

Monoterapia ou terapia combinada com inibidores de checkpoint imunológico: comparando efeitos aditivos e mecanismos diferenciais na resposta antitumoral

Monotherapy or combination therapy with immune checkpoint inhibitors: comparing additive effects and differential mechanisms in antitumor response

Monoterapia o terapia combinada con inhibidores de puntos de control inmunológico: comparando efectos adicionales y mecanismos diferenciales en la respuesta antitumoral

DOI: 10.5281/zenodo.13729930

Recebido: 21 jul 2024

Aprovado: 23 ago 2024

Maria Fernanda Figueiredo de Souza

Estudante de graduação de Medicina
Faculdade de Medicina de Petrópolis
Petrópolis - Rio de Janeiro, Brasil
nandapuca@gmail.com

Gabriel Pessanha Amorim

Estudante de graduação de Medicina
Faculdade de medicina de Petrópolis
Petrópolis - Rio de Janeiro, Brasil
gabriel@rimil.com.br

Ana Carolina de Oliveira Rodrigues

Estudante de graduação de Medicina
Faculdade de Medicina de Petrópolis
Petrópolis - RJ, Brasil
anacor@alu.unifase-tj.edu.br

Joanna Dale Coutinho Pereira Silva

Estudante de graduação de Medicina
Faculdade de Medicina de Petrópolis
Petrópolis - RJ, Brasil
joannadale.coutinho@gmail.com

Isabela Stumpf Marques

Estudante de graduação de Medicina
Faculdade de Medicina de Petrópolis
Petrópolis - RJ, Brasil
isabelastumpfmарques@hotmail.com

Aline Grandis Guimarães

Graduada em Gestão Hospitalar pela Faculdade Estácio de Sá, 2022
Estudante de graduação de Medicina
Faculdade de Medicina de Petrópolis
Petrópolis - Rio de Janeiro, Brasil
alinegrandis@hotmail.com

Joana Gonzalez Ambrosio Izzo do Amaral

Estudante de graduação de Medicina
Faculdade de medicina de Petrópolis
Rio de Janeiro- Rio de Janeiro, Brasil
joana.ambrosio@hotmail.com

Patricia Quadrio de Oliveira Veiga

Estudante de graduação de Medicina
Faculdade de Medicina de Petrópolis
Petrópolis - Rio de Janeiro, Brasil
pat.patveiga@gmail.com

Gustavo Andrade Vitoi

Estudante de graduação de Medicina
Faculdade de Medicina de Petrópolis
Juiz de Fora - Minas Gerais, Brasil
gustavo.vitoi@gmail.com

Giovanna Avallone

Estudante de graduação de Medicina
Faculdade de Medicina de Petrópolis
Petrópolis - RJ, Brasil
giovanna_avallone@hotmail.com

RESUMO

O câncer é um problema de saúde pública no Brasil e no mundo, com estimativas de 18 milhões de novos casos surgindo globalmente em 2018 e mais de 600 mil novos casos no Brasil em 2020. A mortalidade relacionada à doença é alarmante, com 9,6 milhões de óbitos por câncer em 2018. As células do sistema imune, principalmente os linfócitos T CD8, desempenham um papel fundamental na defesa contra tumores. No entanto, os mecanismos de evasão imunológica, como a diminuição da expressão de MHC de classe I nas células tumorais e a ação de checkpoints imunológicos como CTLA-4 e PD-1, dificultam a eficácia da resposta imune. O CTLA-4 inibe a ativação de linfócitos, enquanto o PD-1, ao interagir com seus ligantes, limita a função dos linfócitos, favorecendo a sobrevivência tumoral. A imunoterapia de bloqueio de checkpoint, com fármacos como Ipilimumabe (anti-CTLA-4) e Nivolumabe (anti-PD-1), tem mostrado resultados promissores, aumentando a sobrevida e a resposta em pacientes com câncer. A combinação dessas terapias apresenta melhores resultados do que as monoterapias, mostrando maior eficácia e capacidade de ativação de células T efetoras. No entanto, existem preocupações quanto aos efeitos adversos e à compreensão dos mecanismos moleculares envolvidos. A terapia combinada induz um perfil de expressão de genes e uma resposta imunológica distinta, sugerindo ações sinérgicas. Apesar dos resultados encorajadores, a necessidade de mais pesquisas para compreender plenamente essa sinergia e otimizar a terapia continua evidente, a fim de melhorar a aplicação clínica e os padrões de tratamento para o câncer.

Palavras-chave: Inibidores de checkpoint, Anti-PD-1, Anti-CTLA-4, Terapia combinada, Sinergismo.

ABSTRACT

Cancer is a public health issue in Brazil and worldwide, with estimates of 18 million new cases emerging globally in 2018 and over 600,000 new cases in Brazil in 2020. The mortality related to the disease is alarming, with 9.6 million cancer-related deaths in 2018. Immune system cells, particularly CD8 T lymphocytes, play a crucial role in defending against tumors. However, mechanisms of immune evasion, such as decreased expression of class I MHC on tumor cells and the action of immune checkpoints like CTLA-4 and PD-1, hinder the effectiveness of the immune response. CTLA-4 inhibits lymphocyte activation, while PD-1, upon interacting with its ligands, limits the function of

lymphocytes, favoring tumor survival. Checkpoint blockade immunotherapy, with drugs such as Ipilimumab (anti-CTLA-4) and Nivolumab (anti-PD-1), has shown promising results, increasing survival and response in cancer patients. The combination of these therapies shows better outcomes than monotherapy, demonstrating greater efficacy and activation of effector T cells. However, there are concerns about adverse effects and the understanding of the underlying molecular mechanisms. Combined therapy induces a distinct gene expression profile and immune response, suggesting synergistic actions. Despite encouraging results, the need for further research to fully comprehend this synergy and optimize therapy remains evident, aiming to improve clinical application and treatment standards for cancer.

Keywords: Checkpoint Inhibitors, Anti-PD-1, Anti-CTLA-4, Combined Therapy, Synergism.

RESUMEN

El cáncer es un problema de salud pública en Brasil y en todo el mundo, con estimaciones de 18 millones de nuevos casos surgidos a nivel global en 2018 y más de 600,000 nuevos casos en Brasil en 2020. La mortalidad relacionada con la enfermedad es alarmante, con 9.6 millones de muertes por cáncer en 2018. Las células del sistema inmunológico, particularmente los linfocitos T CD8, desempeñan un papel crucial en la defensa contra los tumores. Sin embargo, los mecanismos de evasión inmunológica, como la disminución de la expresión de MHC de clase I en las células tumorales y la acción de los puntos de control inmunológicos como CTLA-4 y PD-1, dificultan la efectividad de la respuesta inmune. El CTLA-4 inhibe la activación de los linfocitos, mientras que el PD-1, al interactuar con sus ligandos, limita la función de los linfocitos, favoreciendo la supervivencia tumoral. La inmunoterapia de bloqueo de puntos de control, con fármacos como el Ipilimumab (anti-CTLA-4) y el Nivolumab (anti-PD-1), ha mostrado resultados prometedores, aumentando la supervivencia y la respuesta en pacientes con cáncer. La combinación de estas terapias presenta mejores resultados que la monoterapia, demostrando una mayor eficacia y activación de las células T efectoras. Sin embargo, existen preocupaciones sobre los efectos adversos y la comprensión de los mecanismos moleculares subyacentes. La terapia combinada induce un perfil de expresión génica y una respuesta inmune distinta, sugiriendo acciones sinérgicas. A pesar de los resultados alentadores, la necesidad de más investigaciones para comprender plenamente esta sinergia y optimizar la terapia sigue siendo evidente, con el objetivo de mejorar la aplicación clínica y los estándares de tratamiento para el cáncer.

Palabras clave: Inhibidores de Puntos de Control, Anti-PD-1, Anti-CTLA-4, Terapia Combinada, Sinergismo.

1. INTRODUÇÃO

O câncer é uma doença de alta prevalência global, afetando a área econômica e da saúde. O controle da massa tumoral pela atividade dos linfócitos T CD8 é o principal mecanismo de defesa contra o câncer. Checkpoints imunológicos são proteínas ativatórias ou inibitórias que controlam a atividade dos linfócitos T. Dentre os receptores de checkpoints, destacam-se o CTLA-4 e o PD-1. No microambiente do tumor, a inibição por estes receptores leva os linfócitos T CD8 a um estado de exaustão, permitindo a evasão ao sistema imune e o crescimento da massa tumoral. A imunoterapia do câncer é promissora, sendo mais específica e menos tóxica, e objetiva resgatar os linfócitos T CD8 dessa exaustão. Neste sentido, o Ipilimumabe (anti-CTLA-4) e o Nivolumabe (anti-PD-1) são anticorpos monoclonais que objetivam inibir a interação destes receptores com seus ligantes. A terapia combinada (N+I) desses anticorpos apresenta uma boa eficácia na clínica quando comparada às monoterapias. Não é claro se isso se deve a um mecanismo

exclusivo evocado pela terapia combinada ou a um mero efeito aditivo da ação dos dois anticorpos, quando utilizados em conjunto.

A partir disso, foi formulada uma pergunta científica norteadora com base nos critérios de corte da metodologia do PICO, sendo ela: “a maior eficácia da terapia combinada de Nivolumabe e Ipilimumabe está associada a mecanismos moleculares exclusivos não observados nas monoterapias com esses mesmos agentes, em pacientes com câncer?”. Com base nessa pergunta, foi feita a presente revisão sistemática, que busca elucidar os diferentes mecanismos moleculares envolvidos na maior eficácia da terapia combinada que utiliza esses anticorpos monoclonais quando em comparação com as monoterapias no tratamento de pacientes com câncer.

