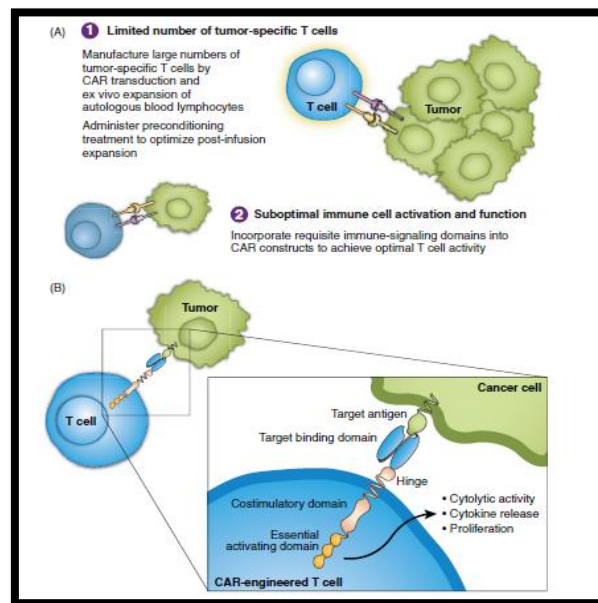


Figura 11: Obstáculos na imunidade anti-tumoral contra malignidades dos linfócitos B e o papel da construção de CAR como solução desses problemas (A); Representação esquemática de um CAR (B)⁵⁵

Através de uma das várias técnicas disponíveis, os linfócitos T são retirados a partir do tumor ou do sangue de um doente e depois são sujeitas a transdução com lentivírus para expressarem o CAR-CD19, com posterior manipulação através de eletroporação com nucleases efetoras ativadoras da transcrição (TALENs) para integrar o CD52 e a região constante do receptor- α dos linfócitos T. Por fim, o linfócito T é estimulado a crescer e a expandir-se num sistema de cultura *in vitro*. Após expansão *in vitro* suficiente, estes linfócitos são reinsertos no hospedeiro, onde irão mediar a destruição tumoral.⁵⁶

A investigação na área da imunoterapia caminha no sentido de melhorar a relação risco-benefício da terapêutica, de forma a mitigar a toxicidade enquanto se preserva ou se reforça a sua eficácia. Assim, os novos linfócitos T com CAR têm sido investigados de forma a correlacionar a segurança com a sua eficácia e isto envolve o desenvolvimento de tecnologia de *switch* para criar linfócitos T que expressam mais de um CAR, o que diminui a capacidade de inibição por parte das células tumorais das respostas anti-tumorais do sistema imunitário. Outra possibilidade é a criação de linfócitos T com CAR que reconheçam dois recetores, o que pode levar a um aumento das taxas de resposta e da durabilidade dessas mesmas respostas, prevenindo a perda de antígenos através de mecanismos de fuga tumoral. O futuro do desenvolvimento da TCA está descrito na figura 12.⁵⁷

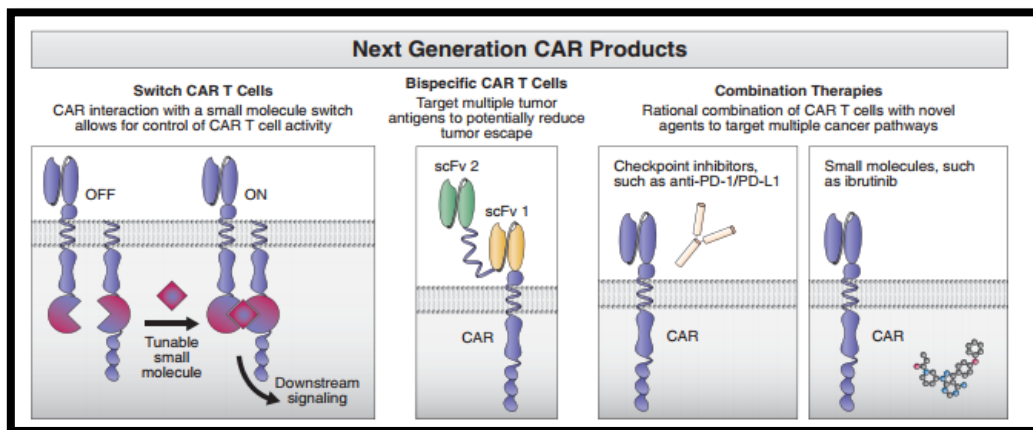


Figura 12: Linhas direcionais de desenvolvimento da próxima geração de linfócitos T geneticamente modificados com CAR⁵⁷

5.2.3 Vacinas

O principal objetivo das vacinas para o tratamento do cancro é a obtenção, a expansão e a estimulação dos anticorpos e dos linfócitos T CD8⁺ para os antígenos tumorais. Em termos de contexto terapêutico, estas vacinas procuram ativar as células imunitárias do doente quando o seu sistema imunitário já não responde de forma efetiva contra o cancro. O seu mecanismo de ação está descrito na figura 13. ^{58, 59, 60}

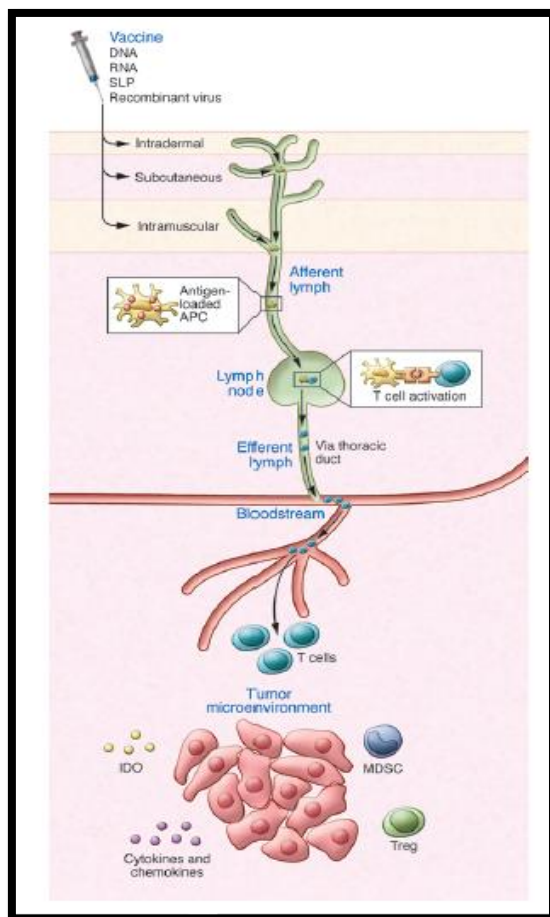


Figura 13: Modo de ação de uma vacina terapêutica direcionada para o cancro ⁵⁸

As vacinas dirigidas para o cancro podem ser preventivas e atuam como vacinas profiláticas, cujo objetivo é a prevenção do cancro numa pessoa saudável ou podem ser dirigidas para o tratamento, sendo vacinas terapêuticas e neste caso, o objetivo é tratar um cancro já existente através do reforço das respostas dadas pelo sistema imunitário do indivíduo. Apenas as vacinas terapêuticas são uma forma de imunoterapia. ⁶¹

A comunidade científica tem tentado desenvolver vacinas com diversos tipos de antígenos, incluindo os antígenos tumorais não mutados e os antígenos mutados específicos do doente, contudo os resultados não têm sido muito promissores uma vez que a supressão imunitária estabeleceu-se no organismo do doente por vários anos durante

o crescimento tumoral e é este facto que afeta a capacidade da vacina reforçar a atuação do sistema imunitário de forma constante e a capacidade de induzir a resposta imunitária no local do tumor. ⁶²

Atualmente várias vacinas foram estudadas na área da oncologia, em alguns ensaios clínicos, contudo apenas existem duas vacinas aprovadas para o cancro a nível preventivo (a vacina contra o HPV e a vacina contra o vírus da Hepatite B) e uma vacina aprovada para a sua indicação terapêutica - designada por Sipuleucel T - e que tem a sua ação contra o cancro da próstata. A tabela 4, em anexo, apresenta as várias vacinas ainda em desenvolvimento clínico. ^{61, 63, 64}

5.2.3.3 Sipuleucel-T

Nesta área da imunoterapia foi realizada uma enorme descoberta com as células dendríticas, uma vez que estas atuam como mensageiros entre o sistema imunitário inato e o adquirido e são as principais APCs aos linfócitos T, permitindo o reconhecimento e a destruição das células cancerígenas. Estas células permitiram a criação de vacinas para o tratamento de cancro como é o caso da primeira vacina não-viral designada por Sipuleucel-T, também conhecida por *Provenge*[®], aprovada pela FDA em 2010. ^{62, 65}

As vacinas para o tratamento de cancro que são baseadas em DC são autólogas, ou seja, são feitas utilizando as células do próprio doente, no qual é retirado uma amostra de sangue periférico do doente com células sanguíneas mononucleares, que são ativadas *ex vivo* com uma fusão de proteínas recombinantes que consistem no antigénio prostático, na fosfatase ácida prostática (PAP) e no GM-CSF. Por sua vez, estas células modificadas são injetadas no doente, onde ocorrerá uma forte resposta imunitária contra as células cancerígenas. ⁵⁸

