

The logo for the journal RUEP, featuring the lowercase letters 'ruep' in a white, serif font on a black rectangular background.

Revista UNILUS Ensino e Pesquisa
v. 19, n. 54, jan./mar. 2022
ISSN 2318-2083 (eletrônico)

PAOLO RUGGERO ERRANTE

*Universidade de São Paulo, USP, São Paulo,
SP, Brasil; Universidade Federal de São
Paulo, UNIFESP, São Paulo, SP, Brasil.*

*Recebido em janeiro de 2022.
Aprovado em março de 2022.*

INIBIDORES DE PONTOS DE VERIFICAÇÃO IMUNE UTILIZADOS NO TRATAMENTO DO CÂNCER

RESUMO

Introdução: Os anticorpos monoclonais contra os pontos de checagem imunológica, como CTLA-4 e PD-1 e seu ligante PD-L1 obtiveram a aprovação da Food and Drug Administration (FDA) dos EUA como tratamento de primeira linha contra diferentes tipos de câncer. **Método:** A revisão foi realizada por banco de dados bibliográficos obtidos por meio de pesquisa na LILACS, MEDLINE e PubMed. **Resultados:** Anticorpos monoclonais contra os pontos de checagem imunológica impedem a inibição da ativação de linfócitos T, levando a uma ativação robusta da resposta imune antitumoral. **Conclusão:** Apesar do sucesso desse tratamento, o benefício conferido por esses agentes é restrito a um número limitado de pacientes devido à sua capacidade de obter respostas duradouras relacionadas ao sistema imune sem eventos adversos.

Palavras-Chave: pontos de checagem imunológica; ctla-4; pd-1; pd-11; resistência ao tratamento.

IMMUNE CHECKPOINT INHIBITORS USED IN CANCER TREATMENT

ABSTRACT

Introduction: The monoclonal antibodies against immune checkpoints such as CTLA-4 and PD-1 and their ligand PD-L1 have gained US Food and Drug Administration (FDA) approval as a first-line treatment against different types of cancer. **Method:** The review was performed by bibliographic database obtained through the research in LILACS, MEDLINE, and PubMed. **Results:** Monoclonal antibodies against immune checkpoints prevent the inhibition of T lymphocyte activation, leading to a robust activation of antitumor immune response. **Conclusion:** Despite the success of this treatment, the benefit conferred by these agents is restricted to a limited number of patients due to their ability to achieve lasting responses related to the immune system without adverse events.

Keywords: immune checkpoints; ctla-4; pd-1; pd-11; treatment resistance.

Revista UNILUS Ensino e Pesquisa

Rua Dr. Armando de Salles Oliveira, 150
Boqueirão - Santos - São Paulo
11050-071

<http://revista.lusiada.br/index.php/ruep>
revista.unilus@lusiada.br

Fone: +55 (13) 3202-4100

INTRODUÇÃO

O câncer está associado a uma alta morbidade e mortalidade, sendo a segunda causa de morte nos Estados Unidos. Em algumas nações, o câncer superou as doenças cardíacas como a principal causa de mortalidade (HULVAT, 2020). A identificação de mecanismos moleculares pelos quais as células cancerosas evitam o dano citotóxico mediado pelos linfócitos T levou a era moderna da imunoterapia no tratamento do câncer. Os agentes que liberam esses freios imunológicos demonstraram atividade relevante sobre os linfócitos T no combate de diferentes tipos de câncer.

Embora a quimioterapia e radioterapia sejam considerados a base do tratamento para a grande maioria dos diferentes tipos de câncer, atualmente os inibidores do ponto de controle imunológico (ICI) são considerados terapias de primeira linha para o tratamento de diferentes tipos de câncer (VADDEPALLY et al., 2020). Os ICI impedem a inibição da ativação dos linfócitos T, levando a uma ativação robusta da resposta imune antitumoral in situ e em órgãos periféricos, além de sua atividade sobre os leucócitos do sangue periférico. Até o momento, existem ICI direcionados a três moléculas distintas aprovados pela Food and Drug Administration (FDA) dos EUA para uso em humanos.

O ipilimumabe (IgG1/kappa anti-CTLA-4 humano) um anticorpo monoclonal contra a proteína 4 associada a linfócitos T citotóxicos (CTLA-4), foi o primeiro a ser aprovado para o tratamento do melanoma metastático (MCDERMOTT et al., 2013).

Em seguida foram produzidos os anticorpos monoclonais pembrolizumabe (IgG4/kappa humano), que possui uma alteração de sequência estabilizadora na região Fc e o nivolumabe (IgG4/kappa humano), que bloqueiam o receptor inibitório de morte celular programada 1 (PD-1) na superfície dos linfócitos T (LARKIN et al., 2015). Assim como o ipilimumabe, estes foram aprovados inicialmente para o tratamento de melanoma metastático e em estágio avançado, e subsequentemente passaram a ser utilizados no tratamento de diferentes tipos de câncer (HAMMERS et al., 2017; OVERMAN et al., 2017). O cemiplimabe (IgG4/kappa) é um anticorpo monoclonal recombinante humano anti-PD-1 aprovado pelo FDA para o tratamento de doença metastática localmente avançada em pacientes com carcinoma de células escamosas cutâneo que não são candidatos a cirurgia curativa ou radiação (MIGDEN et al., 2018).

Por último, os anticorpos monoclonais atezolizumabe (IgG1/kappa humanizado com domínio Fc), durvalumabe (IgG1/ κ kappa humanizado) e avelumabe (IgG1/ κ kappa humanizado contendo a região Fc nativa), que tem como alvo a molécula PD-L1 (ligante de PD-1), formando o terceiro grupo de ICI, indicados para o tratamento do carcinoma urotelial, câncer de pulmão de células não pequenas (NSCLC), e carcinoma de células de Merkel (VADDEPALLY et al., 2020).

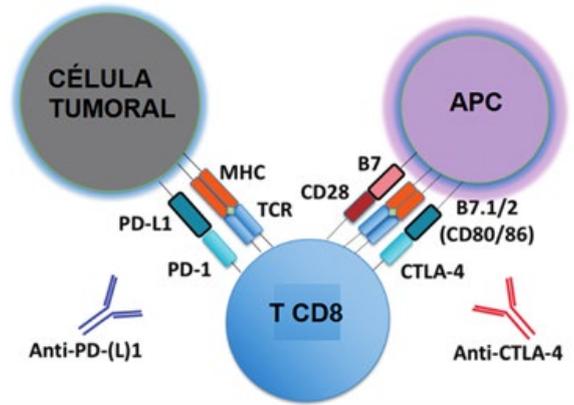
Apesar de inúmeros pacientes apresentarem uma regressão tumoral em resposta ao tratamento com ICI, uma parcela dos pacientes que respondem inicialmente, desenvolve resistência ao tratamento e apresentam recidiva do tumor; tais pacientes são descritos como tendo resistência adquirida. Já pacientes que nunca experimentaram uma resposta terapêutica são descritos como tendo resistência primária (BAGCHI et al., 2021). Os marcadores preditivos para uma terapia eficaz contra os ICI são as células do sistema imune infiltrante de tumores e as células circulantes do sangue periférico dos pacientes antes e após a terapia. Neste trabalho, foram revisados o uso clínico dos ICI, mecanismos de resistência primária e adquirida, e alterações observadas nas células do sistema imune durante a terapia.