O objetivo do presente trabalho é esquematizar uma revisão sistemática sobre os mecanismos moleculares envolvidos na maior a eficácia da terapia combinada de Nivolumabe com Ipilimumabe quando em comparação com as monoterapias desses anticorpos no tratamento de pacientes com câncer.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

Apesar de a distribuição de câncer no mundo não seja homogênea (Garofolo, 2020), estimou-se o surgimento de 18 milhões de novos casos de câncer no ano de 2018 (Bray, 2020.). No Brasil, com mais de 600 mil novos casos em 2020, o câncer se destaca como um grande problema de saúde pública - sendo as taxas de incidência maiores para homens do que mulheres e compatíveis com as taxas para países emergentes (Bittencourt, 2004). Responsável por aproximadamente 9,6 milhões de óbitos em 2018 (Bray, 2020.), o crescimento da incidência de câncer não afeta apenas o setor de saúde, mas também possui efeito significativo em âmbito econômico: o custo anual total para tratamentos de neoplasias, no ano de 2010, somou mais de um trilhão de dólares (Stewart, 2014).

O organismo humano possui defesas próprias contra o câncer, que consistem em mecanismos mediados por células do sistema imune. Embora outras populações celulares possam estar envolvidas, o principal mecanismo de controle do tumor, é a morte celular mediada pelos linfócitos T CD8. O potencial de erradicar as células tumorais se deve a capacidade de migração dos linfócitos T citotóxicos (CTLs) para o ambiente tumoral e, após o reconhecimento das células malignas, efetuar uma resposta citotóxica, através da liberação de perforinas e granzimas (Leclerc, 2019). No entanto, com o crescimento dos tumores, esses processos tendem a ser evadidos, como por menor expressão de complexo principal de histocompatibilidade (MHC) de classe I na superfície das células tumorais (Leclerc, 2019) ou por intermédio de checkpoints (Zamarin, 2020; Kooshkaki, 2020). Os checkpoints imunológicos consistem em vias estimulatórias e inibitórias que regulam a atividade de linfócitos CD8+ — mecanismo que previne a autoimunidade, além

de proteger tecidos próprios durante as infecções(8,9). Entretanto, em pacientes com câncer, a expressão de proteínas do checkpoint pode ser desregulada pelas células tumorais (Marin-Acevedo, 2018; Pardoll, 2012) — processo que reduz a atividade dos CTLs contra as células malignas.

As moléculas CTLA-4 e PD-1 são proteínas do checkpoint que estão envolvidas na evasão imunológica realizada pelas células tumorais. Ambas as moléculas passam a ser mais expressas na membrana dos linfócitos T (LT) quando eles são ativados via receptor de célula T (TCR) (Salmaninejad, 2019; Sharpe, 2017). A molécula de PD1 é uma proteína transmembrana presente em diversas células do sistema imune, e os ligantes dessa proteína de membrana, como as moléculas de PD-L1 e de PD-L2, são expressos em células apresentadoras de antígenos (APCs) e células tumorais (Abril-Rodriguez, 2017). Quando as APCs fornecem o sinal de ativação para os linfócitos, o PD-1, ligado a um dos seus ligantes, inibe vias de sinalização importantes, ativadas pelos sinais do TCR e do CD28, o que reduz a atividade e proliferação da célula T. As células cancerosas podem ter uma alta expressão desses ligantes de PD-1 devido a ativação de diferentes vias oncogênicas, inibindo os linfócitos TCD8, evadindo a resposta imune anti-tumoral, uma vez que induzem um processo de exaustão nesses linfócitos. O CTLA-4, por sua vez, é outro receptor do linfócito T que controla a resposta imune. Essa molécula compete com o receptor CD28 pela ligação ao B7; O CTLA-4 possui maior afinidade pelo B7 que o CD28, sendo um antagonista da coestimulação mediada por CD28. Além disso, as células T reguladoras (Tregs) também expressam constitutivamente o CTLA-4 e, nelas, a interação entre esse receptor e o B7 contribui para a função inibitória sobre os linfócitos T.

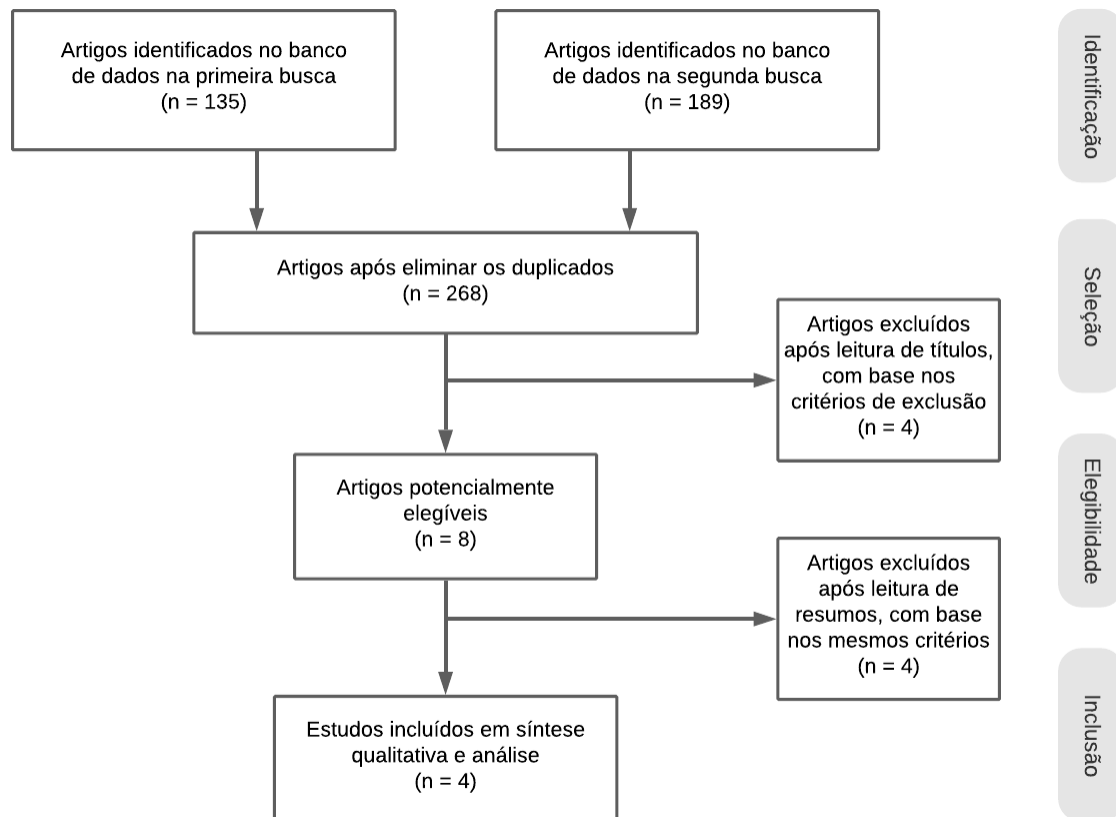
Nesse contexto, a imunoterapia do câncer vem se apresentando promissora, já que busca aprimorar o próprio sistema imune dos pacientes na destruição das células cancerosas, evitando os efeitos tóxicos das terapias convencionais, que apenas controlam células em divisão (Boutros, 2016). Artigos publicados recentemente apontam que dentre as imunoterapias do câncer, uma das mais usadas e aprovadas para uso clínico é a terapia de anticorpos monoclonais para inibir os checkpoints imunológicos (terapia do checkpoint imunológico), cujos alvos mais estudados e reconhecidos são as moléculas do CTLA-4 e da via do PD-1/PD-L1. Dessa forma, a descoberta das vias PD-1/PD-L1 e do CTLA-4, realizadas por James P. Allison e Tasuku Honjo, consolidou o espaço da imunoterapia de checkpoint imunológico nas pesquisas e testes clínicos (Altmann, 2018; Kimiz-Gebologlu, 2018). Em diversos países, o uso clínico de anticorpos monoclonais é aprovado para tratamento de diversos tipos de câncer, sendo Ipilimumabe (antagonista de CTLA-4) e Nivolumabe (antagonista de PD-1) os mais usados. Assim, essas terapias promovem o bloqueio dessas vias na tentativa de preservação da resposta imune para atuação em cima das células tumorais.

Com índices de sobrevida e de resposta objetiva mais altos que a monoterapia de Nivolumabe ou de Ipilimumabe, a terapia combinada desses anticorpos monoclonais apresenta uma potencial abordagem terapêutica. Por meio de pesquisas que demonstram maior resposta à terapia combinada, é perceptível o avanço no tratamento do câncer, embora existam preocupações quanto a efeitos adversos. Todavia, o tratamento combinado se apresenta promissor quando comparado à monoterapia (Yang, 2020), apesar de ainda não possuir a ação sinérgica desses anticorpos completamente elucidada.