6 Resultados

Em relação aos bloqueadores dos *checkpoints* imunitários, nos ensaios clínicos, o atezolizumab em comparação com o docetaxel, mostrou uma melhoria da SG em 4.2 meses (o atezolizumab obteve 13.8 meses versus o docetaxel que obteve 9.6 meses) em doentes com CPCnP que foram previamente tratados.³¹

No ensaio clínico multicêntrico, prospetivo, de um único grupo de fase II com doentes refratários à quimioterapia com carcinoma das células de Merkel de estadio IV, dos quais 88 doentes receberam uma dose de avelumab de 10mg/kg a cada duas semanas. A mediana de tempo de seguimento foi de 10,4 meses. A resposta objetiva foi obtida por 28 doentes e oito dessas respostas foram completas. Algumas dessas respostas são duradouras e ainda estão a ser investigadas atualmente, como se observa na figura 14.⁶⁶

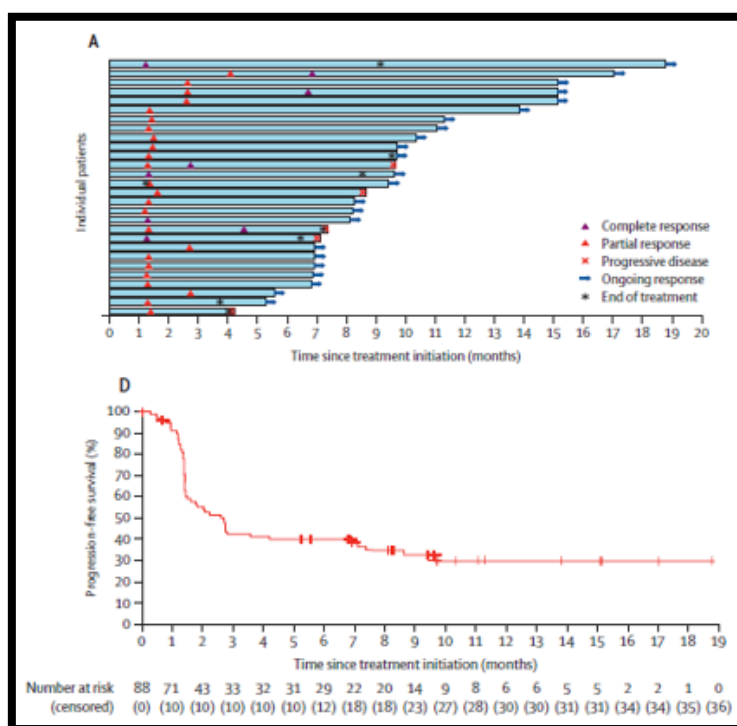


Figura 14: Resultados do ensaio clínico do Avelumab (adaptado)⁶⁶

A eficácia do durvalumab foi avaliada num estudo de fase III com 709 doentes (2:1) com CPCnP no qual lhes foi administrado durvalumab 2mg/kg (n=473) ou placebo (n=236). A mediana do tempo de progressão livre de doença foi de 16,8 meses para o durvalumab e 5,6 meses para o placebo. Além disso, a taxa de resposta foi superior para a durvalumab em comparação com o placebo. Os dados deste ensaio estão detalhados na tabela 5, em anexo.⁴¹

No ensaio clínico CheckMate 069 (duplamente cego, multicêntrico, randomizado de fase 2) com 179 doentes com melanoma de estadios III e IV, dos quais 95 foram tratados com ipilimumab e nivolumab e 47 doentes foram tratados apenas com ipilimumab. Os resultados revelam que a combinação do nivolumab com o ipilimumab leva a melhores resultados terapêuticos que o ipilimumab em monoterapia, podendo traduzir-se numa SG mais elevada.⁶⁷

Em relação ao nivolumab, no ensaio clínico Check-Mate-025, de fase III em doentes com carcinoma avançado das células renais, os resultados demonstram que a progressão livre de doença foi superior para o nivolumab (4,6 meses) em comparação com o everolimus (4,4 meses) e a SG também foi superior no nivolumab (25,0 meses) em comparação com o agente quimioterápico (19,6 meses). Estes dados comprovam a superioridade em termos de eficácia clínica do nivolumab quando comparado com outros tratamentos de quimioterapia, como se observa na tabela 7, em anexo.⁴⁶

Apesar de não ser uma escolha de 1ª linha em doentes PD-L1 negativos, o ensaio clínico KEYNOTE-006 demonstrou que o ipilimumab é uma boa opção terapêutica em doentes com progressão da doença após tratamentos com bloqueadores do *checkpoint* PD-1, tendo-se observado uma taxa de resposta objetiva (ORR) de 14% em 129 doentes tratados previamente com pembrolizumab, o que é uma ORR semelhante à obtida pelo ipilimumab como terapêutica de 1ª linha.^{68,69}

No ensaio clínico KEYNOTE-001, de fase I participaram 495 doentes com CPCnP no qual lhes foi administrado o pembrolizumab numa dose de 2mg/kg (n=6) ou de 10mg/kg (n=287) a cada 3 semanas ou de 10mg/kg a cada duas semanas (n=202). Os resultados comprovaram que doentes que fizeram a terapêutica pela primeira vez apresentaram um ORR mais elevado (24,8%) em relação aos doentes pré-tratados (18%). Outro ensaio clínico de fase I semelhante realizado no Japão também corroborou que o pembrolizumab apresentava um perfil de elevada e segurança em doentes com tumores sólidos como o CPCnP.^{70,71}

Já o pembrolizumab provou ser clinicamente superior à quimioterapia utilizada no ensaio clínico KEYNOTE-045. Neste ensaio randomizado de fase III, com um total de 542 doentes com carcinoma urotelial em estadios avançados e com progressão da doença, o pembrolizumab, na dose de 200mg durante 3 semanas, foi comparado com os agentes quimioterápicos escolhidos pelo investigador (paclitaxel, docetaxel ou vinflunina). Os

doentes que receberam o pembrolizumab tiveram uma melhoria da SG de 14,4 meses em comparação com os resultados obtidos pelos doentes tratados com quimioterapia, mostrando ser uma opção terapêutica mais segura e eficaz.⁷²

Outro ensaio clínico importante é o Keynote-002, randomizado e de fase 2, com 540 doentes com melanoma refratários ao ipilimumab. Os doentes foram aleatoriamente distribuídos (1:1:1) para serem tratados com pembrolizumab a 2mg/kg ou 10mg/kg ou com um agente quimioterápico à escolha do investigador (paclitaxel com carboplatina, paclitaxel, carboplatina, dacarbazina ou temozolomida oral). A sobrevivência livre de progressão foi melhorada nos doentes tratados com pembrolizumab, numa dose de 2mg/kg. No estudo clínico KEYNOTE-041 de fase 1b, o pembrolizumab foi administrado a 42 doentes japoneses com melanoma avançado e a resposta tumoral foi avaliada através do *Response Evaluation Criteria in Solid Tumors 1.1* (RECIST v1.1). Este estudo veio corroborar o perfil de segurança clínica do pembrolizumab, como se pode observar na tabela 6, em anexo.^{69, 73, 74}

A ATC provou ser eficaz na regressão do melanoma uveal metastático, no ensaio clínico NCT01814046. Neste ensaio de fase II, de braço único, centro único, de duas fases, os 21 doentes foram tratados com ciclofosfamida intravenosa (60mg/kg, diariamente durante dois dias), seguido por fludarabina (25mg/m² diariamente, durante 5 dias) e seguido por uma única infusão intravenosa de TILs autólogos e uma elevada dose de IL-2 (720.000 UI/kg a cada oito horas). Os efeitos tóxicos de grau III ou superior descritos no ensaio estiveram apenas associados ao esquema quimioterapêutico utilizado. Um dos doentes sofreu uma morte secundária associada ao tratamento devido a sépsis induzida pela falência múltipla de órgãos. Sete dos 20 doentes avaliados obtiveram uma regressão objetiva do tumor e seis doentes obtiveram uma resposta parcial, dos quais dois deles continuam no ensaio clínico sem atingir a resposta completa.⁷⁵

Já a técnica de ATC provou ser capaz de causar a regressão do glioblastoma num estudo que utilizou linfócitos T com CAR dirigidos ao recetor da IL-13 $\alpha 2$. Neste estudo foram feitas administrações intracraniais destes linfócitos T durante 220 dias, que não provocaram efeitos tóxicos de grau III ou superior. Para além disso, a resposta terapêutica perdurou durante 7,5 meses após o início da terapêutica com linfócitos T com CAR.⁷⁶

No ensaio ZUMA-1, multicêntrico, de fase I avaliou-se a ação do KTE-C19, um linfócito T autólogo com um CAR CD19 em doentes refratários com linfoma dos

linfócitos B grandes e difusos. Neste ensaio participaram 7 doentes, que receberam ciclofosfamida ($500\text{mg}/\text{m}^2$) e fludarabina ($30\text{mg}/\text{m}^2$) durante 3 dias, seguido da infusão de KTE-C19 (2×10^6 linfócitos T CAR/kg). Um doente sofreu neurotoxicidade e eventos de grau IV devido à toxicidade associada à dose. Outro doente sofreu neurotoxicidade e eventos de grau III. A taxa de resposta global foi de 71% ($n=5$) e a taxa de resposta completa foi de 57% ($n=4$), no qual em 3 doentes a resposta ainda está a ser avaliada como se vê na figura 15.^{57,77}