Inibidores de pontos de verificação imune

A última década testemunhou avanços sem precedentes na imunoterapia contra o câncer, sendo utilizados anticorpos monoclonais direcionados a receptores inibitórios, como CTLA-4, PD-1 e PD-L1 (Figura 1). Embora os anticorpos contra estas moléculas

estejam aprovadas pela FDA para vários tipos de câncer, anticorpos monoclonais direcionadas a outros pontos de verificação imune, como LAG3, TIGIT, TIM3, B7H3, CD39, CD73, receptor de adenosina A2A e CD47 estão em desenvolvimento clínico (VADDEPALLY et al., 2020; BAGCHI et al., 2021).

Figura 1. Bloqueio das vias de inibição PD-1/PD-L1/CTLA-4 por anticorpos monoclonais.



Anticorpos monoclonais contra as moléculas PD-1/PD-L1 impedem a inativação dos linfócitos T CD8 que inicialmente reconhecem as moléculas do MHC classe I/peptídeo tumoral via TCR, e anticorpos anti-CTLA-4 que impedem a ligação de CTLA-4 com B7.1/B7.2 na superfície das APC. APC: célula apresentadora de antígeno.

Fonte: AREF et al., 2018.

CTLA-4

O cytotoxic T-lymphocyte-associated protein 4 (CTLA-4 ou CD152) é um receptor inibitório expresso pelos linfócitos T ativados (VAN COILLIE et al., 2020). Quando um linfócito T inicialmente encontra seu antígeno cognato, ele requer a estimulação através de seu receptor de células T (TCR) e um segundo sinal, chamado de co-estimulação, conferido pelo contato da molécula CD28 presente na superfície dos linfócitos T com B7.1/CD80 ou B7.2/CD86 presentes na superfície das células apresentadoras de antígeno (APC). Após esta sinalização, moléculas de CTLA-4 armazenadas intracelularmente trafegam para a superfície do linfócito T, e competem pelos mesmos ligantes de CD28 com maior afinidade, inibindo a co-estimulação e levando os linfócitos T a um estado de repouso (VAN COILLIE et al., 2020). Intrinsecamente, esta sinalização leva ao recrutamento de fosfatases; inibição de fatores de transcrição associados a atividade dos linfócitos T, como NF- κ B, NFAT e AP-1; e ativação da ubiquitina ligases. Extrinsicamente, o CTLA-4 compete com o CD28 pela ligação a B7.1/CD80 ou B7.2/CD86, diminuindo o nível de sinais coestimuladores (BAGCHI et al., 2021).

Além de sua expressão aumentada na superfície dos linfócitos T ativados, CTLA-4 também é expresso constitutivamente na superfície das células T reguladoras (Treg), que desempenham um papel importante na supressão da resposta imune (THIERRY, MÉNÉTRIER-CAUX, 2020).

Inicialmente o bloqueio de CTLA-4 foi avaliado sobre a imunidade antitumoral in vivo em camundongos implantados com células de carcinoma de cólon ou fibrossarcoma. Estes apresentaram uma carga tumoral reduzida quando tratados com anticorpos monoclonais anti-CTLA-4 e desenvolveram imunidade protetora de longa duração e contra a reintrodução do tumor (LEACH et al., 1996). A eficácia dos anticorpos anti-CTLA-4 foi observada em outros modelos de transplante tumoral (KWON et al., 1997; YANG et al., 1997), embora não tenha afetado o crescimento do carcinoma mamário SM1 murino (HURWITZ et al., 1998). A eficácia dos anticorpos monoclonais anti-CTLA-4 no tratamento de tumores em camundongos levou a extrapolação do tratamento para os seres humanos. Em 2010, resultados de um ensaio clínico de fase III em pacientes com melanoma metastático utilizando o

ipilimumabe (anticorpo monoclonal anti-CTLA-4), aumentou a sobrevida global dos pacientes por mais de 3 meses em comparação com uma vacina peptídica específica para o melanoma. Em 20% dos pacientes cujos tumores foram completamente eliminados, esta resposta se manteve presente em aproximadamente 30 meses (HODI et al., 2010).

Em 2011, o FDA aprovou o ipilimumabe para o tratamento de pacientes com melanoma em estágio avançado. Embora a monoterapia com ipilimumabe não seja altamente eficaz em outros tipos de tumor, atualmente está sendo testado em combinação com outras modalidades de tratamento, como quimioterapia, radioterapia e outras imunoterapias contra diferentes tipos de câncer (Tabela 1) (BAGCHI et al., 2021).

Tabela 1. Anticorpo monoclonal Ipilimumabe aprovado pelo FDA para o tratamento de diferentes tipos de câncer. mTOR= complexo alvo da rapamicina em mamíferos; VEGF= Fator de crescimento endotelial vascular; TKI= inibidores de tirosina quinase.

Ipilimumabe
Melanoma maligno cirurgicamente irressecável, previamente tratado ou não tratado em adultos e crianças >12 anos de idade
Melanoma metastático ou irressecável com mutação BRAF V600
Combinação com nivolumabe no melanoma irressecável ou metastático com mutação BRAF
Melanoma cutâneo estágio IIIA, IIIB e IIIC após ressecção completa juntamente com linfadenectomia total
Combinado com nivolumabe no carcinoma de células renais avançado não tratado, recidiva e estágio IV, independente da expressão de PD-L1
Carcinoma de células renais estágio IV como terapia subsequente após terapia TKI, VEGF ou mTOR
Combinação com nivolumabe no carcinoma colorretal metastático com instabilidade de microssatélites ou reparo de incompatibilidade deficiente que evoluiu após tratamento com fluoropirimidina, oxaliplatina e irinotecano em adultos e crianças >12 anos de idade

Fonte: Vaddepally et al., 2020.

A molécula programmed cell death protein 1 (PD-1) foi identificada em 1992 como envolvida na regulação da morte programada dos linfócitos T. Embora PD-1 seja expresso na superfície das células ativadas como macrófagos, células dendríticas, células de Langerhans, linfócitos B e T, sua expressão é altamente significativa em linfócitos T em exaustão. Semelhante ao CTLA-4, o contato de PD-1 com seus ligantes, programmed cell death ligand 1 (PD-L1) e programmed cell death ligand 2 (PD-L2), leva a supressão da resposta imune mediada pelos linfócitos T. PD-L1 e PD-L2 são expressos em células hematopoiéticas e não hematopoiéticas, incluindo APC e células tumorais (HANG et al., 2020).