3. METODOLOGIA

Para o estabelecimento da problemática, foi utilizada a metodologia PICO. Foi realizada uma revisão sistemática com base em busca no banco de dados da PubMed. Na primeira busca, os seguintes descritores foram utilizados através da ferramenta de pesquisa avançada: "anti-ctla-4" AND "anti-pd-1" AND "mechanism", o que resultou em 135 entradas. Em seguida, uma segunda busca foi realizada, com novos descritores, incluindo "anti-ctla-4" AND "anti-pd-1" AND "immunology" AND "combined", e como resultado foram obtidas 189 entradas. Após eliminação dos resultados duplicados, chegou-se a um total de 268 trabalhos. Dentre eles, foram excluídos pela leitura do título aqueles que aparentemente: não possuíam como cerne de sua abordagem os mecanismos imunológicos ou biomoleculares da terapia combinada; admitiam foco em neoplasias específicas; relatavam apenas a eficácia da terapia combinada em resultados clínicos; ou contemplavam, como abordagem principal, os efeitos adversos. Após a exclusão com base nesses critérios, foram selecionados 8 artigos para a leitura de resumos. Posteriormente à leitura dos resumos, outros 4 artigos foram excluídos pelos mesmos critérios. Ao final do processo de apuração, 4 artigos do tipo estudo clínico, publicados entre 2015 e 2019, atenderam a todos os critérios de seleção. Na sequência, foi realizada a leitura na íntegra dos textos selecionados, seguida de síntese qualitativa e posterior análise dos resultados. Além disso, foram incluídas outras referências, contemplando revisões de literatura, ensaios e diretrizes clínicas, para a adequada contextualização.

Figura 1. Fluxograma de seleção de estudos, segundo critérios Prisma.



Fonte: autoria própria (2019).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. CÂNCER E RESPOSTA IMUNE ANTI-TUMORAL

O câncer, ou neoplasia, é uma patologia caracterizada pelo crescimento anormal de células. Os pesquisadores Hanahan e Weinberg, no ano de 2000, estabeleceram os "pilares do câncer" (do inglês hallmarks of cancer) como sendo os fatores necessários para que as células cancerosas consigam a proliferação elevada e a disseminação para outros tecidos e órgãos. Esses pilares consistem em vias energéticas desreguladas, em condições de instabilidade genômica, no escape da resposta tumoral e na inflamação como promotor tumoral. Assim, se o sistema imune adquirido não conseguir evitar a proliferação indefinida dessas células transformadas ou se não conseguir destruí-las antes que elas se tornem tumores nocivos, esse câncer se consolida.

A evasão da resposta imune antitumoral pode ser determinada por diversos mecanismos, dentre eles: a diminuição da expressão de MHC de Classe I na superfície do tumor (Burr, 2019); a falha na expressão

de um Ag que possa ser reconhecido pelas células do sistema imune (Schumacher, 2015); a secreção de citocinas inibitórias, como IL-10 e TGF- β (Buchbinder, 2016); e a presença de células que suprimem a resposta imunológica, como células Treg e MDSCs (Crispen, 2019).

4.2. TERAPIA DO CHECKPOINT IMUNOLÓGICO

Como citado anteriormente, os checkpoints imunológicos, fisiologicamente, tem a função de regular a resposta imune ajustando a atividade do linfócito CD8+. Muitas moléculas já foram identificadas como checkpoints imunológicos, sendo as duas mais estudadas o CTLA-4 e o PD-1. Os tumores malignos se aproveitam desse mecanismo fisiológico para estabelecer um mecanismo de imunoevasão. Dessa forma, os tumores que apresentam esses biomarcadores conseguem inibir a via de ativação de CTLs, que são células do sistema imune que possuem grande capacidade de se infiltrar e matar as células cancerígenas. Assim, a inativação dessas células garante a sobrevivência do câncer dentro do hospedeiro e favorecem o seu crescimento (MARIN-ACEVEDO, 2018). O bloqueio destas moléculas inibitórias têm como o objetivo permitir a ativação das células T efectoras e que elas cheguem ao tumor, conseguindo, então, atacar as células malignas. Dois fármacos foram desenvolvidos seguindo os princípios de mecanismo: o Ipilimumabe (anti-CTLA-4) e o Nivolumabe (anti-PD-1), sendo ambos já aprovados pela Food and Drug Administration (FDA) como terapia de diversos tipos de neoplasias malignas (WEI, 2018). Além disso, é preciso ressaltar que a imunoterapia que possui como alvo o checkpoint imunológico é mais tolerada do que terapias convencionais, como a quimioterapia (KRUGER, 2019). Porém, um dos desafios encontrados é a resistência que o tumor pode desenvolver ao longo do tratamento, mostrando que esse mecanismo que gera a inativação da resposta antitumoral deve ser mais elucidado. Assim, o melhor entendimento dessa via de inibição permitirá melhores e mais eficazes associações de estratégias terapêuticas para o combate ao câncer.

4.3. CTLA-4

O CTLA-4 é um receptor inibitório de linfócitos T, que os inativa após alguns ciclos de proliferação, atuando como um importante checkpoint imunológico. Nas células T CD8+ em repouso, o CTLA-4 se localiza primariamente em compartimentos intracelulares (Byun, 2017). Quando sinais estimulatórios induzem a ativação da célula T, também é gerada a upregulation da CTLA-4 na superfície celular, o que promove a translocação de vesículas contendo CTLA-4 para a membrana. Por outro lado, células T reguladoras CD4+ FoxP3+ expressam de forma constitutiva a molécula do CTLA-4 (Rotte, 2019), fato que se deve aos seus altos níveis da proteína FoxP3 (Melo, 2009).

O CTLA-4 é homólogo ao CD28 (Buchbinder, 2016), um receptor de linfócito T de ação coestimulatória. Esses dois receptores são da mesma família e competem pela ligação do B7 (também chamado CD80/CD86), um ligante encontrado em APCs (Kruger, 2019). A ligação B7:CD28 é o sinal estimulatório necessário após reconhecimento do MHC pelo TCR para ativação completa do linfócito T (Byun, 2017). No entanto, a ligação B7:CTLA-4 acontece com uma afinidade muito maior, o que pode prevenir a proliferação e até mesmo a ativação dos linfócitos T (Kooshkaki, 2020). A quantidade relativa à ligação CD28:B7 versus a ligação CTLA-4:B7 determina se uma célula T vai sofrer ativação ou anergia (Buchbinder, 2016).

Diversos mecanismos foram propostos para o papel inibitório do CTLA-4 na resposta de linfócitos T CD8. O mais intuitivo é a ausência do segundo sinal, já que o CTLA-4 torna as moléculas B7 indisponíveis para ligação com o CD28. A nível molecular, o CTLA-4 é acoplado à proteína-tirosina fosfatase SHP-2 (Pardoll, 2012; Schneider, 2000) (também chamada PTPN11), cuja ativação é importante para neutralizar os sinais de quinase que são induzidos pelo TCR e pelo CD28. Também já foi observado que a ativação de CTLA-4 inibe a produção de IL-2 e a progressão do ciclo celular, tendo em vista que essa é uma interleucina que induz proliferação de linfócitos T. Somado a isso, já foram descritas alterações nas vias Pi3K, NFkB e MAPK (Rotte, 2019) geradas pela ligação CTLA-4:B7. Por último, interferências na sinalização via CD28 podem levar a inibição direta da sinapse imune do TCR, e até mesmo por aumento da mobilidade de células T, levando à diminuição da sua habilidade de interagir com APCs. É provável que esses mecanismos citados ocorram simultaneamente e de maneira interconectada.

Sendo assim, a inibição do CTLA-4 induz uma resposta antitumoral eficaz, que pode ser observada na clínica através dos anticorpos monoclonais anti-CTLA-4. Pesquisas sugerem que o bloqueio de CTLA-4 favorece a ativação e proliferação de um número maior de células T efectoras, e também reduz a supressão imune mediada por células Treg (Buchbinder, 2016). Isso acontece principalmente pela ausência da sinalização inibitória do CTLA-4 nas células T efectoras, mas também pela liberação do B7, que antes estaria ligado ao CTLA-4 (tanto de Tregs, quanto de TCD8+). Sem a competição com o CTLA-4, agora ocorre a ligação CD28:B7, o que irá desencadear diversas vias de sinalização intracelular estimulatórias. Entre elas, podemos citar a cascata de ativação da MAPK (mitogen-activated protein kinase) (Fathman, 2007), que tem como resultado a formação do complexo AP-1 (activator protein). A simultânea ativação do TCR pelo MHC gera o NFAT (nuclear factor of activated T-cell signal), que unido ao AP-1 irá induzir a produção de IL-2. Como consequência, os linfócitos T CD8, agora ativos, conseguem proliferar e matar células tumorais (Rowshanravan, 2018).

O Ipilimumabe foi o primeiro anticorpo monoclonal anti-CTLA-4 completamente humanizado, que foi aprovado em 2011 pela FDA para tratamento de melanoma de estágio avançado. Baseado no resultado de ensaios clínicos de fase III (Mocellin, 2013), o tratamento com Ipilimumabe apresentou uma boa resposta e estabilização da doença nos pacientes: taxa de sobrevida é muito superior aos tratamentos convencionais como quimioterapia, e também aos tratamentos com vacinas de peptídeos.

4.4. PD-1

A molécula de PD-1, também chamada de CD279, é uma proteína transmembrana da superfamília B7-CD28 (Salmaninejad, 2019). Ela está presente na superfície de células imunológicas ativadas, como linfócitos T e B, células natural killer (NK), monócitos, células dendríticas e macrófagos (Sharpe, 2017). Essa molécula tem uma expressão aumentada na superfície das células T quando essa recebe sinais de estimulação, atuando como um checkpoint imunológico, limitando a sua proliferação e a produção de citocinas (Abril-Rodriguez, 2017).