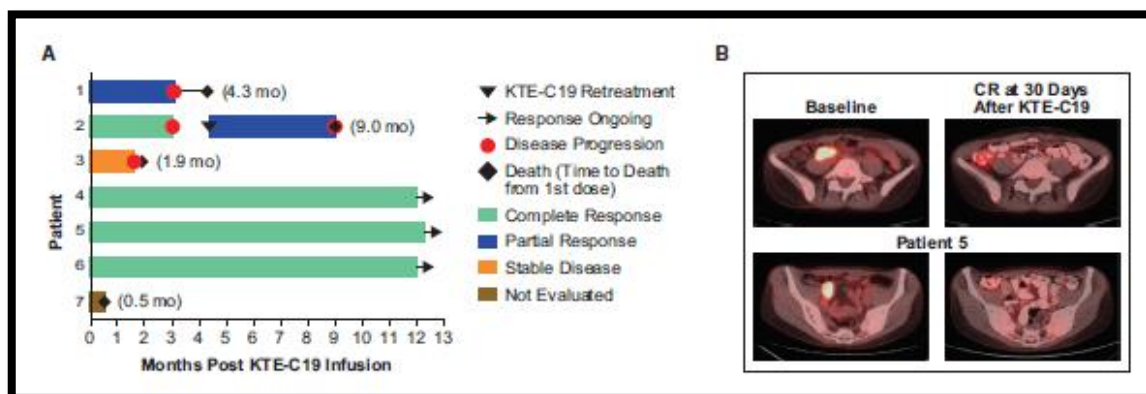


Figura 15: Eficácia clínica após a infusão com linfócitos T KTE-C19⁷⁷

Ainda em relação à imunoterapia adotiva foi feito o estudo COMVI, prospetivo, com um único braço para avaliar a combinação entre a quimioterapia e a ATC no tratamento do cancro colorretal estadio IV. Neste estudo participaram 6 doentes, nos quais foram administrados, em ciclos de 21 dias de tratamento, XELOX no dia 1 ($130\text{ mg}/\text{m}^2$ de oxaliplatina; $1,000\text{ mg}/\text{m}^2$ de capecitabina, duas vezes/dia nos dias 1-14 e $7.5\text{ mg}/\text{kg}$ de bevacizumab no dia 1) e linfócitos T $\alpha\beta$ (5×10^9 no dia 18) cultivados *ex vivo* com anticorpos imobilizados com CD3 e IL-2. A taxa de resposta global foi de 83,3%, sendo a taxa de resposta completa de 33,3%. A taxa de estabilização da doença foi de 16,7%. A mediana da SG foi de 966 dias e a maioria das reações adversas ao medicamento (RAM) foram fracas a moderadas.⁷⁸

Quanto à vacina Sipuleucel-T, foi realizado um estudo randomizado (2:1:1) de fase III com 737 doentes para avaliar a sua eficácia vs. o placebo. A vacina era constituída por células mononucleares autólogas do sangue periférico, que foram ativadas com PA2024 (PAP ligado a GM-CSF). O grupo de controlo continha células criopreservadas APC8015F feitas do mesmo modo que a Sipuleucel-T e o placebo continha um produto das células autólogas sem estarem ativadas pelo PA2024. O procedimento era igual para

ambos os grupos: três leucofereses e três infusões, com duas semanas de intervalos entre tratamentos. Os resultados demonstraram uma SG de 25,4 meses para a Sipuleucel-T, 23,6 meses para as células criopreservadas APC8015F e 12,7 meses para o grupo do placebo, como se observa na figura 16. Na comparação dos grupos de doentes que receberam ou não células com PA2024, a taxa de risco não ajustada para a morte foi de 0,53, o que representa uma redução do risco de morte em 47%, presente na tabela 8 em anexo.⁷⁹

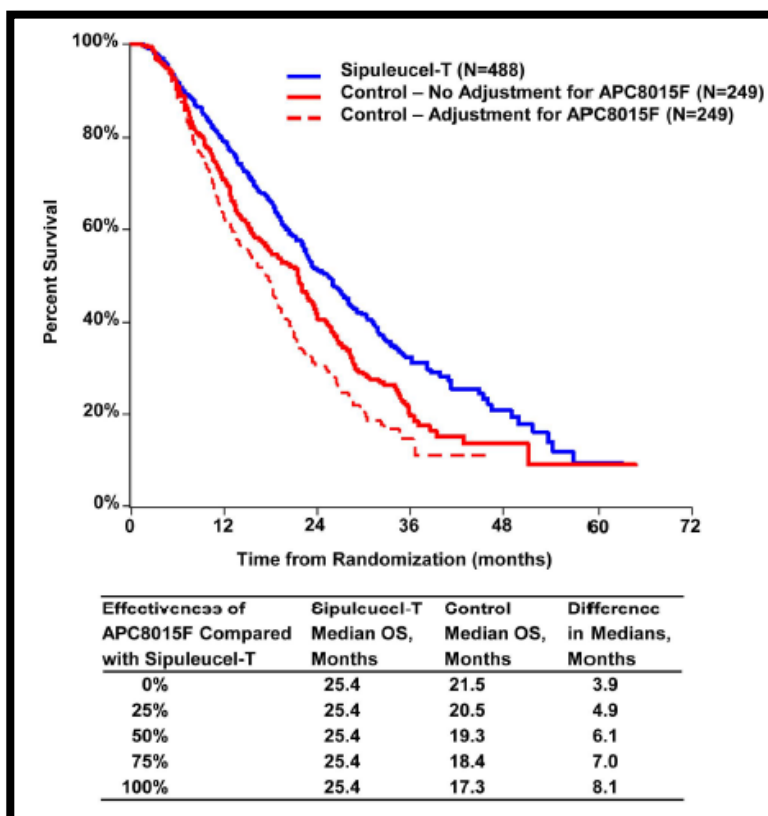


Figura 16: Sobrevida global (meses) dos doentes no ensaio clínico da Sipuleucel-T⁷⁹

No ensaio clínico de fase III, multicêntrico, duplamente cego e controlado com placebo, participaram doentes com mCRPC que revelaram um aumento da SG de 4 meses em relação à mediana para este tipo de doentes. Atualmente estão a ser realizados outros ensaios clínicos de fase III que se focam na eficiência do Sipuleucel-T e da taxa de sobrevivência do doente (NCT00045968/Glioma, NCT01983748/Melanoma uveal, NCT01875653/Melanoma).^{5,80}

Também foi realizado outro estudo para avaliar a combinação da Sipuleucel-T com um agente quimioterápico no tratamento do cancro da próstata. No primeiro grupo com

35 doentes foi-lhes administrado acetato de abiraterona juntamente com Sipuleucel-T (1000 mg diariamente) e prednisona (5mg, duas vezes/dia, diariamente) e no grupo do controlo, com 34 doentes, foi-lhes administrado acetato de abiraterona e prednisona (doses iguais ao outro braço do estudo), durante 26 semanas de tratamento. Os resultados demonstraram que a ativação das APC foi superior após a 2^a e a 3^a infusões, em comparação com o ponto de partida, o que se traduz na redução do risco de morte em 7,2%, assumindo que se mantém a relação entre a ativação de APC e a SG observada no estudo IMPACT. Para além disso, os resultados dos perfis dos parâmetros do produto do Sipuleucel-T e as respostas imunitárias observadas foram consistentes com os outros estudos realizados de fase III.⁸¹

7 Discussão

Nos ensaios clínicos anteriormente apresentados, vários inibidores dos *checkpoints* imunitários demonstraram ter uma eficácia terapêutica superior em relação aos agentes quimioterápicos utilizados (Atezolizumab vs. Docetaxel; Nivolumab vs. Everolimus e Pembrolizumab vs. paclitaxel ou docetaxel ou vinflunina), o que reforça a ideia de que a imunoterapia representa uma vantagem terapêutica para o doente oncológico e por essa razão poderá ser utilizada como terapêutica de 1ª e 2ª linha em certos tipos de malignidades. Outro dado importante é a existência de ensaios que comprovaram a equivalência terapêutica entre alguns inibidores dos *checkpoints* imunitários (nivolumab e o pembrolizumab em relação ao ipilimumab), o que permite conciliar mais escolhas terapêuticas para um determinado doente oncológico.^{31, 46, 72}

Com o recente sucesso da imunoterapia na área da oncologia, especialmente com os inibidores de *checkpoints*, esta nova modalidade terapêutica começa a ter mais atenção por parte dos especialistas. Assim, a morte celular causada pelo tratamento com radioterapia pode acentuar a imunidade anti-tumoral através da indução da expressão de antígenos na superfície de células tumorais e da ativação de linfócitos, atuando sinergicamente com a imunoterapia. Desta forma, os inibidores dos *checkpoints* imunitários demonstram ser promissores no tratamento do doente oncológico.^{82, 83}

Ainda em relação à técnica da ATC, a utilização destes linfócitos T com CAR no tratamento de tumores sólidos envolve um grupo único de desafios como a validação do antígeno utilizado, o tráfico e infiltração tumoral, a heterogeneidade tumoral e o microambiente imunossupressor. Assim, este estudo acerca do glioblastoma comprova que os linfócitos T geneticamente modificados com CAR conseguem mediar uma atividade anti-tumoral profunda em cancros difíceis de tratar, sendo possível transpor esta terapêutica para outras neoplasias resistentes, como terapêutica de 2ª ou 3ª linha.⁷⁵