O contato de PD-1 com seus ligantes leva a fosforilação de seus imunorreceptores citoplasmáticos baseados em tirosina switch motif (ITSM) recrutando o domínio da região 2 de homologia Src contendo fosfatase-2 (SHP-2). SHP-2 medeia as funções inibitórias do PD-1 reprimindo a atividade de várias moléculas intracelulares envolvidas na propagação de sinais a jusante do TCR (OKAZAKI et al., 2001). Nos linfócitos B, o recrutamento de SHP-2 desfosforila moléculas efetoras, incluindo Syk e PI3K, e em linfócitos T, a sinalização mediada por PD-1 desfosforila ZAP70 e CD3 ζ , moléculas envolvidas na transdução de sinais a jusante do TCR. Estes eventos também inibem a via Ras/MEK/ERK, que controla a proliferação, crescimento e sobrevivência celular (SHEPPARD et al., 2004).

A interação PD-L1 (células tumorais) e PD-1 (linfócitos TCD8) está associada a progressão tumoral, e o tratamento com anticorpos anti-PD-L1 ou implantação do tumor em camundongos knockout para PD-1 leva a redução do crescimento tumoral (IWAI et al., 2002).

Estudos em humanos mostraram aumento da expressão de PD-L1 e PD-L2 na superfície de células tumorais estando associado a um mau prognóstico (BAGCHI et al., 2021). Esses dados pavimentaram o caminho para o início dos ensaios clínicos utilizando pacientes humanos com câncer. Em um ensaio clínico de fase I em pacientes com melanoma refratário ao ipilimumabe em estágio avançado, 26% dos participantes tratados com pembrolizumabe demonstraram uma resposta completa ou parcial (ROBERT et al., 2014).

Subseqüentemente, no ensaio clínico de fase III, mais de 30% dos pacientes com melanoma avançado obtiveram uma resposta objetiva após monoterapia com pembrolizumabe em comparação com 12% dos pacientes tratados apenas com ipilimumabe (ROBERT et al., 2015).

Em um ensaio clínico de fase III, o nivolumabe isolado ou em associação foi testado em pacientes com melanoma estágio III ou IV não ressecável que não receberam nenhum tratamento anterior, sendo a sobrevida livre de doença maior em pacientes que receberam a terapia combinada (LARKIN et al., 2015). Este resultado deu início a combinação de ICI para se atingir uma atividade antitumoral máxima, e a aprovação pela FDA do pembrolizumabe e nivolumabe para o tratamento do melanoma (LARKIN et al., 2015), e no tratamento do NSCLC (RECK et al., 2016). Num ensaio de fase III que envolveu pacientes com carcinoma de pulmão de não pequenas células (NSCLC) metastático com expressão PD-L1, os pacientes tratados com pembrolizumabe demonstraram um aumento nas taxas de resposta e sobrevida livre de doença em comparação com pacientes tratados com quimioterapia, levando a sua aprovação pelo FDA como tratamento de primeira linha, e também no tratamento de tumores irresssecáveis ou metastáticos exibindo instabilidade de microssatélites ou reparo de incompatibilidade deficiente (Tabela 2) (Tabela 3) (MARCUS et al., 2019).

Tabela 2. Anticorpo monoclonal Pembrolizumabe aprovado pelo FDA para o tratamento de diferentes tipos de câncer. ALK= quinase de linfoma anaplásico; EGFR= receptor do fator de crescimento epidérmico.

Pembrolizumabe
Melanoma metastático com mutação BRAF refratário ao ipilimumabe e inibidor de BRAF
Melanoma avançado não tratado anteriormente, independentemente do status da mutação BRAF
Tratamento adjuvante do melanoma positivo para linfonodo(s) após ressecção completa
Melanoma metastático com ressecção limitada
Câncer de pulmão de não pequenas células metastático que progrediu após terapia com platina ou terapia direcionada (mutação EGFR/ALK) e positivo para PDL-1
Câncer de pulmão de células não pequenas metastático com expressão de PDL-1, mas sem mutação EGFR ou ALK
Combinação com pemetrexedo e carboplatina no câncer de pulmão de não pequenas células não escamoso metastático sem mutação EGFR ou ALK, independente da expressão de PDL-1
Câncer de pulmão de não pequenas células escamoso metastático em combinação com carboplatina com paclitaxel
Câncer de pulmão de não pequenas células estágio 3 não candidato a cirurgia ou quimiorradiação, sem mutação EGFR ou ALK
Câncer de células escamosas de cabeça e pescoço recorrente ou metastático com progressão a terapia a base de platina
Câncer de células escamosas de cabeça e pescoço recorrente metastático ou irresssecável, em combinação com platina e fluorouracil
Linfoma de Hodgkin clássico refratário, adulto e pediátrico
Câncer urotelial irresssecável ou metastático com progressão na terapia a base de platina
Câncer urotelial metastático ou irresssecável ineligíveis para quimioterapia contendo cisplatina
Carcinoma urotelial avançado ou metastático não elegível a terapia com cisplatina que expressa PD-L1 > 10%, ou não elegíveis para qualquer quimioterapia com platina, independente de PD-L1
Tumor sólido irresssecável ou metastático progressivo após terapia de primeira linha sem terapia alternativa satisfatória, independentemente da localização do tumor primário
Adenocarcinoma gástrico ou gastroesofágico avançados ou metastáticos recorrentes com expressão de PD-L1 que progrediram após duas ou mais linhas de terapia anteriores, incluindo fluoropirimidina, platina e terapia direcionada para HER2/neu
Adenocarcinoma esofágico e gastroesofágico com instabilidade de microssatélites e reparo de incompatibilidade deficiente
Câncer de colo uterino recorrente ou metastático após quimioterapia e positivo para PDL-1
Linfoma de células B grandes no mediastino refratário ou recidivante
Carcinoma hepatocelular previamente tratado com sorafenibe
Carcinoma metastático de células de Merkel
Combinação com axitinibe no câncer de células renais metastáticas

Fonte: Vaddepally et al., 2020.

Tabela 3. Anticorpo monoclonal Nivolumabe aprovado pelo FDA para o tratamento de diferentes tipos de câncer. mTOR= complexo alvo da rapamicina em mamíferos; VEGF= Fator de crescimento endotelial vascular; TKI= inibidores de tirosina quinase.

Nivolumabe
Melanoma com mutação BRAF irresssecável ou metastático progressivo após tratamento com ipilimumabe ou inibidor de BRAF
Combinação com ipilimumabe no melanoma irresssecável ou metastático com mutação BRAF
Melanoma metastático ou linfonodos positivos que foram submetidos a ressecção cirúrgica
Melanoma recorrente ou metastático independente da mutação BRAF V600
Câncer de pulmão de células não pequenas que apresentou progressão na terapia a base de platina
Câncer de pulmão de pequenas células que progrediu na terapia a base de platina ou outra terapia
Câncer de células renais avançado com terapia anticâncer prévia (mTOR)
Combinação com ipilimumabe no carcinoma de células renais avançado não tratado, recidiva e estágio IV
Carcinoma de células renais com recidiva e estágio IV submetidos a terapia prévia com TKI, VEGF ou mTOR
Linfoma de Hodgkin que evoluiu após transplante autólogo de células-tronco hematopoiéticas e terapia pós-transplante com brentuximabe vedotina
Câncer de células escamosas de cabeça e pescoço recorrente ou metastático que progrediu após terapia com platina
Câncer urotelial metastático ou irresssecável cirurgicamente
Combinação com ipilimumabe no câncer colorretal metastático com instabilidade de microssatélites e reparo de incompatibilidade deficiente que progrediu após tratamento com fluoropirimidina, oxaliplatina e irinotecano em adultos e crianças > 12 anos de idade
Carcinoma hepatocelular previamente tratado com sorafenibe

Fonte: Vaddepally et al., 2020.