A PD-1 possui ligantes, que são também moléculas de superfície, conhecidos como PD-L (do tipo PD-L1 ou PD-L2). A expressão do PD-L2 fica mais restrita às células dendríticas, macrófagos e mastócitos derivados da medula óssea, enquanto o PD-L1 é expresso em células imunes, e não-imunes. O ligante do tipo 1 pode, também, ser altamente expresso em células tumorais (Gao, 2018) e a interação do PD-1 com essas moléculas leva à inativação dos linfócitos - sendo que, fisiologicamente, esse mecanismo é fundamental para prevenção da autoimunidade e manutenção da tolerância ao próprio. Entretanto, o aumento da expressão de PD-L1 nas células tumorais, em muito mediado pela atividade de citocinas pró-inflamatórias produzidas no ambiente tumoral, pode consolidar um dos principais mecanismos de evasão do sistema imune.

Enquanto a função do PD-L2 na regulação da célula T parece, ainda, ser controversa na literatura, a interação do PD-1 com a molécula de PD-L1 reduz a ativação da célula T na medida em que ativa enzimas que inibem moléculas das vias de sinalização do TCR e do CD28 (responsáveis pelo sinal estimulatório e coestimulatório para o LTCD8+, respectivamente). Esses sinais inibitórios do PD-1 só acontecem se a sua molécula ligante estiver expressa na mesma célula que estará apresentando o complexo MHC:antígeno ao CTL. Sendo assim, durante ativação de TCD8+ através do reconhecimento do MHC:antígeno, a ligação PD-1/PD-L1 provoca o recrutamento de enzimas fosfatases (como a SHP2) responsáveis por inibir as vias de sinalização do TCR e do CD28 - como a via da PI3K/AKT (phosphoinositide-3-kinase/Akt), principal via de sinalização estimulatória, e a molécula LCK (tirosina quinase específica de leucócito), fundamental na fosforilação de outras moléculas da via de ativação do linfócito T, como a ZAP70. As vias de sinalização

que estão sendo inibidas seriam responsáveis por produzir fatores de transcrição, como NF-kappaB (fator nuclear kappa B), AP-1 e NFAT (nuclear factor of activated T-cell signal), importantes para ativação, crescimento, função efetora e proliferação da CTL. Além disso, a interação PD-1/PD-L1 pode induzir o fator de transcrição BATF (basic leucine zipper transcriptional factor ATF-like), que atua diretamente no núcleo reduzindo a sinalização do TCR e do CD28. Com isso, age como mais um fator de redução dos fatores de transcrição produzidos pelas vias de sinalização das moléculas estimulatórias, cursando com redução da proliferação celular, da produção de citocinas (como TNF-alfa e IL-2) e da sobrevivência das células.

Alguns tumores podem apresentar uma expressão constitutiva alta dos ligantes de PD-1 devido a ativação de diferentes vias oncogênicas, como IL-4 e IL-10 que aumentam a expressão do gene do PD1; além disso, a expressão do PD-L1 induzida por interferon- γ parece ser um dos principais mecanismos de upregulation dessa expressão. Sendo assim, diante de uma alta expressão de PD-L1, as células tumorais conseguem reduzir o número e induzir a anergia nos linfócitos TCD8, que são as principais células participantes da resposta imune anti-tumoral, conseqüentemente evadindo-a. Dessa forma, o bloqueio do receptor PD-1 ou do seu ligante com anticorpos monoclonais consolida um mecanismo interessante de aumento da resposta imune contra o câncer, já que favorece a manutenção do estado ativado desse linfócito e reduz o processo de anergia induzido pelo tumor, admitindo-se como um mecanismo promissor na terapia do câncer (Kimiz-Gebologlu, 2018; Yang, 2015).

Nesse contexto, um dos tratamentos clínicos utilizado é feito com administração de Nivolumabe, um anticorpo monoclonal do tipo IgG4 humanizado, antagonizando os eixos PD-1/PD-L1 e PD-1/PD-L2. A inibição da via PD-1/PD-L1 é a que tem maior eficácia terapêutica dentre elas, e o bloqueio dela resulta em aumento da resposta anti-tumoral mediado por células TCD8+ no microambiente tumoral (Gao, 2018). Além disso, o bloqueio da sinalização mediada pelo PD-1 mostrou respostas clínicas efetivas em pacientes com diferentes tipos de tumores sólidos e malignidades hematológicas. Na Europa, o Nivolumabe foi o primeiro inibidor de checkpoint aprovado para tratamento adjuvante em pacientes com melanoma (Salmaninejad, 2019; Kruger, 2019). Os testes clínicos com esse anticorpo avançaram muito rapidamente, e ele apresentou um alto perfil de segurança, além do tratamento com Nivolumabe estar associado com aumento da sobrevida geral e aumento da resposta objetiva em diferentes tipos de câncer, e também a uma resposta antitumoral durável e à progressão livre de tumor (Haanen, 2015; Boutros, 2016). Além disso, seu uso clínico foi aprovado desde 2014 para tratamento de melanoma metastático, e é usado em monoterapia ou em combinação com outros fármacos em diversos tipos de câncer, como carcinoma hepatocelular, câncer de colorretal, carcinoma de célula renal, melanoma, carcinoma urotelial metastático, carcinoma de célula

escamosa metastático, linfoma de Hodgkins, câncer de pulmão de células não-pequenas, e outros (Abril-Rodriguez, 2017; FDA, 2020).

Uma preocupação com esses medicamentos é que como estão inibindo um checkpoint do sistema imune importante no controle da função da célula T — inclusive na manutenção da tolerância periférica — as células imunológicas podem acabar atacando estruturas saudáveis do organismo, gerando efeitos adversos relacionados ao sistema imune (irAES), sendo a disfunção tireóidea o mais relatado no uso do Nivolumabe (Byun, 2017). Os efeitos colaterais são manejáveis, garantindo um perfil de segurança ao Nivolumabe, e a eficácia é maior quando em comparação aos tratamentos convencionais, como a quimioterapia (Sharpe, 2017; Haanen, 2015).

4.5. TERAPIA COMBINADA

Considerando os resultados promissores das terapias combinadas com Ipilimumabe e Nivolumabe (N+I), é intuitivo pensar que a terapia combinada traria efeitos aditivos. A terapia N+I tem sido comprovada mais eficaz no tratamento de diversos tipos de neoplasias malignas sólidas e hematológicas, em comparação com as monoterapias. A terapia combinada pode ser o tratamento de primeira escolha para pacientes com câncer de células renais e melanoma metastático não ressecável (Kruger, 2019; Gao, 2018). Dentre os benefícios da terapia combinada estão o aumento da sobrevida geral, progressão livre de tumor, aumento da taxa de resposta objetiva e regressão rápida do tumor. (Larkin, 2015; Farkona, 2016).

Os benefícios imunológicos associados a terapia combinada são: (a) maior ativação de clones de células T tumor-específicas(57); (b) aumento da produção de citocinas inflamatórias no tumor e em seus linfonodos drenantes(35)). Em ensaio randomizado de fase III para câncer de ovário, pacientes que utilizaram Nivolumabe mais Ipilimumabe (n=51) possuíram uma sobrevida livre de progressão média (SLPm) maior do que os que utilizaram Nivolumabe sozinho (n=49), admitindo valores de 3,9 e 2 meses, respectivamente, e eventos adversos grau ≥ 3 de 49% e 33%, respectivamente (Zamarin, 2020).

Outro ensaio randomizado, duplo-cego, de fase III para melanoma metastático, também demonstrou que, além de a terapia combinada desses anticorpos começarem a agir antes das monoterapias de Nivolumabe ou Ipilimumabe sozinhos, a SLPm e taxas de resposta objetiva também foram superiores no grupo da terapia combinada, tendo valores de, respectivamente, 6,5 meses e 43,7% para Nivolumabe, 11,5 meses e 57,6% para Nivolumabe mais Ipilimumabe e 2,9 meses e 19% para Ipilimumabe. Entretanto, foram observados maiores manifestações de eventos adversos (EAs) no grupo da terapia combinada (95,5%), seguido pelo Ipilimumabe (86,2%) e, por último, Nivolumabe (82,1%); contudo os EAs encontrados na terapia combinada foram semelhantes àqueles manifestados em experiências anteriores com