Como observado no estudo ZUMA-1, a utilização de linfócitos T com CAR pode ainda assim estar associado a situações de neurotoxicidade e efeitos adversos de grau III ou superior em doentes refratários com linfoma dos linfócitos B grandes e difusos pelo que é importante avaliar a situação do doente oncológico, rever os tratamentos efetuados previamente pelo doente e fazer a escolha terapêutica o mais acertadamente possível.^{57, 77}

No primeiro estudo apresentado acerca da Sipuleucel-T foi possível verificar o efeito cumulativo da ativação das APC, que resulta num benefício da imunoterapia na SG de

doentes com cancro prostático resistente à castração, representando uma mudança de paradigma neste tipo de cancro. A Sipuleucel-T poderá ser uma boa opção terapêutica neste tipo de doentes como terapêutica de 1ª e 2ª linhas comparativamente com outras abordagens.⁷⁹

Ainda acerca das vacinas aplicadas ao cancro, noutro estudo procurou-se avaliar a potencial combinação entre o acetato de abiraterona e a prednisona com a vacina Sipuleucel-T, uma vez que têm mecanismos de ação e toxicidades diferentes e com este estudo clínico ficou comprovado que a combinação destes agentes criou um benefício clínico adicional, o que é indicativo de um efeito imunoestimulador ao impedir a progressão do cancro da próstata (medido através dos níveis de PSA, da ativação de APC, entre outros exemplos) e dando mais tempo para se desenvolver a resposta anti-tumoral da Sipuleucel-T, sem elevar a toxicidade destes fármacos. Assim, quando conjugada com agentes quimioterápicos, a Sipuleucel-T poderá ser uma escolha terapêutica de 1ª linha em doentes com cancro da próstata.⁸⁰

Assim, a combinação de múltiplas estratégias leva a um maior benefício clínico dos doentes oncológicos, mais uma vez ressaltando a importância de uma compreensão completa dos modos de ação dos fármacos de forma a complementar o benefício clínico com a imunoterapia.⁸

8 Conclusão

Assim é possível afirmar que o sucesso da imunoterapia está relacionado com o aumento da ativação dos linfócitos T (resposta mais forte nos bloqueadores dos *checkpoints* e mais fraco nas vacinas) e com a diminuição do número de mecanismos de resistência tumoral. A imunoterapia traduzir-se-á num benefício clínico para o doente oncológico sempre que leve a um aumento da primeira e da segunda dimensão dos linfócitos T como se observa na figura 17. ⁶⁴

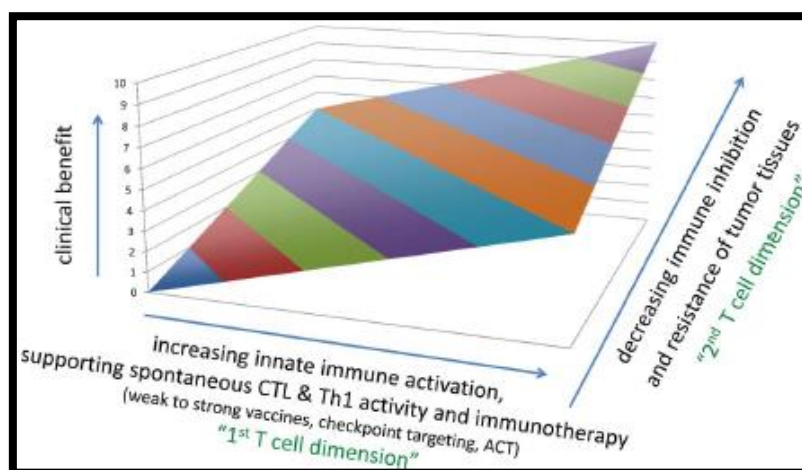


Figura 17: O benefício clínico da imunoterapia depende da resposta imunitária dos linfócitos T CD8⁺ e dos mecanismos de resistência tumoral ⁶⁴

A imunoterapia representará, tanto num tumor imunogénico como num tumor não imunogénico, uma vantagem terapêutica devido à sua ação ao nível da célula tumoral. Num microambiente tumoral imunogénico, no qual se incluem diversos marcadores imunológicos como os linfócitos T CD4⁺ e CD8⁺, as células tumorais com o PD-L1, entre outros, o cancro pode ser tratado eficazmente através dos bloqueadores dos *checkpoints* imunitários, para reforçar o seu benefício clínico. Caso o microambiente tumoral não seja imunogénico, será mais vantajoso a combinação de terapêuticas de forma a que, através da quimioterapia ou da radioterapia, se possa criar um microambiente imunogénico juntamente com um bloqueador de um *checkpoint* imunitário que estimule a resposta imunitária para tornar a terapêutica clinicamente mais eficaz e segura para o doente oncológico, como se pode observar na figura 18. ³⁰

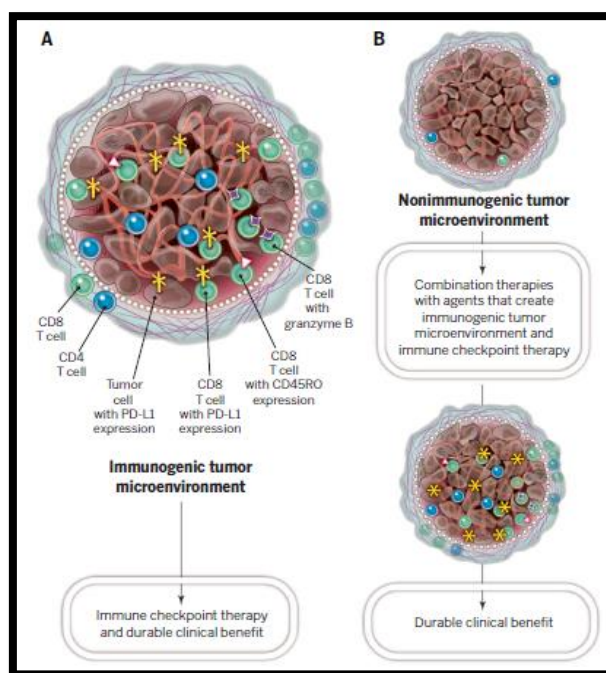


Figura 18: Potenciais formas de tratamento e combinação de terapêuticas em tumores imunogénicos e em tumores não imunogénicos ³⁰

Atualmente é bastante claro que, na oncologia, devido à heterogeneidade e aos mecanismos de resistência tumoral, nenhuma monoterapia será bem-sucedida a não ser numa fração reduzida de doentes. Vacinas como a Sipuleucel-T ou bloqueadores como o Nivolumab já provaram a sua eficácia clínica em monoterapia, contudo as terapias combinadas com a imunoterapia representam uma forma eficaz e segura de tratar o doente oncológico. A longo prazo não existem ensaios clínicos que comprovem a eficácia da imunoterapia, no entanto esta área avança no sentido de melhorar as técnicas de TCA e de descobrir mais bloqueadores de *checkpoints* e de vacinas, que revelam ser cada vez mais importantes no tratamento do doente oncológico. Desta forma, a imunoterapia possibilita o aumento da sobrevida e da qualidade de vida do doente oncológico, podendo representar, no futuro, uma mudança na forma como vemos o tratamento oncológico. ¹⁹

VII Referências Bibliográficas

1. Organização Mundial de Saúde. Global Health Observatory (GHO) data. [Acedido a 16 Jun 2017]. Disponível em: <http://www.who.int/gho/en/>.
2. Caspi RR. Immunotherapy of autoimmunity and cancer: the penalty for success. *Nat Rev Immunol*. 2008;8(12):970–6.
3. Sharpe AH. Introduction to checkpoint inhibitors and cancer immunotherapy. *Immunol Rev*. 2017;276(1):5–8.
4. Ni L, Dong C. New checkpoints in cancer immunotherapy. *Immunol Rev* [Internet]. 2017;276(1):52–65. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1111/imr.12524>.
5. Reardon DA, Gilbert MR, Wick W, Liao L. Immunotherapy for neuro-oncology: the critical rationale for combinatorial therapy. *Neuro Oncol* [Internet]. 2015;17 Suppl 7(June):vii32–40. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26516225> \nhttp://neuro-oncology.oxfordjournals.org/content/17/suppl_7/vii32.full.pdf.
6. Alderton GK. Immunotherapy: Engineered T cells for all. *Nat Rev Cancer* [Internet]. 2017;17(4):206–7. Available from: <http://www.nature.com/doifinder/10.1038/nrc.2017.19>.
7. Okada H, Weller M, Huang R, Finocchiaro G, Gilbert MR, Wick W, et al. Immunotherapy response assessment in neuro-oncology: A report of the RANO working group. *Lancet Oncol*. 2015;16(15):e534–42.
8. Theelen J, Braun J, Hörzer H, Kloke BP, Ott M, Pizzitola I, et al. Mechanisms of efficacy in cancer immunotherapy: 14th Annual Meeting of the Association for Cancer Immunotherapy (CIMT), Mainz, Germany, May 10–12, 2016. *Cancer Immunol Immunother*. 2017;66(5):673–81.
9. Tian, T, Olson S, Whitacre JM, Harding A. The origins of cancer robustness and evolvability. *Integr Biol (Camb)*. 2011;3(1):17–30.
10. Woo S-R, Corrales L, Gajewski TF. Innate Immune Recognition of Cancer. *Annu Rev Immunol* [Internet]. 2015;33(1):445–74. Available from: <http://www.annualreviews.org/doi/10.1146/annurev-immunol-032414-112043>.
11. Chen DS, Mellman I. Oncology meets immunology: The cancer-immunity cycle. *Immunity*. 2013;39(1):1–10.
12. Allen MD, Jones LJ. The role of inflammation in progression of breast cancer: Friend or foe? (Review). *Int J Oncol*. 2015;47(3):797–805.
13. Gajewski TF, Schreiber H, Fu Y-X. Innate and adaptive immune cells in the tumor microenvironment. *Nat Immunol* [Internet]. 2013;14(10):1014–22. Available from: <http://www.nature.com/doifinder/10.1038/ni.2703>.
14. Muenst S, Lüubli H, Soysal SD, Zippelius A, Tzankov A, Hoeller S. The immune system and cancer evasion strategies: Therapeutic concepts. *J Intern Med*. 2016;279(6):541–62.
15. Marcus A, Gowen BG, Thompson TW, Iannello A, Ardolino M, Deng W, et al. Recognition of tumors by the innate immune system and natural killer cells [Internet]. 1st ed. Vol. 122, *Advances in Immunology*. Elsevier Inc.; 2014. 91–128 p. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-800267-4.00003-1>.