Além dos ICI que têm como alvo a molécula PD-1, anticorpos contra PD-L1 também são agentes antitumorais eficazes. O bloqueio de PD-L1 inibe o eixo PD-1/PD-L1 tumoral, e as interações PD-L1/CD80 mediado pelas células dendríticas, liberando mais moléculas de CD80 para aumentar o co-estímulo dos linfócitos T (MAYOUX et al., 2020).

Embora o atezolizumabe, durvalumabe e avelumabe bloqueiem a interação de PD-L1/PD-1 e CD80, o atezolizumabe e o durvalumabe contêm uma modificação no fragmento cristalizável (Fc) que elimina a citotoxicidade celular dependente de anticorpos (ADCC) para prevenir o esgotamento dos linfócitos T que expressam PD-L1. Já o avelumabe contém a região Fc nativa, capaz de envolver receptores $Fc\gamma R$ das células assassinas naturais (NK) para o processo de ADCC (AKINLEYE, RASOOL, 2019).

O atezolizumabe foi inicialmente aprovado para o tratamento do carcinoma urotelial localizado e metastático com base nos resultados de um ensaio clínico de fase II que mostraram aumento da taxa de resposta em pacientes cuja doença havia progredido após tratamento com quimioterapia (ROSENBERG et al., 2016).

Esses resultados impulsionaram a utilização de diferentes anticorpos monoclonais em combinação com vários regimes quimioterápicos contra diferentes tipos de câncer, sendo o atezolizumabe, em combinação com a quimioterapia, aprovado para o tratamento de NSCLC escamoso e não escamoso, câncer de pulmão de células pequenas e câncer de mama triplo-negativo e PD-L1 positivo (BAGCHI et al., 2021). Além do atezolizumabe, o durvalumabe e o avelumabe foram aprovados para uso em pacientes com carcinoma urotelial, e o avelumabe foi aprovado para pacientes com carcinoma de células de Merkel (Tabela 4) (VADDEPALLY et al., 2020; BAGCHI et al., 2021).

Tabela 4. Anticorpos monoclonais Cemiplimabe, Avelumabe, Durvalumabe e Atezolizumabe aprovados pelo FDA para o tratamento de diferentes tipos de câncer. ALK= quinase de linfoma anaplásico; EGFR= receptor do fator de crescimento epidérmico.

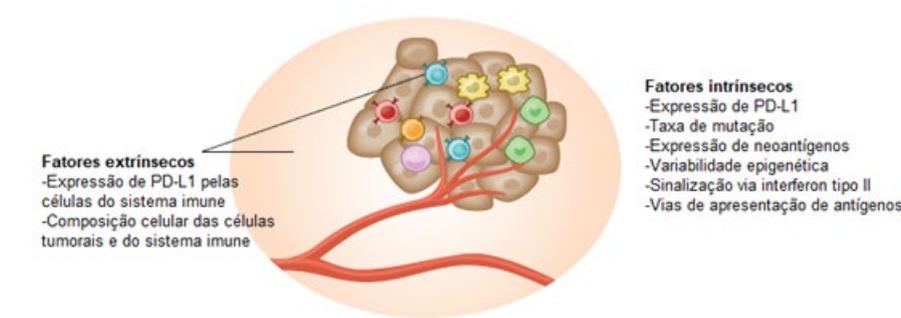
Cemiplimabe
Carcinoma de células escamosas cutâneo metastático ou localmente avançado não candidatos a cirurgia curativa ou radioterapia
Avelumabe
Carcinoma de células de Merkel metastático em adultos e crianças > 12 anos de idade
Carcinoma urotelial local avançado ou metastático que progrediu com quimioterapia contendo platina
Combinação com axitinibe no carcinoma de células renais avançado alternativo ao pembrolizumabe
Durvalumabe
Carcinoma urotelial local avançado ou metastático com progressão na quimioterapia contendo platina
Câncer de pulmão de não pequenas células estágio III cirurgicamente irrissecável e que não progrediu após quimiorradiação
Atezolizumabe
Carcinoma urotelial local avançado ou metastático com progressão após quimioterapia contendo platina
Carcinoma urotelial local avançado ou metastático não candidato a quimioterapia a base de platina independente da expressão de PD-L1
Câncer de pulmão de não pequenas células metastático com progressão na quimioterapia contendo platina
Combinação com bevacizumabe, paclitaxel e carboplatina no câncer de pulmão de não pequenas células não metastático, sem EGFR ou ALK
Combinação com carboplatina e etoposídeo no tratamento do câncer de pulmão de pequenas células em estágio extenso
Combinação com paclitaxel no câncer de mama irrissecável metastático triplo negativo que expressa PD-L1

Fonte: Vaddepally et al., 2020.

Resistência aos inibidores de pontos de verificação imune

Embora as terapias com os ICI tenham aumentado a sobrevida de pacientes com câncer, apenas uma minoria dos pacientes apresenta uma resposta durável; alguns pacientes que inicialmente respondem a terapia, posteriormente desenvolvem resistência; e uma grande proporção de pacientes desenvolvem eventos adversos relacionados ao sistema imune, sendo alguns fatais. Mesmo entre pacientes com melanoma, que tem uma das maiores taxas de resposta aos ICI, 60-70% dos pacientes não experimentam uma resposta objetiva a terapia anti-PD-1; e daqueles que o fazem, 20-30% apresentam recidiva e progressão do tumor (GARON et al., 2015; OTT et al., 2019). Isto se deve a presença de mecanismos de resistência categorizados em primários e adquiridos, que envolvem fatores intrínsecos e extrínsecos pelas células tumorais e do sistema imune (Figura 2).

Figura 2. Fatores intrínsecos e extrínsecos associados a resistência a terapia ICI.



Alguns pacientes que recebem ICI não respondem ao tratamento (resistência primária), enquanto outros respondem a terapia inicial, mas eventualmente apresentam recidiva (resistência adquirida). ICI=inibidor de pontos de verificação imune; PD-L1=ligante de morte celular programada 1.

Fonte: BAGCHI et al., 2021.

Resistência Primária

A resistência primária refere-se aos casos em que nenhuma resposta a terapia com ICI foi observada. As taxas de resposta ao tratamento com ICI varia amplamente entre

os diferentes tipos de câncer, sendo superior a 80% em pacientes com linfoma de Hodgkin refratário, a ausência de resposta em pacientes com câncer colorretal com reparo de incompatibilidade deficiente do DNA (BAGCHI et al., 2021). Um estudo transversal que utilizou dados estatísticos e respostas sobre o câncer apresentaram uma estimativa moderada de seu benefício; de todos os pacientes que atenderam aos critérios de elegibilidade para terapia com ICI em 2018, apenas 12,5% se beneficiaram (HASLAM, PRASAD, 2019).