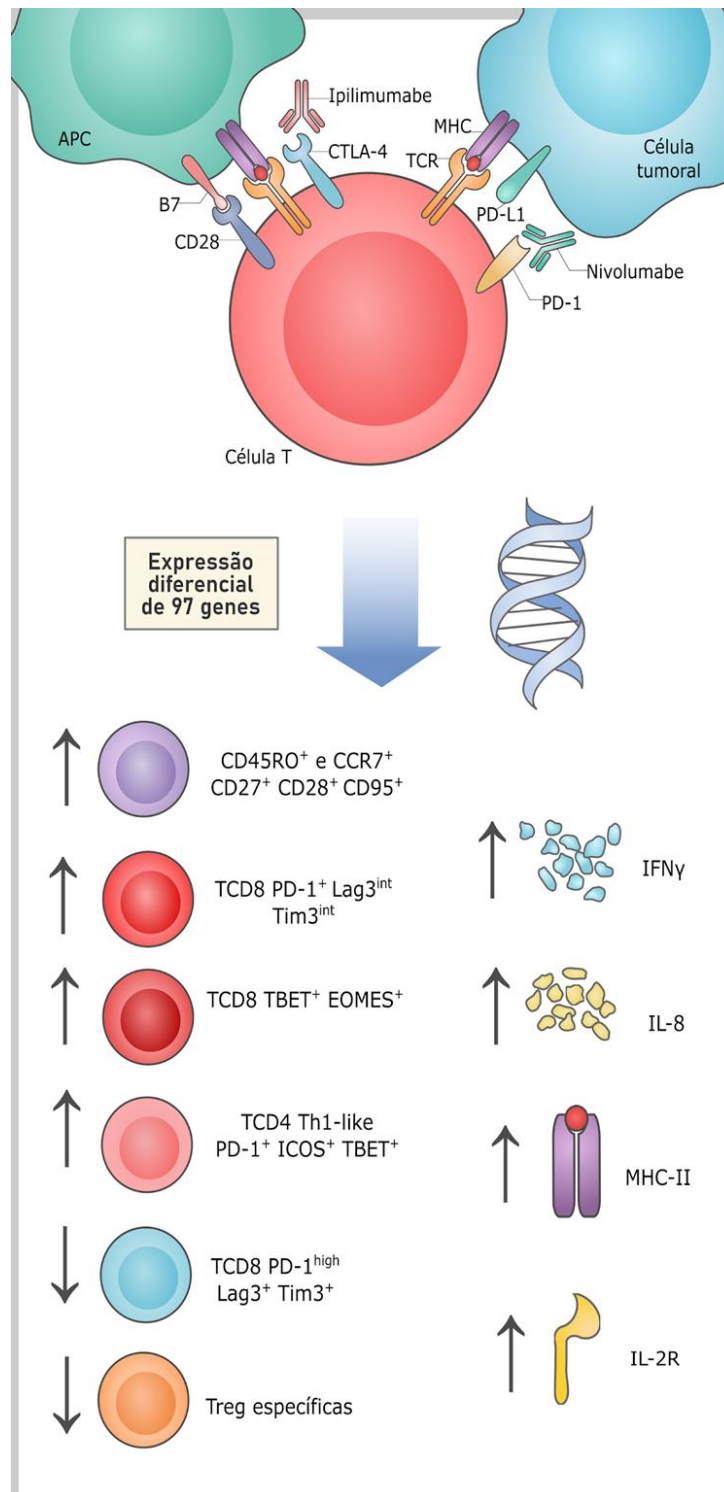
as monoterapias, sendo eles manejáveis (Larkin, 2015). Análises de um ensaio clínico CheckMate 067 de fase III ainda para melanoma demonstrou aumento significativo da taxa de resposta objetiva, maior sobrevida livre de progressão tumoral e uma sobrevida geral de cinco anos numa grande porcentagem de pacientes do grupo submetido a terapia combinada, em comparação àqueles submetidos à monoterapia (Larkin, 2019).

4.6. MECANISMO MOLECULAR DA TERAPIA COMBINADA

O avanço positivo dos bloqueios de checkpoint observado na clínica é dificultado pela compreensão limitada dos mecanismos biológicos envolvidos(43), já que permanece pouco preciso quais são os eventos moleculares e as populações celulares moduladas pelos anticorpos monoclonais, quando em combinação (Gide, 2019; Wei, 2017). A hipótese sustentada por algumas linhas de evidência aponta que, em terapias combinadas (como a de anti-CTLA-4 associado à anti-PD1), os mecanismos associados à resposta, regressão tumoral e progressão livre de tumor são diferentes quando comparados às monoterapias dos mesmos bloqueadores. Um conjunto de genes poderia ser diferencialmente expresso na terapia combinada, podendo assim, a resposta diferir em escalas biológicas, de nível molecular até impactos anatômicos (Wei, 2019). Uma questão importante seria a compreensão se na terapia N+I, são observados efeitos aditivos, ou se podem ser evocados mecanismos imunológicos distintos da monoterapia (Das, 2014; Curran, 2010).

A terapia combinada leva a expressão diferencial de um maior número de genes nas células T, quando comparada às monoterapias. Na terapia combinada (e também no anti-CTLA-4 isolado), evidenciou-se a expressão da proteína Ki-67, uma proteína nuclear que está relacionada à proliferação de células T, e após o uso da terapia combinada foram observados fenótipos de memória CD45RO+ e CCR7+CD27+ CD28+ CD95+, consistentes com as células T de memória; as granzimas A e B, proteases indutoras de apoptose em células alvo, foram observadas também na terapia combinada, e no anti-PD-1 isolado; a expressão de IL-8 e HLA-DR foi observada apenas na terapia combinada. Além disso, na terapia combinada, foi observado um aumento de receptores solúveis de IL-2, aumento dos níveis de IL-1a (também no uso isolado de anti-PD-1) e aumento da produção de IFN γ no microambiente tumoral e na periferia, após início da terapia. Esses dados indicam uma rápida indução da função efetora das células T no microambiente tumoral (Das, 2014).

Figura 1. Mecanismos de terapia combinada



Fonte: autoria própria (2020).

Em outro artigo, citometria de massa foi utilizada para identificar as populações celulares do infiltrado tumoral em indivíduos tratados com terapia combinada. O estudo apontou que a imunoterapia de

bloqueio do checkpoint induz a expansão de subpopulações específicas de células T. O bloqueio PD-1 está relacionado principalmente com a expansão de células T CD8, que estavam em um estado de exaustão. O bloqueio do CTLA-4 induz a expansão de células T CD4 efectoras ICOS⁺ TBET⁺, com um fenótipo semelhante ao Th1, além de induzir uma redução mais expressiva na frequência de células Treg. Enquanto TBET é uma molécula reguladora da função da célula T efetora, ICOS é uma proteína coestimulatória da família do CD28 que atua, em respostas imunológicas e na regulação da proliferação celular, além de estar associada à sobrevivência geral após a terapia. Além disso, essas inibições se relacionam com vias celulares e moleculares distintas. A via de fosforilação oxidativa está mais associadas ao anti-PD-1, enquanto que aquelas envolvidas na regulação do ciclo celular, ao bloqueio do CTLA-4 (Wei, 2017).

Em 2019, foi realizado um estudo na Universidade MD Anderson Cancer Center do Texas que analisou tumores de camundongos, além de tecido tumoral e sangue periférico de humanos submetidos a terapia anti-CTLA-4, anti-PD-1 ou combinação de anticorpos anti-CTLA-4 mais anti-PD-1 por meio do método de citometria de massa. Em murinos, a terapia combinada cursou com aumento das células TCD8 efectoras ativadas PD-1⁺ Lag3^{int} Tim3^{int} e diminuição das células TCD8 fenotipicamente exaustas PD-1^{high} Lag3⁺ Tim3⁺, em contraste com a monoterapia anti-PD-1. O Tim-3 é um outro checkpoint imune que atua na mediação da exaustão de células TCD8 juntamente com outros receptores inibitórios (como PD-1 e Lag3), e a Lag3 é uma molécula de superfície de linfócitos T que tem como ligante principal o MHC II — ela regula negativamente a proliferação celular, ativação e homeostase de células T, de forma similar ao CTLA-4 e PD-1, e atuando de forma conjunta com o PD-1, auxilia na manutenção da exaustão de células CD8. Notou-se também, o aumento da população de TCD4 efectoras Th1-like PD-1 ICOS⁺ TBET⁺ na terapia combinada quando comparada à monoterapia de anti-CTLA-4, mesmo que na monoterapia de anti-PD-1 não ocorra essa expansão. Ainda em camundongos, a terapia combinada levou a redução adicional das frequências de subconjuntos específicos de célula Treg em comparação com as monoterapias. Já em humanos, os resultados evidenciaram que após a terapia combinada, a expressão de Ki-67 foi elevada nas células TCD8. Ademais, conferiu-se que a frequência do subconjunto de TCD8 TBET⁺ EOMES⁺ terminalmente diferenciado foi significativamente aumentada em pacientes realizando terapia combinada. TBET e EOMES são moléculas reguladoras da função da célula T efetora e da formação das células de memória, e induzem a função efetora Th1 dos linfócitos T citotóxicos a partir da up-regulação do IFN γ e de grânulos citotóxicos como as granzimas (Gide, 2019). Desse modo, embora as monoterapias sejam suficientes para aumentar a proliferação de células T CD8 ativadas, a terapia combinada consegue também aumentar a frequência de células T CD8 efectoras terminalmente diferenciadas já citadas.

Ainda no ano de 2019, outro estudo realizado na Universidade de Sydney foi responsável por uma análise a partir de citometria de massa de biópsias tumorais de pacientes com melanoma metastático submetidos à monoterapia com anti-PD-1 e à terapia combinada de anti-PD-1 e anti-CTLA-4. O estudo conseguiu encontrar que 97 genes diferencialmente expressos referentes a fenótipo e função de células T foram exclusivos na terapia combinada, enquanto 41 foram comuns entre a monoterapia com anti-PD-1 e a terapia combinada após o tratamento. Além disso, o estudo apontou que, enquanto a inibição exclusiva da via do PD-1 provoca expansão clonal de células T citotóxicas anteriormente ativadas e com função comprometida, a inibição do CTLA-4 promove a diversificação de células T através do aumento do priming dessas células, além de que essa inibição atua também nas células T helper e células T citotóxicas functionally impaired. Além disso, na terapia com anti-CTLA-4, houve a significativa expansão de uma população de células EOMES^{high} TBET^{high} CD8⁺, bem como de uma população Th1-like ICOS⁺ que não se expandiu com monoterapia anti-PD-1, indicando o efeito sinérgico e complementar dessas terapias de inibição. Por outro lado, na terapia combinada, houve indução da proliferação de um fenótipo de célula T Ki-67⁺, que admite fenótipo de célula T CD45RO⁺ de memória (Gide, 2019).