16. Lee M, Rhee I. Cytokine signaling in Tumor Progression. *Immune Netw.* 2017;17(4):214–27.
17. Lawrence J, Cameron D, Argyle D. Species differences in tumour responses to cancer chemotherapy. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* [Internet]. 2015;370(1673):11–4. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26056373>.
18. Dalglish AG. Rationale for combining immunotherapy with chemotherapy. *Immunotherapy.* 2015;7(3):309–16.
19. Haikerwal SJ, Hagekyriakou J, MacManus M, Martin OA, Haynes NM. Building immunity to cancer with radiation therapy. *Cancer Lett* [Internet]. 2015;368(2):198–208. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.canlet.2015.01.009>.
20. Schae D, McBride WH. Opportunities and challenges of radiotherapy for treating cancer. *Nat Rev Clin Oncol* [Internet]. 2015;12(9):527–40. Available from: <http://www.nature.com/doi/10.1038/nrclinonc.2015.120>.
21. Sharma S, Hertan L, Jones J. Palliative radiotherapy: Current status and future directions. *Semin Oncol* [Internet]. 2014;41(6):751–63. Available from: <http://dx.doi.org/10.1053/j.seminoncol.2014.09.021>.
22. Wyld L, Audisio RA, Poston GJ. The evolution of cancer surgery and future perspectives. *Nat Rev Clin Oncol* [Internet]. 2015;12(2):115–24. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/nrclinonc.2014.191>.
23. American Cancer Society. How surgery is used for cancer. [Acedido a 21 Jul 2017]. Disponível em: <https://www.cancer.org/treatment/treatments-and-side-effects/treatment-types/surgery/how-surgery-is-used-for-cancer.html>.
24. Cancer Research UK. General cancer information: About surgery. [Acedido a 21 Jul 2017]. Disponível em: <http://www.cancerresearchuk.org/about-cancer/cancer-in-general/treatment/surgery/about>.
25. National Cancer Institute. Types of Cancer Treatment: Surgery. [Acedido a 21 Jul 2017]. Disponível em: <https://www.cancer.gov/about-cancer/treatment/types/surgery>.
26. Bellmunt J, Powles T, Vogelzang NJ. A review on the evolution of PD-1/PD-L1 immunotherapy for bladder cancer: The future is now. *Cancer Treat Rev* [Internet]. 2017;54:58–67. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28214651>.
27. Rusch T, Bayry J, Werner J, Shevchenko I, Alexandr ., Bazhin V. Immunotherapy as an Option for Cancer Treatment. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)* [Internet]. 123AD;0(3):0. Available from: <https://link.springer.com/content/pdf/10.1007%252Fs00005-017-0491-5.pdf>.
28. Martin SD, Coukos G, Holt RA, Nelson BH. Targeting the undruggable: Immunotherapy meets personalized oncology in the genomic era. *Ann Oncol.* 2015;26(12):2367–74.
29. Pianko MJ, Liu Y, Bagchi S, Lesokhin AM. Immune checkpoint blockade for hematologic malignancies: a review. *Stem Cell Investig* [Internet]. 2017;4(32):1–21. Available from: <http://sci.amegroups.com/article/view/14488/14665>.
30. Sharma P, Allison JP. The future of immune checkpoint therapy. *Canc Immunol and Immunother.* 2015. 348: 56, 1-7.

31. de Weers M, Tai Y-T, van der Veer MS, Bakker JM, Vink T, Jacobs DCH, et al. Daratumumab, a Novel Therapeutic Human CD38 Monoclonal Antibody, Induces Killing of Multiple Myeloma and Other Hematological Tumors. *J Immunol* [Internet]. 2011;186(3):1840–8. Available from: <http://www.jimmunol.org/cgi/doi/10.4049/jimmunol.1003032>.
32. Specenier P. Ipilimumab in melanoma. *Expert Rev Anticancer Ther*. 2016;16(8):811–26.
33. Wang Y, Sanchez L, Siegel DS, Wang ML. Elotuzumab for the treatment of multiple myeloma. *J Hematol Oncol* [Internet]. 2016;9(1):55. Available from: <http://jhonline.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13045-016-0284-z>.
34. Furuse M, Nonoguchi N, Omura N, Shirahata M, Iwasaki K, Inui T, et al. Immunotherapy of Nivolumab with Dendritic Cell Vaccination Is Effective against Intractable Recurrent Primary Central Nervous System Lymphoma: A Case Report. *Neurol Med Chir (Tokyo)* [Internet]. 2017;1–7. Available from: https://www.jstage.jst.go.jp/article/nmc/advpub/0/advpub_cr.2016-0330/_article.
35. EMA. Anexo I - Resumo das Características do Medicamento Atezolimumab. 2010;1–47.
36. EMA. Anexo I - Resumo das Características do Medicamento Avelumab. 2010;1–38.
37. Hamilton G, Rath B. Avelumab: combining immune checkpoint inhibition and antibody-dependent cytotoxicity. *Expert Opin Biol Ther* [Internet]. 2017;17(4):515–23. Available from: <http://dx.doi.org/10.1080/14712598.2017.1294156>
38. FDA – U.S. Food & Drug Administration. Approved Drugs: Avelumab (BAVENCIO). [Acedido a 31 Ago 2017]. Disponível em: <https://www.fda.gov/Drugs/InformationOnDrugs/ApprovedDrugs/ucm547965.htm>.
39. European Medicines Agency: Science Medicines Health. Human medicines: Rare disease designations. [Acedido a 31 Ago 2017]. Disponível em: http://www.ema.europa.eu/ema/index.jsp?curl=pages/medicines/human/orphans/2017/01/human_orphan_001906.jsp&mid=WC0b01ac058001d12b.
40. Muller M, Schouten RD, De Gooijer CJ, Baas P. Pembrolizumab for the treatment of non-small cell lung cancer. *Expert Rev Anticancer Ther* [Internet]. 2017;17(5):399–409. Available from: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/14737140.2017.1311791>.
41. Antonia SJ, Villegas A, Daniel D, Vicente D, Murakami S, Hui R, et al. Durvalumab after Chemoradiotherapy in Stage III Non–Small-Cell Lung Cancer. *N Engl J Med* [Internet]. 2017;NEJMoa1709937. Available from: <http://www.nejm.org/doi/10.1056/NEJMoa1709937>
42. Jung S-H, Lee H-J, Vo M-C, Kim H-J, Lee J-J. Immunotherapy for the treatment of multiple myeloma. *Crit Rev Oncol Hematol* [Internet]. 2017;111:87–93. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.critrevonc.2017.01.011>.
42. Richardson PG, Jagannath S, Moreau P, Jakubowiak AJ, Raab MS, Facon T, et al. Elotuzumab in combination with lenalidomide and dexamethasone in patients with relapsed multiple myeloma: final phase 2 results from the randomised, open-label, phase 1b–2 dose-escalation study. *Lancet Haematol*. 2015;2(12):e516–27.