Um dos biomarcadores mais utilizados para prever a resposta aos ICI é a expressão de PD-L1 pelas células tumorais, positivamente correlacionada com a resposta aos ICI (OTT et al., 2019). Tumores com expressão baixa ou ausente de PD-L1 são mais propensos a exibir resistência a terapia com anticorpos monoclonais anti-PD-1 e anti-PD-L1, com resposta de apenas 10% em pacientes com melanoma ou NSCLC (GARON et al., 2015; DAUD et al., 2016).

Outro biomarcador que prevê a resposta aos ICI é a carga mutacional do tumor, onde altas cargas mutacionais estão associadas a resposta a terapia anti-CTLA-4 e anti-PD-1 em diferentes tipos de câncer (BAGCHI et al., 2021), em função da maior produção de neoantígenos, e maior visibilidade pelo sistema imune. Tumores com cargas mutacionais baixas, como o câncer de próstata e de pâncreas, são mal respondedores aos ICI (MALEKI, 2018).

No câncer colorretal, a terapia anti-PD-1 é eficaz em pacientes com tumores que exibem instabilidade de microssatélites ou reparo de incompatibilidade deficiente, mas não é eficaz em pacientes com tumores com correção de incompatibilidade intacta (LE et al., 2015). Tumores que exibem uma baixa taxa de mutação são associados a resistência ou não responsividade aos ICI. Contudo, o carcinoma de células renais metastático e o carcinoma de células Merkel positivo para poliomavírus, que exibem cargas de mutação baixas, respondem bem a terapia anti-PD-1 e anti-PD-L1 respectivamente (BOYIADZIS et al., 2018; KAUFMAN et al., 2018).

Além da baixa carga mutacional, a resistência primária as terapias com ICI também ocorre se algumas vias específicas de sinalização são interrompidas. O interferon- γ (IFN- γ) é uma citocina importante para iniciar e manter uma robusta resposta antitumoral, atividade citotóxica dos linfócitos TCD8, ação antiproliferativa, efeitos pró-apoptóticos e aumento da expressão de moléculas do complexo principal de histocompatibilidade classe I (MHC I) (GARRIS et al., 2018). Uma forte assinatura de IFN- γ foi identificada como preditor e indicador de resposta em pacientes tratados com anticorpos monoclonais anti-PD-1 em diferentes tipos de câncer (BAGCHI et al., 2021). Mutações que envolvem a via de sinalização do IFN- γ conferem resistência aos ICI. Tumores com mutações em genes que codificam as moléculas JAK1/2 e IFNGR1/2 foram identificados em pacientes que não respondem a terapia anti-CTLA-4 ou anti-PD-1 (GAO et al., 2016; SHIN et al., 2017).

Além dos genes que modulam a sinalização mediada pelo IFN- γ , as moléculas do MHC são cruciais para a modulação e participação no desenvolvimento da resposta imune após a terapia com ICI. Por exemplo, o gene MEX3B responsável pela regulação negativa da expressão do MHC classe I em tumores, foi descrito como expresso em níveis mais elevados em pacientes não respondedores a terapia anti-PD-1 do que em pacientes respondentes (HUANG et al., 2018). A baixa regulação do MHC classe I via repressão transcricional foi associada a resistência primária a terapia com anticorpos monoclonais anti-CTLA-4, mas não na terapia com anticorpos monoclonais anti-PD-1, sendo a resposta anti-PD-1 mais dependente da expressão do MHC classe II ligada a um módulo de genes regulado pelo IFN- γ (RODIG et al., 2018).

Também, diferentes estudos demonstraram que mutações nos genes envolvidos com o complexo de remodelação da cromatina pode sensibilizar tumores humanos para os ICI, e o tratamento com um modulador epigenético pode potencializar a resposta antitumoral

mediada pelos ICI pelo aumento da produção de quimiocinas responsáveis pelo recrutamento de linfócitos T CD8 (KEENAN et al., 2019).

Resistência Adquirida

A resistência adquirida abrange aqueles casos em que os pacientes responderam inicialmente aos ICI, e que depois se tornaram refratários pela evolução ou seleção de tumores que adquirem mutações em vias críticas envolvidas na resposta ao bloqueio dos ICI (BAGCHI et al., 2021). O sequenciamento completo do exoma de tumores recidivantes em uma pequena coorte de pacientes com melanoma com resistência adquirida ao pembrolizumabe demonstrou que o crescimento ocorreu em pacientes com mutações de perda de função envolvendo os genes que codificam as moléculas JAK1 e JAK2, perda de resposta ao IFN- γ e resistência ao seu efeito citostático. No mesmo estudo, as células tumorais em outro paciente com recidiva apresentou deleção frameshift da cadeia β 2-microglobulina (B2M), interrompendo o tráfego do MHC classe I para a superfície celular e reconhecimento pelos linfócitos TCD8 (ZARETSKY et al., 2016).

Perturbações semelhantes na apresentação de antígenos pelo MHC classe I em pacientes com câncer de pulmão também foram relatados, implicando na desregulação da apresentação de antígenos como causa de resistência adquirida (GETTINGER et al., 2017).

Em um relato de caso, uma paciente com leiomiossarcoma uterino metastático tratada com anticorpo monoclonal anti-PD-1, apesar de apresentar uma resposta robusta ao tratamento, apresentou nódulo metastático insensível a terapia. A análise genômica e proteômica revelou uma mutação no gene PTEN (phosphatase and tensin homologue deleted on chromosome 10) e menor expressão de neoantígenos (GEORGE et al., 2017).

Um mecanismo semelhante de resistência adquirida a terapia anti-PD-1 e a combinação de anticorpos monoclonais anti-PD-1/anti-CTLA-4 em pacientes com NSCLC, revelou pelo sequenciamento do exoma dos tumores uma perda de neoantígenos nos tumores resistentes como resultado de eventos genéticos ou seleção clonal (ANAGNOSTOU et al., 2017).

Eventos adversos relacionados ao tratamento com ICI

Apesar dos benefícios pela utilização da terapia com os ICI, a superativação do sistema imune para aumentar a imunidade antitumoral pode levar ao desenvolvimento de eventos que variam desde uma leve erupção cutânea a colite grave e miocardite com risco de vida. O surgimento de doenças autoimunes como diabetes tipo I após a terapia, demonstra as consequências da inibição de vias de tolerância periférica aos linfócitos T (VADDEPALLY et al., 2020; BAGCHI et al., 2021).

Os eventos adversos são comuns, onde 30-60% dos pacientes experimentam eventos adversos de qualquer grau, e 10-20% experimentam eventos adversos graves (BAGCHI et al., 2021). A frequência e a gravidade dos eventos adversos diferem entre as diferentes modalidades de tratamento com ICI, embora o tratamento com anticorpos monoclonais anti-PD-1 exiba um perfil de segurança mais favorável em comparação ao tratamento com anticorpos monoclonais anti-CTLA-4. A combinação do tratamento do melanoma avançado com anticorpos monoclonais anti-CTLA-4 e anti-PD-1 leva a um aumento na incidência e gravidade dos eventos adversos. A terapia anti-CTLA-4 resulta em mais hipofisite e casos graves de colite; e a terapia anti-PD-1 mais casos de pneumonite, tireoidite e nefrite (SONG et al., 2020; BAGCHI et al., 2021).