Após análise dos resultados, é possível concluir que os bloqueios combinado e individual das vias induzidas pelo PD-1 e pelo CTLA-4 possuem efeitos distintos. As moléculas que aparentam estar mais envolvidas de forma diferencial na terapia combinada são Ki-67, IFN γ , Tim3, ICOS, TBET, EOMES, e a Lag3. As modificações nas subpopulações de células associadas a essas moléculas estão relacionadas, principalmente, ao aumento da proliferação e função efetora de célula T, bem como à diminuição de função de células T reguladoras, garantindo maior efetividade da resposta imune anti-tumoral. Por essas razões, acredita-se que a maior eficácia da terapia combinada esteja relacionada a uma ação não apenas aditiva dos inibidores anti-CTLA-4 e anti-PD-1, mas também, a uma ação sinérgica e de amplificação extra de mecanismos, com ativação e proliferação de subpopulações de células não observadas nas monoterapias. Nesse sentido, cada vez mais o entendimento de que a terapia combinada possui biologia, biomarcadores e até mesmo farmacodinâmica distinta das monoterapias (Wei, 2019) se solidifica.

Entretanto, apesar das evidências descritas, a escassez de estudos sobre a temática impedem que um mecanismo conclusivo sobre a maior eficácia da terapia combinada seja elucidado. Logo, é perceptível a necessidade de se continuar produzindo investigações, particularmente, sobre o mecanismo molecular sinérgico e diferencial de ação das terapias combinadas. Dessa forma, cada vez mais será possível o desenvolvimento de terapias de grande acurácia e com efeitos adversos reduzidos.

5. CONCLUSÃO

Em síntese, como a incidência do câncer é expressiva na população mundial e como essa patologia possui um alto teor de complexidade fisiopatológica, ela se apresenta como um obstáculo a ser vencido pelo paciente e pelos sistemas de saúde. Entretanto, a imunoterapia com bloqueadores de checkpoint tem se apresentado esperançosa, e nesse contexto, a terapia combinada de Nivolumabe com Ipilimumabe tem apresentado resultados satisfatórios na clínica quando comparado aos tratamentos com as suas monoterapias.

Anteriormente, acreditava-se que esses resultados se dariam exclusivamente em prol de um efeito de "somação" dos bloqueios das vias do PD-1 e do CTLA-4 — entretanto, novas pesquisas e estudos clínicos vêm apresentando, também, a existência de efeitos sinérgicos dos bloqueios mediados pelo anti-CTLA4 e pelo anti-PD1. Os estudos analisados apontam que a maior eficácia da terapia combinada se deve, principalmente, ao aumento da função efetora e da ativação de subpopulações específicas de células TCD8 e TCD4, e à redução das células T reguladoras, *o que seriam mecanismos moleculares exclusivos*, não observados de forma semelhante nas monoterapias. Tendo em vista o fato dessa sinergia ainda ser pouco compreendida, o presente estudo se propôs a revisar os mecanismos moleculares e imunológicos de ação desses fármacos — no entanto, *não foram encontrados resultados categóricos, devido ao baixo número de pesquisas realizadas sobre o assunto*.

Apesar de pesquisadores encontrarem dificuldades no desenvolvimento da imunoterapia combinada — como os EAs, resistência ao tratamento e seleção dos pacientes — os dados superiores da sobrevida global e resposta objetiva com uso de Nivolumabe mais Ipilimumabe, comparadas com suas monoterapias (que possuem eficácia limitada por causa das baixas taxas de resposta) permitem que a combinação desses anticorpos monoclonais permaneçam sendo uma estratégia promissora de tratamento. Diante disso, considerando os promissores resultados clínicos no tratamento de diferentes tipos de câncer, a ausência de evidências conclusivas acerca dos mecanismos de ação dessa terapia combinada dificulta a sua aplicabilidade na prática clínica, o que indica uma necessidade eminente de ampliação de estudos e pesquisas, nos campos clínico e molecular, sobre essa terapia.

REFERÊNCIAS

GAROFOLO, Adriana et al. Dieta e câncer: um enfoque epidemiológico. **Rev. Nutr.**, Campinas, v. 17, n. 4, p. 491-505, Dez. 2004. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1415-52732004000400009&lng=en&nrm=iso>. Acesso em 22 Ago. 2020. <http://dx.doi.org/10.1590/S1415-52732004000400009>.

BRAY, Freddie *et al.* Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for cancers in 185 countries. **CA Cancer J Clin**, [S. l.], p. 394-424, Nov. 2018. DOI 10.3322/caac.21492. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30207593/>. Acesso em: 16 ago. 2020.

BITTENCOURT, Rosane *et al.* Perfil epidemiológico do câncer na rede pública em Porto Alegre - RS. **Revista Brasileira de Cancerologia**, [S. l.], v. 50, n. 2, p. 95-101, 2004.

MS / INCA / Estimativa de Câncer no Brasil, 2020

Stewart BW, Wild CP, editors. World cancer report 2014. Lyon: International Agency for Research on Cancer; 2014.

ZAMARIN, Dmitriy; BURGER, Robert A.; SILL, Michael W.; POWELL, Daniel J.; LANKES, Heather A.; FELDMAN, Michael D.; ZIVANOVIC, Oliver; GUNDERSON, Camille; KO, Emily; MATHEWS, Cara. Randomized Phase II Trial of Nivolumab Versus Nivolumab and Ipilimumab for Recurrent or Persistent Ovarian Cancer: an nrg oncology study. **Journal Of Clinical Oncology**, [S.L.], v. 38, n. 16, p. 1814-1823, 1 jun. 2020. American Society of Clinical Oncology (ASCO). <http://dx.doi.org/10.1200/jco.19.02059>.

KOOSHKAKI, Omid; DERAKHSHANI, Afshin; HOSSEINKHANI, Negar; TORABI, Mitra; SAFAEI, Sahar; BRUNETTI, Oronzo; RACANELLI, Vito; SILVESTRIS, Nicola; BARADARAN, Behzad. Combination of Ipilimumab and Nivolumab in Cancers: from clinical practice to ongoing clinical trials. **International Journal Of Molecular Sciences**, [S.L.], v. 21, n. 12, p. 4427, 22 jun. 2020. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/ijms21124427>.

MARIN-ACEVEDO, Julian A.; DHOLARIA, Bhagirathbhai; SOYANO, Aixa E.; KNUTSON, Keith L.; CHUMSRI, Saranya; LOU, Yanyan. Next generation of immune checkpoint therapy in cancer: new developments and challenges. **Journal Of Hematology & Oncology**, [S.L.], v. 11, n. 1, 15 mar. 2018. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1186/s13045-018-0582-8>. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5856308/>

PARDOLL, Drew M.. The blockade of immune checkpoints in cancer immunotherapy. **Nature Reviews Cancer**, [S.L.], v. 12, n. 4, p. 252-264, 22 mar. 2012. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/nrc3239>. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4856023/>

ROWSHANRAVAN, Behzad; HALLIDAY, Neil; SANSOM, David M.. CTLA-4: a moving target in immunotherapy. **Blood**, [S.L.], v. 131, n. 1, p. 58-67, 4 jan. 2018. American Society of Hematology. <http://dx.doi.org/10.1182/blood-2017-06-741033>.

(Busca Geral: “CTLA-4”)

KRUGER, Stephan; ILMER, Matthias; KOBOLD, Sebastian; CADILHA, Bruno L.; ENDRES, Stefan; ORMANN, Steffen; SCHUEBBE, Gesa; RENZ, Bernhard W.; D’HAESE, Jan G.; SCHLOESSER, Hans. Advances in cancer immunotherapy 2019 – latest trends. **Journal Of Experimental & Clinical Cancer Research**, [S.L.], v. 38, n. 1, p. 1-11, 19 jun. 2019. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1186/s13046-019-1266-0>.

ALTMANN, Daniel M.. A Nobel Prize-worthy pursuit: cancer immunology and harnessing immunity to tumour neoantigens. **Immunology**, [S.L.], v. 155, n. 3, p. 283-284, 15 out. 2018. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/imm.13008>.

BOUTROS, Celine; TARHINI, Ahmad; ROUTIER, Emilie; LAMBOTTE, Olivier; LADURIE, Francois Leroy; CARBONNEL, Franck; IZZEDDINE, Hassane; MARABELLE, Aurelien; CHAMPIAT, Stephane; BERDELOU, Armandine. Safety profiles of anti-CTLA-4 and anti-PD-1 antibodies alone and in combination. **Nature Reviews Clinical Oncology**, [S.L.], v. 13, n. 8, p. 473-486, 4 maio 2016. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/nrclinonc.2016.58>.

APETOH, Lionel; GHIRINGHELLI, François; TESNIERE, Antoine; OBEID, Michel; ORTIZ, Carla; CRIOLLO, Alfredo; MIGNOT, Grégoire; MAIURI, M Chiara; ULLRICH, Evelyn; SAULNIER, Patrick. Toll-like receptor 4-dependent contribution of the immune system to anticancer chemotherapy and radiotherapy. **Nature Medicine**, [S.L.], v. 13, n. 9, p. 1050-1059, 19 ago. 2007. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/nm1622>.