43. EMA. Anexo I - Resumo das Características do Medicamento Elotuzumab. 2010;1–41.
44. EMA. Anexo I - Resumo das Características do Medicamento Ipilimumab. 2015;1–44.
45. Bristol-Myers Squibb. YERVOY® (ipilimumab) is the 1st FDA-approved immune checkpoint inhibitor [acedido a 12 Set 2017]. Disponível em: <http://www.hcp.yervoy.com/metastatic-melanoma/mechanism-of-action>.
46. Joseph RW, Chatta G, Vaishampayan U. Nivolumab treatment for advanced renal cell carcinoma: Considerations for clinical practice. *Urol Oncol Semin Orig Investig* [Internet]. 2017;35(4):142–8. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.urolonc.2017.01.017>.
47. EMA. Anexo I - Resumo das Características do Medicamento Nivolumab. 2010;1–75.
48. Dang TO, Ogunniyi A, Barbee MS, Drilon A. Pembrolizumab for the treatment of PD-L1 positive advanced or metastatic non-small cell lung cancer. *Exp Rev Anticancer Ther*. [Internet]. 2016; 16(1): 13–20. Available from: doi:10.1586/14737140.2016.1123626.
49. Riccio V, Carrano S, Buonerba C, Di Lorenzo G. The role of immunotherapy in oncology. *Futur Oncol* [Internet]. 2015;11(21), 1–4. Available from: <http://www.futuremedicine.com/doi/10.2217/fon.15.237>.
50. EMA. Anexo I - Resumo das Características do Medicamento Pembrolizumab. 2010;1–46.
51. Rosenberg SA, Restifo NP. Adoptive cell transfer as personalized immunotherapy for human cancer. *Science (80-)* [Internet]. 2015;348(6230):62–69. Available from: <http://www.sciencemag.org/cgi/doi/10.1126/science.aaa4967>
52. Singh N, Shi J, June CH, Ruella M. Genome-Editing Technologies in Adoptive T Cell Immunotherapy for Cancer. *Curr Hematol Malig Rep*. 2017. 1-8.
53. Perica K, Varela JC, Oelke M, Schneck J. Adoptive T Cell Immunotherapy For Cancer. *Rambam Maimonides Med J* [Internet]. 2015;6(1):e0004. Available from: [http://rmmj.org.il/websitepanel.co.il/\(S\(i354wu0nqhzelqowx3hrfpto\)\)/Pages/Article.aspx?manuId=455](http://rmmj.org.il/websitepanel.co.il/(S(i354wu0nqhzelqowx3hrfpto))/Pages/Article.aspx?manuId=455).
54. Schwarzbich M-A, Witzens-Harig M. Cellular Immunotherapy in B-Cell Malignancy. *Oncol Res Treat* [Internet]. 2017;40(11):674–81. Available from: <https://www.karger.com/Article/FullText/481946>.
55. Roberts ZJ, Better M, Bot A, Roberts MR, Ribas A. Axicabtagene ciloleucel, a first-in-class CAR T cell therapy for aggressive NHL. *Leuk Lymphoma* [Internet]. 2017;0(0):1–12. Available from: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/10428194.2017.1387905>.
56. Lohmueller J, Finn OJ. Current modalities in cancer immunotherapy: Immunomodulatory antibodies, CARs and vaccines. *Pharmacology and Therapeutics*. Elsevier Inc.; 2017.
57. Roberts ZJ, Better M, Bot A, Roberts MR, Ribas A. Axicabtagene ciloleucel, a first-in-class CAR T cell therapy for aggressive NHL. *Leuk Lymphoma* [Internet].

- 2017;0(0):1–12. Available from: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/10428194.2017.1387905>.
58. Qasim W, Zhan H, Samarasinghe S, Adams S, Amrolia P, Stafford S, et al. Molecular remission of infant B-ALL after infusion of universal TALEN gene-edited CAR T cells. *Sci Transl Med* [Internet]. 2017;9(374):eaaj2013. Available from: <http://stm.sciencemag.org/lookup/doi/10.1126/scitranslmed.aaj2013>.
 59. Butterfield LH. Cancer vaccines. *Bmj* [Internet]. 2015;350(apr22 14):h988–h988. Available from: <http://www.bmj.com/cgi/doi/10.1136/bmj.h988>.
 60. Melief CJM, Hall T Van, Arens R, Ossendorp F, Burg SH Van Der. Therapeutic cancer vaccines. *Journal of Clinical Investigation*. 2015;125(9):3401–12.
 61. National Cancer Institute. About Cancer: Causes and Prevention. [Acedido a 10 Out 2017]. Disponível em: <https://www.cancer.gov/about-cancer/causes-prevention/vaccines-fact-sheet#q4>.
 62. Reardon DA, Okada H. Re-defining response and treatment effects for neuro-oncology immunotherapy clinical trials. *J Neurooncol*. 2015;123(3):339–46.
 63. Speiser DE, Flatz L. Cancer immunotherapy drives implementation science in oncology. *Hum Vaccines Immunother* [Internet]. 2014;10(11):3107–10. Available from: this article: <http://dx.doi.org/10.4161/21645515.2014.983000>.
 64. Baxevanis CN, Papamichail M, Perez SAa. Therapeutic cancer vaccines: a long and winding road to success. *Expert Rev Vaccines* [Internet]. 2014;13(1):131–44. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24224539>.
 65. American Cancer Society. Immunotherapy: Cancer vaccines. [Acedido a 10 Out 2017]. Disponível em: <https://www.cancer.org/treatment/treatments-and-side-effects/treatment-types/immunotherapy/cancer-vaccines.html>.
 66. Kaufman HL, Russell J, Hamid O, Bhatia S, Terheyden P, D'Angelo SP, et al. Avelumab in patients with chemotherapy-refractory metastatic Merkel cell carcinoma: a multicentre, single-group, open-label, phase 2 trial. *Lancet Oncol*. 2016;17(10):1374–85.
 67. Hodi FS, Chesney J, Pavlick AC, Robert C, Grossmann KF, McDermott DF, et al. Combined nivolumab and ipilimumab versus ipilimumab alone in patients with advanced melanoma: 2-year overall survival outcomes in a multicentre, randomised, controlled, phase 2 trial. *Lancet Oncol* [Internet]. 2016;17(11):1558–68. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1470204516303667>.
 68. Kim DW, Zager JS, Eroglu Z. Improving clinical outcomes with pembrolizumab in patients with advanced melanoma. *Chinese Clin Oncol* [Internet]. 2017;6(1):2–2. Available from: <http://cco.amegroups.com/article/view/13616/14026>.
 69. Specenier P. Pembrolizumab use for the treatment of advanced melanoma. *Expert Opin Biol Ther* [Internet]. 2017;0(0):14712598.2017.1309388. Available from: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/14712598.2017.1309388>.
 70. Lim SH, Sun J-M, Lee S-H, Ahn JS, Park K, Ahn M-J. Pembrolizumab for the treatment of non-small cell lung cancer. *Expert Opin Biol Ther* [Internet]. 2016;16(3):397–406. Available from: <http://www.tandfonline.com/doi/full/10.1517/14712598.2016.1145652>.

71. Shimizu T, Seto T, Hirai F, Takenoyama M, Nosaki K, Tsurutani J, et al. Phase 1 study of pembrolizumab (MK-3475; anti-PD-1 monoclonal antibody) in Japanese patients with advanced solid tumors. *Invest New Drugs* [Internet]. 2016;34(3):347–54. Available from: "<http://dx.doi.org/10.1007/s00280-016-3237-x>.
72. Sidaway P. Bladder cancer: Pembrolizumab is superior to chemotherapy. *Nat Rev Urol* [Internet]. 2017;1-1 Available from: <http://www.nature.com/doi/10.1038/nrurol.2017.38>.
73. Ribas A, Puzanov I, Dummer R, Schadendorf D, Hamid O, Robert C, et al. Pembrolizumab versus investigator-choice chemotherapy for ipilimumab-refractory melanoma (KEYNOTE-002): A randomised, controlled, phase 2 trial. *Lancet Oncol*. 2015;16(8):908–18.
74. Yamazaki N, Takenouchi T, Fujimoto M, Ihn H, Uchi H, Inozume T, Kiyohara Y, Uhara H, Nakagawa K, Furukawa H, Wada H, Noguchi K, Shimamoto T, Yokota K. Phase 1b study of pembrolizumab (MK-3475; anti-PD-1 monoclonal antibody) in Japanese patients with advanced melanoma (KEYNOTE-041). *Cancer Chemother Pharmacol*. 2016. 1-10.
75. Chandran SS, Somerville RPT, Yang JC, Sherry RM, Klebanoff CA, Goff SL, et al. Treatment of metastatic uveal melanoma with adoptive transfer of tumour-infiltrating lymphocytes: a single-centre, two-stage, single-arm, phase 2 study. *Lancet Oncol* [Internet]. 2017;18(6):792–802. Available from: [http://dx.doi.org/10.1016/S1470-2045\(17\)30251-6](http://dx.doi.org/10.1016/S1470-2045(17)30251-6).
76. Brown CE, Alizadeh D, Starr R, Weng L, Wagner JR, Naranjo A, et al. Regression of Glioblastoma after Chimeric Antigen Receptor T-Cell Therapy. *N Engl J Med* [Internet]. 2016;375(26):2561–9. Available from: <http://www.nejm.org/doi/10.1056/NEJMoa1610497>.
77. Locke FL, Neelapu SS, Bartlett NL, Siddiqi T, Chavez JC, Hosing CM, et al. Phase 1 Results of ZUMA-1: A Multicenter Study of KTE-C19 Anti-CD19 CAR T Cell Therapy in Refractory Aggressive Lymphoma. *Mol Ther* [Internet]. 2017;25(1):285–95. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ymthe.2016.10.020>.
78. Yoshida Y, Naito M, Yamada T, Aisu N, Kojima D, Mera T, et al. Clinical Study on the Medical Value of Combination Therapy Involving Adoptive Immunotherapy and Chemotherapy for Stage IV Colorectal Cancer (COMVI Study). *Anticancer Res* [Internet]. 2017;37(7):3941–6. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28668898>.
79. George DJ, Nabhan C, DeVries T, Whitmore JB, Gomella LG. Survival Outcomes of Sipuleucel-T Phase III Studies: Impact of Control-Arm Cross-Over to Salvage Immunotherapy. *Cancer Immunol Res* [Internet]. 2015;3(9):1063–9. Available from: <http://cancerimmunolres.aacrjournals.org/cgi/doi/10.1158/2326-6066.CIR-15-0006>.
80. Ramachandran M, Dimberg A, Essand M. The cancer-immunity cycle as rational design for synthetic cancer drugs: Novel DC vaccines and CAR T-cells. *Semin Cancer Biol* [Internet]. 2016; Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.semcancer.2017.02.010>.
81. Small EJ, Lance RS, Gardner TA, Karsh LI, Fong L, McCoy C, et al. A randomized phase II trial of sipuleucel-T with concurrent versus sequential abiraterone acetate plus prednisone in metastatic castration-resistant prostate cancer. *Clin Cancer Res*. 2015;21(17):3862–9.