A descontinuação da terapia com ICI e o tratamento com agentes imunossupressores geralmente não impactam negativamente sobre o paciente, embora existam exceções. Alguns estudos têm demonstrado uma associação entre o desenvolvimento de vitiligo e melhores taxas de resposta e sobrevida em pacientes com melanoma em função da reação autoimune direcionada a antígenos compartilhados entre melanócitos saudáveis e as células tumorais (HORVAT et al., 2015; MATSUYA et al., 2020).

Respostas imunes locais e sistêmicas aos ICI

A terapia com ICI causa impacto sobre diferentes células do sistema imune e órgãos linfóides periféricos. Na fase de rejeição do tumor ocorre a proliferação de células do sistema imune nos linfonodos de drenagem local, mas não no tumor, sugerindo que a resposta imune na periferia é importante para manter e ativar as células que participam da resposta antitumoral (SPITZ et al., 2017).

Um aumento da contagem de linfócitos no sangue periférico está associado ao desfecho favorável do tratamento e aumento da sobrevida global em pacientes com melanoma (MARTENS et al., 2016). A frequência de linfócitos TCD8 efetoras no sangue periférico de pacientes com melanoma avançado 9 semanas após o tratamento com anticorpos monoclonais anti-CTLA-4 normalmente se correlaciona com o benefício clínico e aumento do tempo de sobrevida destes pacientes (DE COANA et al., 2017).

Os tratamentos utilizando anticorpos monoclonais anti-CTLA-4 e anti-PD-1 no melanoma demonstraram que os linfócitos TCD8 CD45RA+ se correlacionaram negativamente com a resposta ao ipilimumabe, ao passo que linfócitos TCD8 CD45RA- e células TCD8 efetoras (CD45RA-CCR7-) foram mais abundantes em pacientes responsivos. Os pacientes que não respondem ao tratamento com anticorpos monoclonais anti-PD-1 exibem baixos níveis de expressão de CD69 e de produção de MIP-1 β pelas células NK (SUBRAHMANYAM et al., 2018). Uma alta frequência de células TCD8 efetoras CD45RA-CCR7-CD27+CD28+ no início do estudo no sangue periférico de pacientes com melanoma em estágio avançado está correlacionado com altas e duradouras taxas de resposta clínica após a terapia com ICI, além da diminuição da expressão de PD-1 nos linfócitos TCD8 (WISTUBA-HAMPRECHT et al., 2017).

A presença de células TCD8 PD-1hi em pacientes com melanoma e pacientes com NSCLC antes da administração da terapia com anticorpos monoclonais anti-PD-1 foi descrita como um fator preditivo da resposta ao tratamento e correlacionado com a sobrevida global (THOMMEM et al., 2018), além da capacidade de proliferação de células TCD8 PD-1hiCTLA-4+ circulantes, presentes 3-4 semanas após o tratamento (KAMPHORST et al., 2017). Em um estudo utilizando pacientes com NSCLC, a correlação favorável entre células TCD8 PD-1hi e a resposta ao tratamento não foram atribuídas apenas a reatividade tumoral, mas também na secreção da quimiocina CXCL13, que contribui para o recrutamento de linfócitos B e linfócitos TCD4 foliculares (THOMMEM et al., 2018).

A localização e o estado funcional dos linfócitos TCD8 dentro dos tumores também estão correlacionados com o resultado da terapia com ICI. Um estudo utilizando pacientes com melanoma mostrou que a presença de linfócitos TCD8 na periferia do tumor no início do estudo correlacionou-se de forma positiva com a proliferação linfocitária intratumoral e regressão tumoral após o tratamento (TUMEH et al., 2014).

Um estudo utilizando pacientes com melanoma tratados com ipilimumabe mostrou que 8 a 14 semanas após a primeira dose, uma frequência aumentada de linfócitos TCD4 no sangue periférico esteve correlacionada com o aumento da sobrevida global (MARTENS et al., 2016).

Uma frequência aumentada de linfócitos TCD4 CD62Llow na circulação sanguínea de pacientes com NSCLC antes do tratamento com anticorpos monoclonais anti-PD-1 foi preditivo para uma maior sobrevida livre da doença após o tratamento. Além disso, outro estudo revelou que uma maior frequência de células TCD4 CD45RA- no sangue periférico de pacientes com melanoma no início do tratamento foi associado a uma resposta favorável ao ipilimumabe, enquanto uma maior presença de células TCD4 CD45RA+ esteve correlacionada com pacientes não respondedores a terapia (SUBRAHMANYAM et al., 2018).

A análise do sequenciamento de RNA de célula única realizada em biópsias tumorais de pacientes com melanoma revelou no início do estudo que os pacientes respondentes apresentavam uma maior frequência de células TCD4 de memória CCR7+CD28+CD62L+ (SADE-FELDMAN et al., 2018). Já a regulação negativa de PD-1 em

Linfócitos TCD4 PD-1hi após o tratamento com anticorpos monoclonais anti-PD-1 resultou em maior risco de morte em pacientes com melanoma avançado (ZAPPASODI et al., 2018). Uma vez que uma grande parte das células T CD4 em tumores são células T regulatórias (Treg) que inibem a resposta antitumoral, estas células podem amortecer os efeitos da terapia com ICI e conferir uma pior resposta ao tratamento. Porém, uma abundância de Treg no sangue periférico de pacientes com melanoma no início do estudo esteve correlacionado com um desfecho favorável após o tratamento com ipilimumabe (WOODS et al., 2018).

Em pacientes com carcinoma basocelular e pacientes com carcinoma de células escamosas tratados com anticorpos monoclonais anti-PD-1, novos clones de linfócitos T caracterizados pelo TCR estiveram presentes no tumor após o tratamento, sugerindo que uma resposta eficaz pode depender também do influxo de novos linfócitos T (YOST et al., 2019).