FARKONA, Sofia; DIAMANDIS, Eleftherios P.; BLASUTIG, Ivan M.. Cancer immunotherapy: the beginning of the end of cancer?. **Bmc Medicine**, [S.L.], v. 14, n. 1, p. 1-18, 5 maio 2016. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1186/s12916-016-0623-5>.

KIMIZ-GEBOLOGLU, Ilgin; GULCE-IZ, Sultan; BIRAY-AVCI, Cigir. Monoclonal antibodies in cancer immunotherapy. **Molecular Biology Reports**, [S.L.], v. 45, n. 6, p. 2935-2940, 11 out. 2018. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s11033-018-4427-x>.

MARIN-ACEVEDO, Julian A.; SOYANO, Aixa E.; DHOLARIA, Bhagirathbhai; KNUTSON, Keith L.; LOU, Yanyan. Cancer immunotherapy beyond immune checkpoint inhibitors. **Journal Of Hematology & Oncology**, [S.L.], v. 11, n. 1, p. 1-25, 12 jan. 2018. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1186/s13045-017-0552-6>.

YANG, Yiping. Cancer immunotherapy: harnessing the immune system to battle cancer. **Journal Of Clinical Investigation**, [S.L.], v. 125, n. 9, p. 3335-3337, 1 set. 2015. American Society for Clinical Investigation. <http://dx.doi.org/10.1172/jci83871>.

HAANEN, John B.A.G.; ROBERT, Caroline. Immune Checkpoint Inhibitors. **Progress In Tumor Research**, [S.L.], p. 55-66, 2015. S. Karger AG. <http://dx.doi.org/10.1159/000437178>.

SHARMA, Padmanee; SIEFKER-RADTKE, Arlene; BRAUD, Filippo de; BASSO, Umberto; CALVO, Emiliano; BONO, Petri; MORSE, Michael A.; ASCIERTO, Paolo A.; LOPEZ-MARTIN, Jose; BROSSART, Peter. Nivolumab Alone and With Ipilimumab in Previously Treated Metastatic Urothelial Carcinoma: checkmate 032 nivolumab 1 mg/kg plus ipilimumab 3 mg/kg expansion cohort results.

Journal Of Clinical Oncology, [S.L.], v. 37, n. 19, p. 1608-1616, 1 jul. 2019. American Society of Clinical Oncology (ASCO). <http://dx.doi.org/10.1200/jco.19.00538>.

MELLMAN, Ira; COUKOS, George; DRANOFF, Glenn. Cancer immunotherapy comes of age. **Nature**, [S.L.], v. 480, n. 7378, p. 480-489, dez. 2011. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/nature10673>.

GAO, Xin; MCDERMOTT, David F.. Ipilimumab in combination with nivolumab for the treatment of renal cell carcinoma. **Expert Opinion On Biological Therapy**, [S.L.], v. 18, n. 9, p. 947-957, 30 ago. 2018. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.1080/14712598.2018.1513485>.

HELLMANN, Matthew D.; CIULEANU, Tudor-Eliade; PLUZANSKI, Adam; LEE, Jong Seok; OTTERSON, Gregory A.; AUDIGIER-VALETTE, Clarisse; MINENZA, Elisa; LINARDOU, Helena; BURGERS, Sjaak; SALMAN, Pamela. Nivolumab plus Ipilimumab in Lung Cancer with a High Tumor Mutational Burden. **New England Journal Of Medicine**, [S.L.], v. 378, n. 22, p. 2093-2104, 31 maio 2018. Massachusetts Medical Society. <http://dx.doi.org/10.1056/nejmoa1801946>.

MOTZER, Robert J.; TANNIR, Nizar M.; MCDERMOTT, David F.; FRONTERA, Osvaldo Arén; MELICHAR, Bohuslav; CHOUERI, Toni K.; PLIMACK, Elizabeth R.; BARTHÉLÉMY, Philippe; PORTA, Camillo; GEORGE, Saby. Nivolumab plus Ipilimumab versus Sunitinib in Advanced Renal-Cell Carcinoma. **New England Journal Of Medicine**, [S.L.], v. 378, n. 14, p. 1277-1290, 5 abr. 2018. Massachusetts Medical Society. <http://dx.doi.org/10.1056/nejmoa1712126>.

MOTZER, Robert J; RINI, Brian I; MCDERMOTT, David F; FRONTERA, Osvaldo Arén; HAMMERS, Hans J; A CARDUCCI, Michael; SALMAN, Pamela; ESCUDIER, Bernard; BEUSELINCK, Benoit; AMIN, Asim. Nivolumab plus ipilimumab versus sunitinib in first-line treatment for advanced renal cell carcinoma: extended follow-up of efficacy and safety results from a randomised, controlled, phase 3 trial. **The Lancet Oncology**, [S.L.], v. 20, n. 10, p. 1370-1385, out. 2019. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s1470-2045\(19\)30413-9](http://dx.doi.org/10.1016/s1470-2045(19)30413-9).

HELLMANN, Matthew D.; CALLAHAN, Margaret K.; AWAD, Mark M.; CALVO, Emiliano; ASCIERTO, Paolo A.; ATMACA, Akin; RIZVI, Naiyer A.; HIRSCH, Fred R.; SELVAGGI, Giovanni; SZUSTAKOWSKI, Joseph D.. Tumor Mutational Burden and Efficacy of Nivolumab Monotherapy and in Combination with Ipilimumab in Small-Cell Lung Cancer. **Cancer Cell**, [S.L.], v. 33, n. 5, p. 853-861.e4, maio 2018. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ccell.2018.04.001>.

HAMMERS, Hans J.; PLIMACK, Elizabeth R.; INFANTE, Jeffrey R.; RINI, Brian I.; MCDERMOTT, David F.; LEWIS, Lionel D.; VOSS, Martin H.; SHARMA, Padmanee; PAL, Sumanta K.; RAZAK, Albiruni R. Abdul. Safety and Efficacy of Nivolumab in Combination With Ipilimumab in Metastatic Renal Cell Carcinoma: the checkmate 016 study. **Journal Of Clinical Oncology**, [S.L.], v. 35, n. 34, p. 3851-3858, 1 dez. 2017. American Society of Clinical Oncology (ASCO). <http://dx.doi.org/10.1200/jco.2016.72.1985>.

HELLMANN, Matthew D.; PAZ-ARES, Luis; CARO, Reyes Bernabe; ZURAWSKI, Bogdan; KIM, Sang-We; COSTA, Enric Carcereny; PARK, Keunchil; ALEXANDRU, Aurelia; LUPINACCI, Lorena; JIMENEZ, Emmanuel de La Mora. Nivolumab plus Ipilimumab in Advanced Non-Small-Cell Lung Cancer. **New England Journal Of Medicine**, [S.L.], v. 381, n. 21, p. 2020-2031, 21 nov. 2019. Massachusetts Medical Society. <http://dx.doi.org/10.1056/nejmoa1910231>.

DANIEL VARGAS P. DE ALMEIDA (Brasil). Manual de Oncologia Clínica do Brasil. **Novo regime de administração de imunoterapia recebe aprovação do FDA**. 2018. Disponível em: <https://mocbrasil.com/blog/uncategorized/novo-regime-de-administracao-de-imunoterapia-recebe-aprovacao-do-fda/#:~:text=No%20Brasil%2C%20o%20nivolumabe%20%C3%A9,bexiga%2C%20que%20recebeu%20aprova%C3%A7%C3%A3o%20recentemente..> Acesso em: 18 ago. 2020.

Food and Drug Administration. **Hematology/Oncology (Cancer) Approvals & Safety Notifications**. 2020. Disponível em: <https://www.fda.gov/drugs/resources-information-approved-drugs/hematologyoncology-cancer-approvals-safety-notifications>. Acesso em: 18 ago. 2020.

LECLERC, Marine; VOILIN, Elodie; GROS, Gwendoline; CORGNAC, Stéphanie; MONTPRÉVILLE, Vincent de; VALIDIRE, Pierre; BISMUTH, Georges; MAMI-CHOUAIB, Fathia. Regulation of antitumour CD8 T-cell immunity and checkpoint blockade immunotherapy by Neuropilin-1. **Nature Communications**, [S.L.], v. 10, n. 1, p. 1-14, 26 jul. 2019. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/s41467-019-11280-z>.

LARKIN, James; CHIARION-SILENI, Vanna; GONZALEZ, Rene; GROB, Jean-Jacques; RUTKOWSKI, Piotr; LAO, Christopher D.; COWEY, C. Lance; SCHADENDORF, Dirk; WAGSTAFF, John; DUMMER, Reinhard. Five-Year Survival with Combined Nivolumab and Ipilimumab in Advanced Melanoma. **New England Journal Of Medicine**, [S.L.], v. 381, n. 16, p. 1535-1546, 17 out. 2019. Massachusetts Medical Society. <http://dx.doi.org/10.1056/nejmoa1910836>.

YANG, Yi; JIN, Gang; PANG, Yao; HUANG, Yijie; WANG, Wenhao; ZHANG, Hongyi; TUO, Guangxin; WU, Peng; WANG, Zequan; ZHU, Zijiang. Comparative Efficacy and Safety of Nivolumab and Nivolumab Plus Ipilimumab in Advanced Cancer: a systematic review and meta-analysis. **Frontiers In Pharmacology**, [S.L.], v. 11, p. 1-10, 14 fev. 2020. Frontiers Media SA. <http://dx.doi.org/10.3389/fphar.2020.00040>.