82. Teng F, Kong L, Meng X, Yang J, Yu J. Radiotherapy combined with immune checkpoint blockade immunotherapy: Achievements and challenges. *Cancer Lett* [Internet]. 2015;365(1):23–9. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.canlet.2015.05.012>.
83. Chajon E, Castelli J, Marsiglia H, De Crevoisier R. The synergistic effect of radiotherapy and immunotherapy: A promising but not simple partnership. *Crit Rev Oncol Hematol* [Internet]. 2017;111:124–32. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1040842816302608>.

VIII Anexos

Steps	(+) Stimulators	(-) Inhibitors	Other Considerations	Example References
1. Release of cancer antigens	Immunogenic or necrotic cell death	Tolerogenic or apoptotic cell death	Tumor-associated neoantigens and cancer testis antigens	Ferguson et al., 2011
2. Cancer antigen presentation	<ul style="list-style-type: none"> ● Proinflammatory cytokines (e.g., TNF-α, IL1, IFN-α) ● Immune cell factors: CD40L/CD40 ● Endogenous adjuvants released from dying tumors: CDN (STING ligand), ATP, HMGB1 ● Gut microbiome products: TLR ligands 	IL-10, IL-4, IL-13	Dendritic cell maturity	Lippitz, 2013; Mellman et al., 2011
3. Priming and activation	CD28:B7.1, CD137 (4-1BB)/CD137L, OX40:OX40L, CD27:CD70, HVEM, GITR, IL-2, IL-12	CTLA4:B7.1, PD-L1:PD-1, PD-L1:B7.1, prostaglandins	Central tolerance, T cell repertoire, T regulatory cells	Franciszewicz et al., 2012; Lippitz, 2013; Riella et al., 2012; So et al., 2006
4. Trafficking of T cells to tumors	CX3CL1, CXCL9, CXCL10, CCL5			Franciszewicz et al., 2012; Peng et al., 2012
5. Infiltration of T cells into tumors	LFA1:ICAM1, selectins	VEGF, endothelin B receptor		Franciszewicz et al., 2013
6. Recognition of cancer cells by T cells	T cell receptor	Reduced peptide-MHC expression on cancer cells		Mellman et al., 2011
7. Killing of cancer cells	IFN- γ , T cell granule content	PD-L1:PD-1, PD-L1:B7.1, TIM-3:phospholipids, BTLA, VISTA, LAG-3, IDO, Arginase, MICA:MICB, B7-H4, TGF β	T regulatory cells, myeloid-derived suppressor cells, M2 macrophages, hypoxia	Chen et al., 2012; Greaves and Gribben, 2013; Mellman et al., 2011; Topalian et al., 2012a

Tabela 1: Ciclo de Imunidade Tumoral: Exemplos de reguladores positivos e negativos em cada etapa ¹¹

Abreviaturas são conforme o seguinte: CDN, cyclic dinucleotide; ATP, adenosine triphosphate; HMGB1, high-mobility group protein B1; HVEM, herpes virus entry mediator; GITR, glucocorticoid-induced TNFR family-related gene; CXCL/CCL, chemokine motif ligands; LFA1, lymphocyte function-associated antigen-1; ICAM1, intracellular adhesion molecule 1; BTLA, B- and T-lymphocyte attenuator; VISTA, V-domain Ig suppressor of T cell activation; LAG-3, lymphocyte-activation gene 3 protein; MIC, MHC class I polypeptide-related sequence protein; TIM-3, T cell immunoglobulin domain and mucin domain-3.

General tumour escape strategies	Tumour escape mechanisms	Clinical significance
Reduced immune recognition	Absence of strong tumour antigens	Experimental: enhancement via dendritic cell manipulation/vaccination strategies
	Loss of MHC class I (e.g. loss of chromosome 6), class I-like and co-stimulatory factors	Experimental: <i>ex vivo</i> -stimulated NK-/T-cell transfer [93] or stimulation of NK cells via fully humanized anti-KIR antibodies [94]
Increased resistance or survival	Increased expression of STAT3 (↑ proliferation, ↓ apoptosis) or of BCL-2 (↓ apoptosis), etc	Limited: drugs targeting STAT3 [203] or BCL-2 [204]
Development of an immunosuppressive tumour environment	Expression of cytokines: VEGF, IL-10 or TGFβ	Limited: see section on NK and T cells and macrophages
	Expression of immunoregulatory molecules: IDO, B7 family checkpoint molecules (PD-1/PD-L1, CTLA-4, VISTA, B7-H4, BTLA), TIM3/galectin9, LAG-3, sMICA, etc	Promising: B7 family checkpoint molecules (see text)
	Expression of CD73, adenosine receptors (limiting antitumour T-cell immunity)	Experimental: anti-CD73/anti-CD39 monoclonal antibodies [205]

Tabela 2: Resumo dos mecanismos imunitários de fuga, as suas consequências e possíveis soluções clínicas ¹³

Abreviaturas são conforme o seguinte: TGFβ, transforming growth factor-beta; KIR, killer immunoglobulin-like receptors.

Product	Target	Tumor	Start date	Academic institution	Industry collaborator	Phase	Construct (scFv-CD-SD)	Gene-editing	Active clinical trials	Report status	Status	
1	CCR5 KO CD34+ HSC	NA	HIV+ hematologic malignancies	May 17	Affiliated Hospital to Academy of Military Medical Sciences, China	NA	1	NA	CCR5 CRISPR KO	NCT03164135	NA	R
2	PD1 KO T cells	NA	Advanced esophageal cancer	Mar. 17	Hangzhou Cancer Hospital, China	Anhui Kedgene Biotechnology Co., Ltd	2	NA	PD-1 CRISPR KO	NCT03081715	NA	R
3	PD1 KO T cells	NA	Muscle-invasive bladder cancer	Sep. 16	Peking University, China	Cell Biotech Co., Ltd	1	NA	PD-1 CRISPR KO	NCT02863913	NA	NYR
4	PD1 KO T cells	NA	Castration-resistant prostate cancer	Nov. 16	Peking University, China	Cell Biotech Co., Ltd	1	NA	PD-1 CRISPR KO	NCT02867345	NA	NYR
5	PD1 KO T cells	NA	Metastatic renal cell carcinoma	Nov. 16	Peking University, China	Cell Biotech Co., Ltd	1	NA	PD-1 CRISPR KO	NCT02867332	NA	NYR
6	PD1 KO T cells	NA	Metastatic non-small cell lung cancer	Aug. 16	Sichuan University, China	Chengdu MedGenCell, Co., Ltd.	1	NA	PD-1 CRISPR KO	NCT0279385	NA	R
7	UCART19	CD19	B-cell neoplasms	Nov. 16 Aug. 16 Jun. 16	KCLUCL, London, UK	Servier/Cellectis	1	4g7-CD8-41BB-CD3z	TCR and CD52 TALEN KO	NCT02735083 NC-T02746952 NCT02808442	(35)	R R R
8	UCART19	CD19	B-cell leukemia/lymphoma	Jun. 17	Chinese PLA General Hospital, China	NA	1	4-1BB-CD3z	TCR, B2M CRISPR KO	NCT03166878	NA	R
9	UCART123	CD123	BPDCA/AML	Jun. 17 Jun. 17	Weill Cornell Medical College, USA	Cellectis SA	1	NA-CD8-41BB-CD3z	TCR and CD52 TALEN KO	NCT03203369 NCT03190278	NA	S S
10	EBV-CTL	EBV antigens	Advanced Stage Epstein-Barr Virus (EBV) Associated Malignancies	Apr. 17	The Affiliated Nanjing Drum Tower Hospital of Nanjing University Medical School	NA	1/2	NA	PD-1 CRISPR KO	NCT03044743	NA	R

HIV human immunodeficiency virus, *BPDCA* Blastoid plasmocytoid dendritic cell neoplasm, *AML* acute myeloid leukemia, *R* recruiting, *NYR* not yet recruiting

Tabela 3: Ensaios clínicos em imunoterapia na área da transferência celular adotiva utilizando linfócitos T (a decorrer atualmente) ⁴⁵