Macrófagos e células supressoras derivadas da linhagem mielóide (MDSC) também tem sido avaliado, uma vez que auxiliam no crescimento do tumor e no processo de metástase pela secreção de fatores que suprimem a respostas imune mediada pelos linfócitos TCD8 e células NK (OSTRAND-ROSENBERG, FENSELAU, 2018). Em pacientes com melanoma avançado, os pacientes respondedores a terapia com anticorpos monoclonais anti-PD-1 demonstrou uma menor quantidade de macrófagos infiltrantes de tumores e uma baixa frequência de MDSC no sangue periférico (SADE-FELDMAN et al., 2016). A presença de monócitos CD14+CD16-HLA-DRhi foi descrita como forte preditor de sobrevida livre de doença após o tratamento com anticorpos monoclonais anti-PD-1 (KRIEG et al., 2018), embora tenha sido descrito que uma baixa contagem de monócitos no sangue periférico esteve associada a uma melhor resposta a terapia com ipilimumabe em pacientes com melanoma (MARTENS et al., 2016).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O tratamento com ICI revolucionou o campo da imunoterapia contra o câncer, porém o sucesso desta modalidade de tratamento se restringe a um número limitado de pacientes em função da capacidade de alcançar respostas duradouras relacionadas ao sistema imune sem eventos adversos

REFERÊNCIAS

- AKINLEYE, A.; RASOOL, Z. Immune checkpoint inhibitors of PD-L1 as cancer therapeutics. *J Hematol Oncol.* v.12, n.1, p.92, 2019.
- ANAGNOSTOU, V.; et al. Evolution of neoantigen landscape during immune checkpoint blockade in non-small cell lung cancer. *Cancer Discov.* v.7, n.3, p.264-276, 2017.
- AREF, A.R.; et al. 3D microfluidic ex vivo culture of organotypic tumor spheroids to model immune checkpoint blockade. *Lab Chip.* v.18, n.20, p.3129-3143, 2018.
- BAGCHI, S.; et al. Immune checkpoint inhibitors for the treatment of cancer; clinical impact and mechanisms of response and resistance. *Annu Rev Pathol.* v.16, p.223-249, 2021.
- BOYIADZIS, M.M.; et al. Significance and implications of FDA approval of pembrolizumab for biomarker-defined disease. *J Immunother Cancer.* v.6, n.1, p.35, 2018.
- DAUD, A.I.; et al. Programmed death-ligand 1 expression and response to the anti-programmed death 1 antibody pembrolizumab in melanoma. *J Clin Oncol.* v.34, n.34, p.4102-4109, 2016.
- DE COANA, Y.P.; et al., Ipilimumab treatment decreases monocytes MDSCs and increases CD8 effector memory T cells in long-term survivors with advanced melanoma. *Oncotarget.* v.8, n.13, p.21539-21553, 2017.

- GAO, J.; et al. Loss of IFN- γ pathway genes in tumor cells as a mechanism of resistance to anti-CTLA-4 therapy. *Cell*. v.167, n.2, p.397-404.e9, 2016.
- GARON, E.B.; et al. Pembrolizumab for the treatment of non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med*. v.372, n.21, p.2018-2028, 2015.
- GARRIS, C.S.; et al. Successful anti-PD-1 cancer immunotherapy requires T cell-dendritic crosstalk involving the cytokines IFN- γ and IL-12. *Immunity*. v.49, n.6, p.61.e7, 2018.
- GEORGE, S.; et al. Loss of PTEN is associated with resistance to anti-PD-1 checkpoint blockade therapy in metastatic uterine leiomyosarcoma. *Immunity*. v.46, n.2, p.197-204, 2017.
- GETTINGER, S.; et al. Impaired HLA class I antigen processing and presentation as a mechanism of acquired resistance to immune checkpoint inhibitors in lung cancer. *Cancer Discov*. v.7, n.12, p.1420-1435, 2017.
- HAMMERS, H.J.; et al. Safety and efficacy of nivolumab in combination with ipilimumab in metastatic renal cell carcinoma: The CheckMate 016 study. *J Clin Oncol*. v.35, p.3851-3858, 2017.
- HAN, Y.; et al. PD-1/PD-L1 pathway: current research in cancer. *Am J Cancer Res*. v.10, n.3, p.727-742, 2020.
- HASLAM, A.; PRASAD, V. Estimation of the percentage of US patients with cancer who are eligible for and response to checkpoint inhibitor immunotherapy drugs. *JAMA Netw Open*. v.2, n.5, p.e192535, 2019.
- HODI, F.S.; et al. Improved survival with ipilimumab in patients with metastatic melanoma. *N Engl J Med*. v.363, n.8, p.711-723, 2010.
- HORVAT, T.Z.; et al. Immune-related adverse events, need for systemic immunosuppression, and effects on survival and time to treatment failure in patients with melanoma treated with ipilimumab at Memorial Sloan Kettering Cancer Center. *J Clin Oncol*. v.33, n.28, p.3193-3198, 2015.
- HUANG, L.; et al. The RNA-binding protein MEX3B mediates resistance to cancer immunotherapy by downregulating HLA-A expression. *Clin Cancer Res*. v.24, n.14, p.3366-3376, 2018.
- HULVAT, M.C. Cancer incidence and trends. *Surg Clin North Am*. v.100, n.3, p.469-481, 2020.
- HURWITZ, A.A.; et al. Enhancement of the anti-tumor immune response using a combination of interferon- γ and B7 expression in a mammary carcinoma. *Int J Cancer*. v.77, n.1, p.107-113, 1998.
- IWAI, Y.; et al. Involvement of PD-L1 on tumor cells in the escape from host immune system and tumor immunotherapy by PD-L1 blockade. *PNAS*. v.99, n.19, p.12293-11297, 2002.
- KAMPHORST, A.O.; et al. Proliferation of PD-1+CD8 T cells in peripheral blood after PD-1-target therapy in lung cancer patients. *PNAS*. v.114, n.19, p.4993-4998, 2017.
- KAUFMAN, H.L.; et al. Update efficacy of avelumab in patients with previously treated metastatic Merkel cell carcinoma after ≥ 1 year of follow-up: JAVELIN Merkel 200, a phase 2 clinical trial. *J Immunotherap Cancer*. v.6, n.1, p.7, 2018.
- KEENAN, T.E.; et al. Genomic correlates of response to immune checkpoint blockade. *Nat Med*. v.25, n.3, p.389-402, 2019.