HANAHAN, Douglas; WEINBERG, Robert A.. Hallmarks of Cancer: the next generation. **Cell**, [S.L.], v. 144, n. 5, p. 646-674, mar. 2011. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cell.2011.02.013>.

GUERRA, Maximiliano Ribeiro *et al.* Risco de Câncer no Brasil: tendências e estudos epidemiológicos mais recentes. **Revista Brasileira de Cancerologia**, [S. l.], v. 51, n. 3, p. 227-234, 2005.

CRISPEN, Paul L.; KUSMARTSEV, Sergei. Mechanisms of immune evasion in bladder cancer. **Cancer Immunology, Immunotherapy**, [S.L.], v. 69, n. 1, p. 3-14, 6 dez. 2019. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s00262-019-02443-4>.

BUCHBINDER, Elizabeth I.; DESAI, Anupam. CTLA-4 and PD-1 Pathways: similarities, differences, and implications of their inhibition. **American Journal Of Clinical Oncology**, [S.L.], v. 39, n. 1, p. 98-106, fev. 2016. Ovid Technologies (Wolters Kluwer Health). <http://dx.doi.org/10.1097/coc.0000000000000239>.

SCHUMACHER, Ton N.; SCHREIBER, Robert D.. Neoantigens in cancer immunotherapy. **Science**, [S.L.], v. 348, n. 6230, p. 69-74, 2 abr. 2015. American Association for the Advancement of Science (AAAS). <http://dx.doi.org/10.1126/science.aaa4971>.

BURR, Marian L.; SPARBIER, Christina E.; CHAN, Kah Lok; CHAN, Yih-Chih; KERSBERGEN, Ariena; LAM, Enid Y.N.; AZIDIS-YATES, Elizabeth; VASSILIADIS, Dane; BELL, Charles C.; GILAN, Omer. An Evolutionarily Conserved Function of Polycomb Silences the MHC Class I Antigen Presentation Pathway and Enables Immune Evasion in Cancer. **Cancer Cell**, [S.L.], v. 36, n. 4, p. 385-401, out. 2019. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ccell.2019.08.008>.

JAIN, Prantesh; JAIN, Chhavi; VELCHETI, Vamsidhar. Role of immune-checkpoint inhibitors in lung cancer. **Therapeutic Advances In Respiratory Disease**, [S.L.], v. 12, p. 1-13, jan. 2018. SAGE Publications. <http://dx.doi.org/10.1177/1753465817750075>.

WEI, Spencer C.; ANANG, Nana-Ama A. S.; SHARMA, Roshan; ANDREWS, Miles C.; REUBEN, Alexandre; LEVINE, Jacob H.; COGDILL, Alexandria P.; MANCUSO, James J.; WARGO, Jennifer A.; PE'ER, Dana. Combination anti-CTLA-4 plus anti-PD-1 checkpoint blockade utilizes cellular mechanisms partially distinct from monotherapies. **Proceedings Of The National Academy Of Sciences**, [S.L.], v. 116, n. 45, p. 22699-22709, 21 out. 2019. Proceedings of the National Academy of Sciences. <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.1821218116>.

WEI, Spencer C.; DUFFY, Colm R.; ALLISON, James P.. Fundamental Mechanisms of Immune Checkpoint Blockade Therapy. **Cancer Discovery**, [S.L.], v. 8, n. 9, p. 1069-1086, 16 ago. 2018. American Association for Cancer Research (AACR). <http://dx.doi.org/10.1158/2159-8290.cd-18-0367>.

GIBNEY, Geoffrey T; WEINER, Louis M; ATKINS, Michael B. Predictive biomarkers for checkpoint inhibitor-based immunotherapy. **The Lancet Oncology**, [S.L.], v. 17, n. 12, p. 542-551, dez. 2016. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s1470-2045\(16\)30406-5](http://dx.doi.org/10.1016/s1470-2045(16)30406-5)

WEI, Spencer C.; LEVINE, Jacob H.; COGDILL, Alexandria P.; ZHAO, Yang; ANANG, Nana-Ama A.s.; ANDREWS, Miles C.; SHARMA, Padmanee; WANG, Jing; WARGO, Jennifer A.; PE'ER, Dana. Distinct Cellular Mechanisms Underlie Anti-CTLA-4 and Anti-PD-1 Checkpoint Blockade. **Cell**, [S.L.], v. 170, n. 6, p. 1120-1133, set. 2017. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cell.2017.07.024>.

GIDE, Tuba N.; QUEK, Camelia; MENZIES, Alexander M.; TASKER, Annie T.; SHANG, Ping; HOLST, Jeff; MADORE, Jason; LIM, Su Yin; VELICKOVIC, Rebecca; WONGCHENKO, Matthew. Distinct Immune Cell Populations Define Response to Anti-PD-1 Monotherapy and Anti-PD-1/Anti-CTLA-4 Combined Therapy. **Cancer Cell**, [S.L.], v. 35, n. 2, p. 238-255, fev. 2019. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ccell.2019.01.003>.

BYUN, David J.; WOLCHOK, Jedd D.; ROSENBERG, Lynne M.; GIROTRA, Monica. Cancer immunotherapy — immune checkpoint blockade and associated endocrinopathies. **Nature Reviews Endocrinology**, [S.L.], v. 13, n. 4, p. 195-207, 20 jan. 2017. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/nrendo.2016.205>.

DAS, Rituparna; VERMA, Rakesh; SZNOL, Mario; BODDUPALLI, Chandra Sekhar; GETTINGER, Scott N.; KLUGER, Harriet; CALLAHAN, Margaret; WOLCHOK, Jedd D.; HALABAN, Ruth; DHODAPKAR, Madhav V.. Combination Therapy with Anti-CTLA-4 and Anti-PD-1 Leads to Distinct Immunologic Changes In Vivo. **The Journal Of Immunology**, [S.L.], v. 194, n. 3, p. 950-959, 24 dez. 2014. The American Association of Immunologists. <http://dx.doi.org/10.4049/jimmunol.1401686>.

CURRAN, M. A.; MONTALVO, W.; YAGITA, H.; ALLISON, J. P. PD-1 and CTLA-4 combination blockade expands infiltrating T cells and reduces regulatory T and myeloid cells within B16 melanoma tumors. **Proceedings Of The National Academy Of Sciences**, [S.L.], v. 107, n. 9, p. 4275-4280, 16 fev. 2010. Proceedings of the National Academy of Sciences. <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.0915174107>.

ROTTE, Anand. Combination of CTLA-4 and PD-1 blockers for treatment of cancer. **Journal Of Experimental & Clinical Cancer Research**, [S.L.], v. 38, n. 1, p. 1-12, 13 jun. 2019. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1186/s13046-019-1259-z>.

MELO, Karina Mescouto; CARVALHO, Beatriz Tavares Costa. Células T regulatórias: mecanismos de ação e função nas doenças humanas. **Rev bras alerg imunopatol**, v. 32, n. 5, p. 184-8, 2009.

SCHNEIDER, Helga; RUDD, Christopher E.. Tyrosine Phosphatase SHP-2 Binding to CTLA-4: absence of direct yvkm/yfip motif recognition. **Biochemical And Biophysical Research Communications**, [S.L.], v. 269, n. 1, p. 279-283, mar. 2000. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1006/bbrc.2000.2234>.

MOCELLIN, Simone; NITTI, Donato. CTLA-4 blockade and the renaissance of cancer immunotherapy. **Biochimica Et Biophysica Acta (Bba) - Reviews On Cancer**, [S.L.], v. 1836, n. 2, p. 187-196, dez. 2013. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbcan.2013.05.003>.

FATHMAN, C. Garrison; LINEBERRY, Neil B.. Molecular mechanisms of CD4+ T-cell anergy. **Nature Reviews Immunology**, [S.L.], v. 7, n. 8, p. 599-609, 6 jul. 2007. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/nri2131>.

SALMANINEJAD, Arash; VALILOU, Saeed Farajzadeh; SHABGAH, Arezoo Gowhari; ASLANI, Saeed; ALIMARDANI, Malihe; PASDAR, Alireza; SAHEBKAR, Amirhossein. PD-1/PD-L1 pathway: basic biology and role in cancer immunotherapy. **Journal Of Cellular Physiology**, [S.L.], v. 234, n. 10, p. 16824-16837, 19 fev. 2019. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/jcp.28358>.

SHARPE, Arlene H.; PAUKEN, Kristen E.. The diverse functions of the PD1 inhibitory pathway. **Nature Reviews Immunology**, [S.L.], v. 18, n. 3, p. 153-167, 13 nov. 2017. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/nri.2017.108>.

ABRIL-RODRIGUEZ, Gabriel; RIBAS, Antoni. SnapShot: immune checkpoint inhibitors. **Cancer Cell**, [S.L.], v. 31, n. 6, p. 848-848.e1, jun. 2017. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ccell.2017.05.010>.

LARKIN, James; CHIARION-SILENI, Vanna; GONZALEZ, Rene; GROB, Jean Jacques; COWEY, C. Lance; LAO, Christopher D.; SCHADENDORF, Dirk; DUMMER, Reinhard; SMYLLIE, Michael; RUTKOWSKI, Piotr. Combined Nivolumab and Ipilimumab or Monotherapy in Untreated Melanoma. **New England Journal Of Medicine**, [S.L.], v. 373, n. 1, p. 23-34, 2 jul. 2015. Massachusetts Medical Society. <http://dx.doi.org/10.1056/nejmoa1504030>.