Vaccine design	Product	Schedule	Disease	Ref.
<i>Soluble peptide/proteins</i>				
SLP (20-35aa long)	Mixtures of HPV-E6 SLP (n = 9) + HPV-E7 SLP (n = 4)	13 SLP + IFA q1wx3-4	VN grade 3	[17]
IMA-901	Mixtures of 11 naturally presented tumor CTL peptides + 1 Th peptide	CYx1+ IMA-901+ GM-CSF q2wx18	Advanced RCC	[18]
recMAGE-A3	recMAGE-A3	recMAGE-A3+ AS15 q2wx6 → q3mox4 → q6mox4	Cutaneous melanoma Stage III-IV, M1	[19,21]
recMAGE-A3	recMAGE-A3	recMAGE-A3+ AS02B q3wx5 → q3mox8	NSCLC postoperative Stage IB/II	[20,21]
AE37	li-key/HER2 (776-790)	AE37+ GM-CSF q1mox6 → boosters q6mo	<ul style="list-style-type: none"> Breast cancer disease free, node-negative at high risk for recurrence Breast cancer node-positive Prostate cancer HER2+, CR and CS 	[31-34]
<i>Autologous DCs</i>				
Sipuleucel-T	DCs loaded with recPAP/GM-CSF	Sipuleucel-T q2wx3	CRPC asymptomatic or minimally symptomatic	[22,23]
AGS-003	DCs double transfected with autologous tumor mRNA and CD40L mRNA	Sunitinib (4w on-2w off) + AGS-003 q3wx5 → AGS-003 q12w until progression	Advanced RCC	[24]
<i>Recombinant Pox viral vectors</i>				
PROSTVAC	recVaccinia(V)-PSA-B7.1/ICAM-1/LFA3 (PSA-TRICOM) recFowlpox(F)-PSA-TRICOM	recV-PSA-TRICOMx1 → recF-PSA TRICOM q1mox5	CRPC asymptomatic or minimally symptomatic	[25,28]
PANVAC	recV-CEA-MUC1-B7.1/ICAM-1/LFA3 (recF-PANVAC) recF-CEA-MUC1-B7.1/ICAM-1/LFA3 (recF-PANVAC)	recV-PANVAC x1 → recF-PANVAC x3 q2w → q4w while on study	Breast, ovarian metastatic	[27,30]

AE: Adverse effect; CR: Castrate-resistant; CRPC: Castration-resistant prostate cancer; CS: Castrate-sensitive DCs: Dendritic cells; RCC: Renal cell carcinoma; SLP: Synthetic long peptides; VN: Vulvar intraepithelial neoplasia.

Tabela 4: Plataformas de vacinas multivalentes em desenvolvimento clínico ⁵⁷

Variable	Durvalumab (N=443) [†]	Placebo (N=213) [†]	Treatment Effect [‡]	P Value
Objective response				
No. of patients with response	126	34		
% of patients (95% CI)	28.4 (24.3–32.9)	16.0 (11.3–21.6)	1.78 (1.27–2.51)	<0.001
Best overall response — no. (%)[§]				
Complete response	6 (1.4)	1 (0.5)		
Partial response	120 (27.1)	33 (15.5)		
Stable disease	233 (52.6)	119 (55.9)		
Progressive disease	73 (16.5)	59 (27.7)		
Could not be evaluated	10 (2.3)	1 (0.5)		
Duration of response — mo				
Median	NR	13.8	0.43	
95% CI		6.0–NR	0.22–0.84	
Ongoing response at data cutoff point — %[¶]				
At 12 mo	72.8	56.1		
At 18 mo	72.8	46.8		

* The tumor response was assessed by means of blinded independent central review. NR denotes not reached.
[†] The analysis was performed with data from patients with measurable disease at baseline as determined by either of the two independent central reviewers.
[‡] The relative risk (95% CI) is shown for the objective response rate, and the hazard ratio (95% CI) is shown for the duration of response. Placebo was the reference group when relative risk and hazard ratio were calculated; therefore, a relative risk greater than 1 is in favor of durvalumab and a hazard ratio less than 1 is in favor of durvalumab.
[§] One patient could not be included in any of the best-overall-response categories because of inconsistency in the baseline assessment for measurable disease between the two independent central reviewers.
[¶] Percentages were calculated with the use of the Kaplan–Meier method.

Tabela 5: Resultados do ensaio clínico do Durvalumab ⁴¹

	Cutaneous melanoma <i>n</i> (%; 95% CI)	Mucosal melanoma <i>n</i> (%; 95% CI)	Total <i>n</i> (%; 95% CI)
Central review	(<i>n</i> =29)	(<i>n</i> =8)	(<i>n</i> =37)
Overall response	7 (24.1%, 10.3–43.5)	2 (25.0%, 3.2–65.1)	9 (24.3%, 11.8–41.2)
Complete response	2 (6.9%, 0.8–22.8)	0	2 (5.4%, 0.7–18.2)
Partial response	5 (17.2%, 5.8–35.8)	2 (25.0%, 3.2–65.1)	7 (18.9%, 8.0–35.2)
Stable disease	7 (24.1%, 10.3–43.5)	2 (25.0%, 3.2–65.1)	9 (24.3%, 11.8–41.2)
Progressive disease	14 (48.3%, 29.4–67.5)	4 (50.0%, 15.7–84.3)	18 (48.6%, 31.9–65.6)
Non-evaluable	1 (3.4%, 0.1–17.8)	0	1 (2.7%, 0.1–14.2)
Investigator review	(<i>n</i> =34)	(<i>n</i> =8)	(<i>n</i> =42)
Overall response	9 (26.5%, 12.9–44.4)	3 (37.5%, 8.5–75.5)	12 (28.6%, 15.7–44.6)
Complete response	2 (5.9%, 0.7–19.7)	0	2 (4.8%, 0.6–16.2)
Partial response	7 (20.6%, 8.7–37.9)	3 (37.5%, 8.5–75.5)	10 (23.8%, 12.1–39.5)
Stable disease	14 (41.2%, 24.6–59.3)	2 (25.0%, 3.2–65.1)	16 (38.1%, 23.6–54.4)
Progressive disease	11 (32.4%, 17.4–50.5)	3 (37.5%, 8.5–75.5)	14 (33.3%, 19.6–49.5)
Median time to response, weeks (range)	12.3 (12–18)	17.8 (12–24)	12.3 (12–24)
Median duration of response, weeks (range)	NR (17 to 37+)	NR (24+ to 36+)	NR (17 to 37+)

NR not reached

Tabela 6: Resultados do ensaio clínico KEYNOTE-041 ⁷⁴

Trial and treatment	ORR, %	FFS			OS		
		Median, mo	HR (95% CI)	P	Median, mo	HR (95% CI)	P
RECORD-1 [10]							
Best supportive care	0	1.9	0.33 (0.25–0.43)	0.001	14.4	0.87 (0.65–1.15)	0.162
Everolimus	2	4.9			14.8		
INTORSECT [11]							
Sorafenib	8	3.9	0.87 (0.71–1.07)	0.19	16.6	1.31 (1.05–1.63)	0.01
Temsirolimus	8	4.3			12.3		
AXIS [12,13]							
Sorafenib	9	4.7	0.67 (0.54–0.81)	<0.0001	19.2	0.97 (0.8–1.17)	0.37
Axitinib	19	6.7			20.1		
METEOR [14]							
Everolimus	5	3.8	0.58 (0.45–0.75)	<0.001	NR	0.67 (0.51–0.89)	0.005
Cabozantinib	21	7.4			NR		
CheckMate 025 [3]							
Everolimus	5	4.4	0.88 (0.75–1.03)	0.11	19.6	HR (98.5% CI) 0.73 (0.57–0.93)	0.002
Nivolumab	25	4.6			25.0		

Tabela 7: Endpoints dos vários estudos clínicos de fase III realizados com doentes com carcinoma das células renais, no qual se inclui o CheckMate-025 que comprova o benefício clínico do nivolumab em relação às outras opções terapêuticas ⁴⁶

All Control Patients With Protocol-Defined Disease Progression	
Cox regression model, stratified by study (D9903, PB01; n=216)	
APC8015F treatment effect (unadjusted)	HR=0.53 (95%CI: 0.38, 0.74); P<0.001
Adjusted for baseline PSA and LDH	HR=0.56 (95%CI: 0.40, 0.80); P=0.001
Cox-regression model, adjusted for baseline values for patient characteristics (n=215) ¹	
APC8015F treatment effect	HR=0.78 (95%CI: 0.54, 1.11); P=0.17
Docetaxel effect	HR=0.86 (95%CI: 0.60, 1.22); P=0.40
Control Patients On Impact Study With Protocol-Defined Disease Progression	
Cox-regression model, adjusted for most recently collected values for patient characteristics (n=141) ²	
APC8015F treatment effect	HR=0.81 (95%CI: 0.51, 1.30); P=0.39
Docetaxel effect	HR=0.71 (95%CI: 0.45, 1.10); P=0.12
¹ Model terms considered but not included in the final model due to lack of statistical significance were baseline PSA, study, prior docetaxel usage, Gleason sum, primary Gleason grade, and bisphosphonate usage. One subject was excluded from the analysis due to a missing baseline covariate.	
² Model terms considered but not included in the final model due to lack of statistical significance were prior docetaxel usage, the most recently collected hemoglobin and PSA velocity values, baseline values for Gleason sum, primary Gleason grade, current bisphosphonate use, and number of bone metastases	

Tabela 8: Resultados do ensaio de fase III da Sipuleucel-T ⁷⁹