- KRIEG, C.; et al. High-dimensional single-cell analysis predicts response to anti-PD-1 immunotherapy. *Nat Med.* v.24, n.2, p.144-153, 2018.
- KWON, E.D.; et al. Manipulation of T cell costimulatory and inhibitory signals for immunotherapy of prostate cancer. *PNAS.* v.94, n.15, p.8099-8103, 1997.
- LARKIN, J.; et al. Combined nivolumab and ipilimumab or monotherapy in untreated melanoma. *N Engl J Med.* v.373, p.23-34, 2015.
- LE, D.T.; et al. PD-1 blockade in tumors with mismatch-repair deficiency. *N Eng J Med.* v.372, n.26, p.2509-2520, 2015.
- LEACH, D.R.; et al. Enhancement of antitumor immunity by CTLA-4 blockade. *Science.* v.271, n.5256, p.1734-1736, 1996.
- MALEKI, V.S. High and low mutational burden tumors versus immunologically hot and cold tumors and response to immune checkpoint inhibitors. *J Immunother Cancer.* v.6, n.1, p.157, 2018.
- MARCUS, L.; et al. FDA approval summary: pembrolizumab for the treatment of microsatellite instability-high solid tumors. *Clin Cancer Res.* v.25, n.13, p.3753-3758, 2019.
- MARTENS, A.; et al. Increases in absolute lymphocyte and circulating CD4+ and CD8+ T cells are associated with positive outcome of melanoma patients treated with ipilimumab. *Clin Cancer Res.* v.22, n.19, p.4848-4858, 2016.
- MATSUYA, T.; et al. Vitiligo expansion and extent correlate with durable response in anti-programmed death 1 antibody treatment for advance melanoma: a multi-institutional retrospective study. *J Dermatol.* v.47, n.6, p.629-635, 2020.
- MAYOUX, M.; et al. Dendritic cells dictate responses to PD-L1 blockade cancer immunotherapy. *Sci Transl Med.* v.12, n.534, p.eaav7431, 2020.
- MCDERMOTT, D.; et al. Efficacy and safety of ipilimumab in metastatic melanoma patients surviving more than 2 years following treatment in a phase III trial (MDX010-20). *Ann Oncol.* v.24, p.2694-2698, 2013.
- MIGDEN, M.R.; et al. PD-1 blockade with cemiplimab in advanced cutaneous squamous cell carcinoma. *N Engl J Med.* v.379, p.341-351, 2018.
- OKAZAKI, T.; et al. PD-1 immunoreceptor inhibits B cell receptor-mediated signaling by recruiting Src homology 2-domain-containing tyrosine phosphatase 2 to phosphotyrosine. *PNAS.* v.98, n.24, p.13866-13871, 2001.
- OSTRAND-ROSENBERG, S.; FENSELAU, C. Myeloid-derived suppressor cells: immune-suppressive cells that impair antitumor immunity and are sculpted by their environment. *J Immunol.* v.200, n.2, p.422-431, 2018.
- OTT, P.A.; et al. T-cell-inflamed gene-expression profile, programmed death ligand 1 expression, and tumor mutational burden predict efficacy in patients treated with pembrolizumab across 20 cancers: KEYNOTE-028. *J Clin Oncol.* v.37, n.4, p.318-327, 2019.
- OVERMAN, M.J.; et al. Nivolumab in patients with metastatic DNA mismatch repair-deficient or microsatellite instability-high colorectal cancer (CheckMate 142): An open-label, multicenter, phase 2 study. *Lancet Oncol.* v.18, p.1182-1191, 2017.
- RECK, M.; et al. Pembrolizumab versus chemotherapy for PD-L1-positive non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med.* v.375, n.19, p.1823-1833, 2016.

- ROBERT, C.; et al. Anti-programmed-death-receptor-1 treatment with pembrolizumab in ipilimumab-refractory advanced melanoma: a randomized dose comparison cohort of a phase 1 trial. *Lancet*. v.384, n.9948, p.1109-1117, 2014.
- ROBERT, C.; et al. Pembrolizumab versus ipilimumab in advanced melanoma. *N Eng J Med*. v.372, n.26, p.2521-2532, 2015.
- RODIG, S.J.; et al. MHC protein confer differential sensitivity to CTLA-4 and PD-1 blockade in untreated metastatic melanoma. *Sci Transl Med*. v.10, n.450, p.eaar3342, 2018.
- ROSENBERG, J.E.; et al. Atezolizumab in patients with locally advanced and metastatic urothelial carcinoma who have progressed following treatment with platinum-based chemotherapy: a single-arm, multicentre, phase 2 trial. *Lancet*. v.387, n.10031, p.1909-1920, 2016.
- SADE-FELDMAN, M.; et al. Clinical significance of circulating CD33+CD11b+HLA-DR-myeloid cells in patients with stage IV melanoma treated with ipilimumab. *Clin Cancer Res*. v.22, n.23, p.5561-5562, 2016.
- SADE-FELDMAN, M.; et al. Defining T cell states associated with response to checkpoint immunotherapy in melanoma. *Cell*. v.175, n.4, p.998-1013.e20, 2018.
- SHEPPARD, K.A.; et al. PD-1 inhibits T-cell receptor induced phosphorylation of the ZAP70/CD3 ζ signalosome and downstream signaling to PKC θ . *FEBS Lett*. v.574, n.1-3, p.37-41, 2004.
- SHIN, D.S.; et al. Primary resistance to PD-1 blockade mediated by JAK1/2 mutations. *Cancer Discov*. v.7, n.2, p.188-201, 2017.
- SONG, P.; et al. Meta-analysis of immune-related adverse events of immune checkpoint inhibitor therapy in cancer patients. *Thorac Cancer*. v.11, n.9, p.2406-2430, 2020.
- SPITZ, M.H.; et al. Systemic immunity is required for effective cancer immunotherapy. *Cell*. v.168, n.3, p.487-502.e15, 2017.
- SUBRAHMANYAM, P.B.; et al. Distinct predictive biomarker candidates for responses to anti-CTLA-4 and PD-1 immunotherapy in melanoma patients. *J Immunother Cancer*. v.6, n.1, p.18, 2018.
- THIERRY, K.; MÉNÉTRIX-CAUX, C. Treg cell contribution to anti-CTLA-4 therapeutic effect. *Med Sci (Paris)*. v.36, n.1, p.73-76, 2020.
- THOMMEM, D.S.; et al. A transcriptionally and functionally distinct PD-1+CD8+T cell pool with predictive potential in non-small-cell lung carcinoma treated with PD-1 blockade. *Nat Med*. v.24, n.7, p.994-1004, 2018.
- TUMEH, P.C.; et al. PD-L1 blockade induces responses by inhibiting adaptative immune resistance. *Nature*. v.515, n.7528, p.568-571, 2014.
- VADDEPALLY, R.K.; et al. Review of indications of FDA-Approved immune checkpoint inhibitors per NCCN guidelines with the level of evidence. *Cancers (Basel)*. v.20, n.12, p.738, 2020.
- VAN COILLIE, S.; et al. Molecular and cellular functions of CTLA-4. *Adv Exp Med Biol*. v.1248, p.7-32, 2020.
- WISTUBA-HAMPRECHT, K.; et al. Peripheral CD8 effector-memory type 1 T-cells correlate with outcome in ipilimumab-treated stage IV melanoma patients. *Eur J Cancer*. v.73, p.61-70, 2017.

WOODS, D.M.; et al. Decreased suppression and increased phosphorylated STAT3 in regulatory T cells are associated with benefit from adjuvant PD-1 blockade in resected metastatic melanoma. *Clin Cancer Res.* v.24, n.24, p.6236-6247, 2018.

YANG, Y.F.; et al. Enhanced induction of antitumor T-cell responses by cytotoxic T lymphocyte-associated molecule-4 blockade: the effect is manifested only at the restricted tumor-bearing stages. *Cancer Res.* v.57, n.18, p.4036-4041, 1997.

YOST, K.E.; et al. Clonal replacement of tumor-specific T cells following PD-1 blockade. *Nat Med.* v.25, n.8, p.1251-1259, 2019.

ZAPPASODI, R.; et al. Non-conventional inhibitor CD4+Foxp3-PD-1hi T cell as a biomarker of immune checkpoint blockade activity. *Cancer Cell.* v.33, n.6, p.1017-1032.e7, 2018.

ZARETSKY, J.M.; et al. Mutations associated with acquired resistance to PD-1 blockade in melanoma. *N Engl J Med.* v.375, n.9, p.819-829, 2016.